

### 3.7.4.1 Gel del Serotipo 23F

En el gel de análisis final del serotipo 23F, se puede observar que el patrón electroforético del subtipo A<sub>4</sub> de la clona A; es el mismo que el de la clona Internacional España 23F-1 (E) y el subtipo A<sub>1</sub>, es el mismo que el control de Cleveland 23F-2 (C) y que los subtipos A<sub>2</sub>, A<sub>5</sub> y A<sub>6</sub>, podrían ser variantes de la misma clona española, mientras que, el patrón electroforético de la clona B, es idéntico al de la clona internacional Tennessee 23F-4 (T).

La clona A y subtipos, presentaron resistencia de alto nivel a la penicilina con CMI's de entre 4-8µg/mL, presentando también resistencia a 7 antimicrobianos más, entre ellos; el 100% de las cepas presentaron resistencia a cloranfenicol (CL) sulfametoxazol/trimetoprim (SXT), tetraciclina (TE), claritromicina (CH) y el 76% de las cepas presentaron resistencia intermedia al imipenem (IPM) y la resistencia a eritromicina (E) y cefotaxima (CTX), se presentó en un 30% y 50% respectivamente. El subtipo A<sub>4</sub> de la clona A, estuvo implicado en la muerte, por neumonía, de un paciente adulto de 86 años de edad. El 50% de las cepas de la clona B, presentaron una resistencia intermedia a la penicilina con CMI's de entre 0.12-1.0µg/mL y el resto, una resistencia de alto nivel; CMI's de entre 2-8µg/mL, el total de las cepas presentaron resistencia a SXT, y sólo el 50% presentó resistencia a CTX con una CMI  $\geq$ 4.0µg/mL. Figura No. 7.

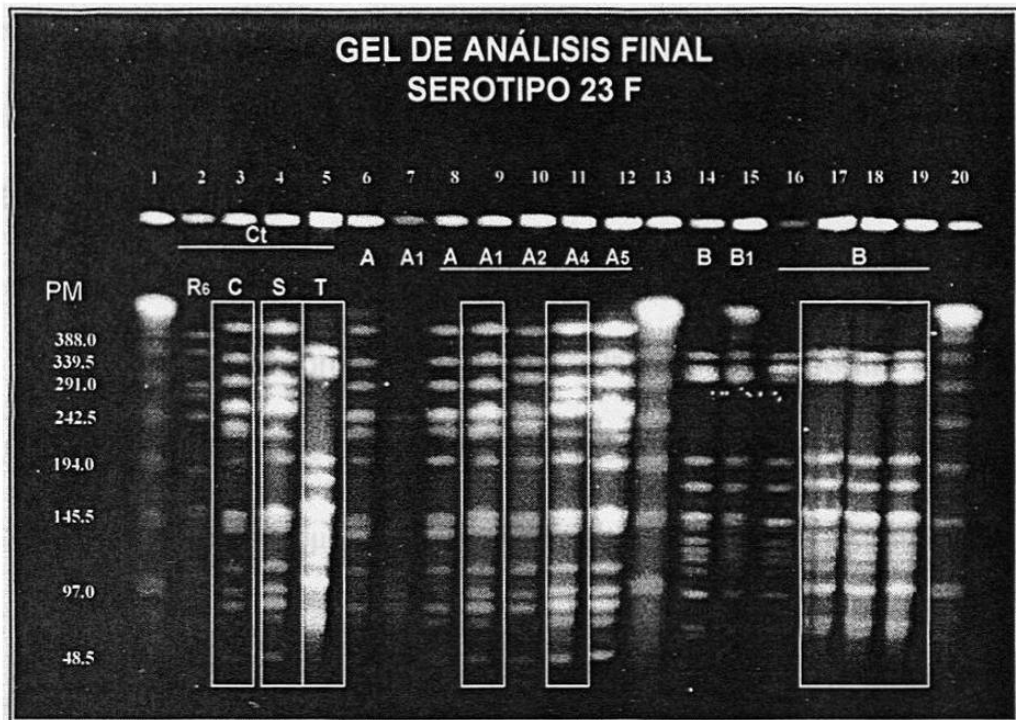


Figura 7. PFGE de cepas de *S. pneumoniae* 23F aisladas en Monterrey Carril 1, 13 y 20 Ladder lambda. Línea 2; Control R6. Línea 3; Control Cleveland 23F-2. Línea 4 ; Control España 23F-1. Línea 5; Control Tennessee 23F-4. Líneas 6-12 y 14-19 *S. pneumoniae* 23F. Clonas Mayoritarias A y B.

#### 3.7.4.2 Gel de los serotipos 6A, 6B y 19F

En el gel de análisis final de los serotipos 6A, 6B y 19F, se observa que los patrones electroforéticos, representando a las clonas S y C de los serotipos 6A y 6B, respectivamente, no se les encontró ninguna relación genética, por

PFGE, con los controles que estaban representando a las clonas internacionales España 6B-2, (E) y Sudáfrica 6B-8, (SA). Por lo que, estas clonas podrían ser nativas del área metropolitana de Monterrey. También se puede apreciar que el patrón electroforético del serotipo 19F; clona H, es idéntico a la clona Internacional Taiwán 19F-14 (T). Figura No. 8.

La clona S, es uniformemente resistente intermedia a penicilina, presentando una CMI entre 0.5-1 $\mu$ g/mL, se presentó también resistencia total a E y CH con una CMI de 4-8 $\mu$ g/mL para ambas. La clonas denominadas G y V (no mostradas en el gel por ser únicas) también con resistencia intermedia a la penicilina, fueron resistentes a CL, SXT, TE y CH y estuvieron implicadas en la muerte por neumonía de dos pacientes adultos, mayores de 60 años.

La clona H, presentó CMI's desde 0.5 hasta 8 $\mu$ g/mL a la penicilina. Además fue altamente resistente a E, a SXT, TE y CH. El 66% de las cepas mostraron una resistencia intermedia a IPM y el 55% tuvieron una resistencia intermedia a la CTX.

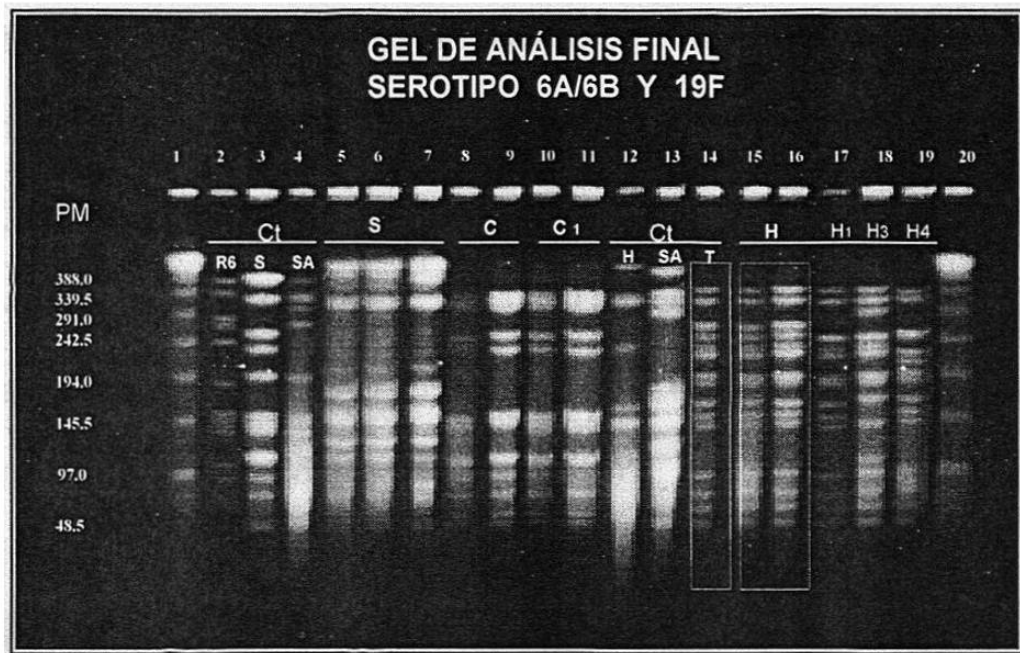


Figura 8. PFGE de cepas de *S. pneumoniae* serotipo 6B y 19F aisladas de Monterrey Carril 1 y 20 Ladder lambda. Carril 2; Control R6. Carril 3; Control España 6B-2 Carril 4 ; Control S. Africa 6B-8. Carriles 5-11; *S. pneumoniae* 6A/B clonas Sy C Carril 12; Control Hungría 19A-6. Carril 13; Control S. Africa 19A-13. Carril 14; Control Taiwan 19F-14. Carriles 15-19; *S. pneumoniae* 19F. Clonas Mayoritarias; C, S, y H

### 3.7.4.3 Gel de los serotipo 14 y 9V

En el gel de análisis final de los serotipos 14 y 9V, se observa que, las clonas Q y N, comparten el mismo patrón electroforético, a pesar de tener distintos serotipos, lo cual explica el fenómeno de transformación capsular de un serotipo en otro. Las clonas Q y N, poseen un patrón estrechamente relacionado con la clona control de distribución internacional; España 9V-3 ya reportada en la PMEN. Figura No. 9.

La clona Q, presentó una resistencia de alto nivel a la penicilina, con una CMI de 2-8 $\mu$ g/mL, resultando también, total y uniformemente resistente a E,

SXT, CH, IPM y TE. En el 75% de las cepas, se observó una variación entre intermedios y resistentes a la CTX con una CMI de 2-4µg/mL. Sin embargo, la clona N del serotipo 9V, exhibió una resistencia de alto nivel a la penicilina con una CMI de 2-4µg/mL. Se observó una resistencia uniforme al SXT. El 67% de las cepas, presentaron resistencia intermedia a la CTX con un CMI de 2µg/mL y el resto fueron netamente resistentes con una CMI de 4µg/mL. El 67% presentó resistencia intermedia al IPM. El subtipo N<sub>2</sub> estuvo implicado en la muerte por neumonía, de un adulto de 56 años de edad.

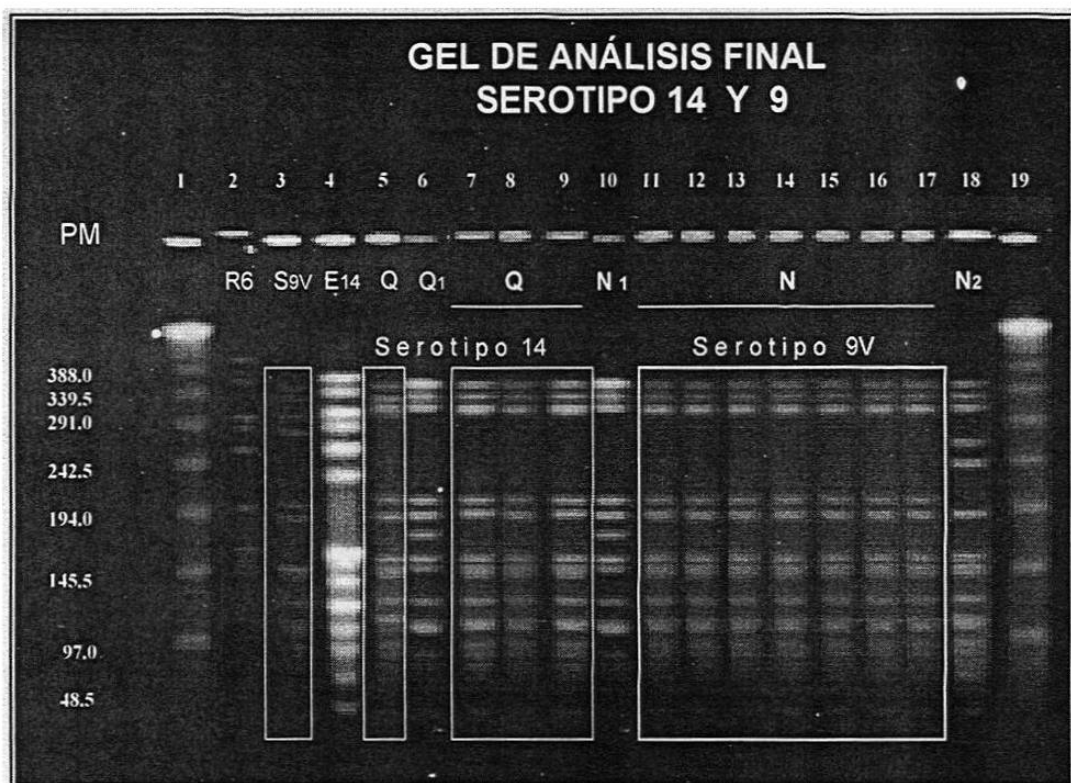
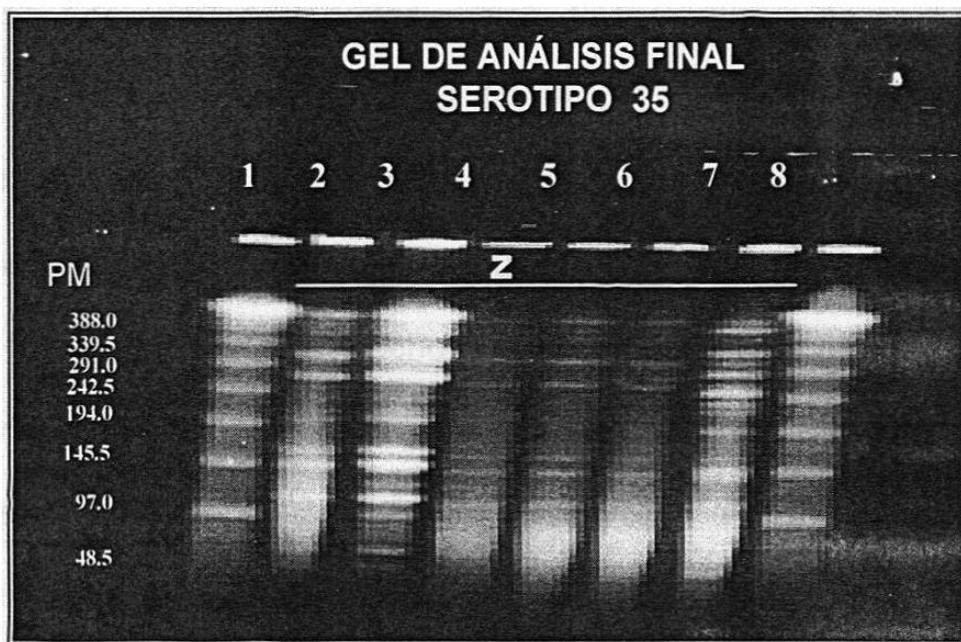


Figura 9. PFGE de cepas de *S. pneumoniae* serotipo 14 y 9 aisladas de Monterrey Carril 1 y 19 Ladder lambda. Carril 2; Control R6. Carril 3; Control España 9V-3 Carril 4; Control Inglaterra 14-9. Carril 5-9; *S. pneumoniae* 14 Carril 10- 18; *S. pneumoniae* 9V. Clonas Q y N.

#### 3.7.4.4 Gel del serotipo 35B

En el gel de análisis final del serotipo 35B, todos los patrones electroforéticos de las cepas formaron una clona a la que se le denominó Z, sin embargo, ésta no pudo ser comparada con ninguna clona control internacional, ya que hasta el momento en la Red de Epidemiología Molecular Neumocócica no se ha reportado alguna, por lo que, podría ser nativa del área metropolitana de Monterrey, N. L. La clona Z, presentó resistencia de alto nivel a la penicilina; CMI de 2-4 $\mu$ g/mL y una resistencia intermedia a SXT, e IPM, con CMI's de (1/19-2/38 $\mu$ g/mL) y (0.25- 0.5 $\mu$ g/mL) respectivamente. El 50% de las cepas, presentó resistencia intermedia a la CTX; CMI de 2 $\mu$ g/mL. Una cepa, estuvo implicada en la muerte de un adulto de 66 años de edad, con diagnóstico de absceso hepático. Figura No.10.



**Figura 10. Electroforesis de campo pulsado de cepas de *S.pneumoniae* 35B. Carriles 1 y 8: Ladder lambda. Carriles 2 - 7; Cepas de *S.pneumoniae* 35B. Clona mayoritaria: Z**

## CAPITULO 4

### DISCUSIÓN

*Streptococcus pneumoniae* continúa siendo una causa común de neumonía, meningitis, bacteremia, otitis media aguda y sinusitis, particularmente en niños, ancianos e individuos con enfermedades subyacentes. Sin embargo, en países en vías de desarrollo la problemática de las infecciones neumocócicas es aún mayor (75). Los primeros reportes acerca de la vigilancia epidemiológica en América Latina (incluyendo la ciudad de México) fueron hechos a través del grupo SIREVA-Vigía (60) y recientemente por el programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY (61). En la ciudad de México Echániz y cols. , así como Gómez y cols. han hecho contribuciones al conocimiento de la epidemiología de *Streptococcus pneumoniae* (62, 76). Sin embargo, este trabajo es el primer reporte de vigilancia epidemiológica en el Norte del País.

Las infecciones neumocócicas en el área metropolitana de Monterrey se presentaron con mayor frecuencia (79%) en los niños menores de 5 años de los cuales un 45% eran menores de dos años. Esta población es la más vulnerable por lo tanto el grupo que más debe ser protegido. Este hallazgo es compatible

con otros reportes de la literatura, tanto de países desarrollados como los que están en vías de desarrollo. (62, 77, 78). *Streptococcus pneumoniae*, permanece en nuestros días como un patógeno importante y una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, principalmente debido a que el curso clínico de las infecciones neumocócicas es afectado por un número de factores incluyendo el sitio anatómico de la infección, la edad del paciente, las enfermedades subyacentes, el tipo de terapia antimicrobiana indicada, y el periodo de estancia hospitalaria (78). De aquí que no es sorprendente que la mortalidad reportada en este estudio, en niños principalmente menores de dos años y en adultos mayores de 60 años, los cuales poseían serios factores subyacentes tales como desnutrición, anemia, dos o tres diagnósticos clínicos y una larga estancia hospitalaria, haya sido 5% y 14% respectivamente.

Durante los últimos 38 años, la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, se ha visto incrementada a nivel mundial (55). En América Latina la resistencia a penicilina ha fluctuado entre 23% y 47% (60, 61, 62). En México, este fenómeno no ha pasado desapercibido, desde la primera descripción de neumococos resistentes a penicilina (10.7%) la preocupación ha ido en aumento y ahora con un 76% en los *Streptococcus pneumoniae* aislados de niños y con un 50% en los aislados de adultos, esta preocupación se transformará en un corto plazo en un serio problema, ya que, estos resultados muestran un incremento importante en la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina. Esta problemática es similar a la situación que vive Corea ya que, en este país se ha reportado una resistencia de 79.7%, la cual, hasta el momento, es la mayor incidencia que se



ha reportado en el mundo (50). En diversas áreas geográficas también se ha reportado resistencia elevada a macrólidos, cefalosporinas de tercera generación y sulfametoxazol trimetoprim. (79, 80, 81). La resistencia a macrólidos (35%) y a cefalosporinas de tercera generación (7%) en general, también se ha incrementado en nuestro país, ya que las últimas publicaciones reportadas fueron 18% y 2.6%, respectivamente (76). Los nuevos antimicrobianos; Levofloxacin, Linezolid y Quinupristín/Dalfopristín presentaron una excelente actividad contra las cepas de *Streptococcus pneumoniae*, lo que posiblemente permitirá al médico en un futuro cercano un manejo exitoso de las infecciones neumocócicas. Todos los *Streptococcus pneumoniae* aislados durante el período de este estudio fueron susceptibles a vancomicina.

Los resultados de este estudio indican la necesidad de mantener una vigilancia activa de los patrones de susceptibilidad que permita orientar las conductas terapéuticas, el uso prudente de antibióticos y el control de la diseminación de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina.

La distribución de los serotipos neumocócicos puede variar de acuerdo al área geográfica, al tiempo de estudio y a la edad del paciente, tal como ha sido mostrado por múltiples reportes (44, 51, 82, 83). La distribución de los serotipos en América Latina es diferente comparada con la de Estados Unidos y países europeos, sobretodo en los neumococos aislados de niños. De hecho, Di Fabio y cols. mostraron en un estudio de 4071 cepas de *Streptococcus pneumoniae* aislados de procesos invasivos y obtenidos principalmente de niños de América Latina, que los 13 serotipos más frecuentes fueron; 14, 6A/B, 5, 1, 23F, 19F,

18C, 19A, 9V, 7F, 3, 9N y 4 y éstos representaron al 86.1% de las cepas (60). Mientras que los serotipos reportados en este trabajo, citados en orden de frecuencia fueron; 19F, 23F, 6B, 6A, 14, 19A, 9V, 35B, 18C, 3, 4, 16, 11A y 1, los cuales representaron el 87% de los aislados en general. En relación a lo anterior, se puede decir que el serotipo 5 es frecuente en los países de América del Sur, sin embargo, no se encontró en las cepas regiomontanas quizás, debido a la relación geográfica estrecha entre Monterrey y Estados Unidos donde, actualmente no se ha aislado a este serotipo (51). No obstante, y quizás debido también al motivo mencionado y sobre todo al flujo constante entre estas dos poblaciones, se identificó en este estudio, el serotipo 35B (10 cepas) el cual, ha sido reportado en 10 estados de la Unión Americana, incluyendo el vecino estado de Texas, como causante de infecciones invasivas sobretodo en adultos. (82). Aunque, un estudio reciente reportó el serotipo 35B en el sur de Israel (83).

La rápida emergencia de cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistente a múltiples drogas a nivel mundial desde finales de los 70's ha enfatizado la importancia de la prevención de las enfermedades neumocócicas (84). Para este efecto, en febrero del 2000, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos licenció la vacuna conjugada heptavalente PNCRM-7 (Pneumovax Wyeth-Ayerst, Laboratories) cuyos serotipos son 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Esta vacuna ofrece una protección de entre 70-88% para los serotipos prevalentes causantes de infecciones neumocócicas en niños que viven en los Estados Unidos, Canadá, Europa y Oceanía (85). Sin embargo,

estos serotipos son menos prevalentes en los países en vías de desarrollo ya que se ha demostrado que sólo son causantes de menos de la mitad de los casos en algunos lugares (44, 86). Esto fue demostrado por Di Fabio y cols. cuando reportaron una baja cobertura (58%) con la vacuna conjugada heptavalente PNCRM-7 en niños Latinoamericanos (60). Así que no es de sorprender que la cobertura de esta vacuna en los niños menores de 5 años de edad ( $n=102$ ) con enfermedades invasivas y no-invasivas viviendo en el área metropolitana de Monterrey podría ser (si estuvieran vacunados) del 68.2%, lo cual podría incrementarse a 85% si se agregara la protección de los serotipos relacionados. Aún si sólo tomáramos en cuenta a los niños de la misma edad con infecciones invasivas ( $n=29$ ), la cobertura podría ser de 65.5%, lo que aumentaría a 79% con la protección de los serotipos relacionados. El problema para adquirir esta vacuna en México, al igual que en otros países en desarrollo, podría ser el alto precio de la misma, por lo que sólo una pequeña parte de la población tiene acceso a ella.

Por otro lado, un 13% de los serotipos identificados en esta investigación no están relacionados con la vacuna, los que, citados en orden de frecuencia fueron; 35B, 7F, 1, 3, 16, 8, 15C y 22. Con excepción del serotipo 35 B, todos fueron aislados de infecciones invasivas y neumonía. De hecho, uno de ellos, el serotipo 7F estuvo implicado en la muerte de un niño con diagnóstico de meningitis. Por lo que resultará importante tenerlos bajo observación.

Con respecto a la posible cobertura de la vacuna neumocócica 23 polisacárida valente (PPV-23) en los adultos de 20 a 86 años de este estudio ( $n=78$ ), sería

de 64%, lo cual podría incrementarse a 78% con la protección de los serotipos relacionados. Sin embargo, aún si tomáramos en cuenta solo a los individuos mayores de 60 años ( $n=27$ ) la posible cobertura podría ser baja; 59%, lo que se podría incrementar a 74% con los serotipos relacionados. Nuestros resultados están en contraste con los reportes de países europeos, en los cuales la cobertura de la vacuna 23 polisacárida valente es del 80.7% en los individuos mayores de 60 años (87). Los serotipos regionales sin posible cobertura por esta vacuna fueron; 35B, 31, 16 y 13, los que comprenden el 17%. Este resultado es preocupante, ya que todos los serotipos fueron aislados de infecciones invasivas y neumonía. Cabe mencionar que los serotipos 35B y 13, estuvieron implicados en la muerte de dos pacientes.

A juzgar por los resultados obtenidos en los serotipos causantes de infecciones neumocócicas en Monterrey, Nuevo León, se puede decir que debido a la variación geográfica en la distribución de los serotipos y las poblaciones diferentes de cada país, las vacunas neumocócicas actualmente recomendadas podrían no ser universalmente óptimas, como es el caso para los países en vías de desarrollo. Ya que una vacuna con un número limitado de serotipos podría ser sumamente efectiva durante un tiempo, sin embargo, paulatinamente los individuos vacunados podrían ser infectados por cepas que hubieran adquirido, por intercambio de material genético, otro (s) serotipo (s) no incluido (s) en la vacuna, manteniendo así su potencial de virulencia intacto. Por lo tanto, se hace necesario el conocimiento de los serotipos neumocócicos

prevalentes de cada región, o país y en base a ese conocimiento elaborar una vacuna adecuada a sus necesidades.

En 1991, Muñoz y cols. en España, fueron los primeros en documentar una clona multirresistente del serotipo 23F resistente a penicilina (CMI 1-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) a cloranfenicol, tetraciclina y cotrimoxazole, ellos reportaron que esta clona se había diseminado intercontinentalmente desde su país de origen hasta Ohio, en los Estados Unidos (88). A partir de entonces, los datos de diseminación de la clona española hacia otras partes del mundo han sido abundantes (89, 90, 91). Existe evidencia de que un número importante de cepas de neumococos multirresistentes de Estados Unidos han evolucionado a partir del serotipo España 23 F-1 (92). Existen dos variantes de esta clona española; la primera variante reportada fue la serotipo 6B multirresistente con un patrón similar de resistencia a su antecesora pero que, sin embargo, su diseminación ha sido más lenta. En 1993, se documentó la introducción de esta clona desde España hasta Islandia (93). Posteriormente se reportó la presencia de la clona serotipo 6B, en Alaska y Estados Unidos específicamente en Houston, Texas (94). La segunda variante, o tercera clona española, es la clona serotipo 9V, la cual originalmente fue resistente a penicilina y cotrimoxazole y al igual que sus antecesoras ha tenido una diseminación global, esta variante probablemente emergió por la diseminación horizontal de los genes PBP alterados procedentes de la clona serotipo 23F-1 (95). Similarmente, la clona serotipo 19F, la cual también es una variante de la clona 23F ha sido reportada en países europeos

(96). Los reportes acerca de la introducción de la clona de *Streptococcus pneumoniae* 23F a Colombia, Brasil, Chile y México y de la clona española-francesa serotipo 14 en Uruguay y Argentina fueron hechos por la red SIREVA-Vigía la cual es auspiciada por la Pan American Health Organization (PAHO). Los serotipos 23F, 14, 9V y 19F cuyas respectivas clonas fueron; A, B, N y H, identificados en este estudio, ponen de manifiesto las relaciones intergenéticas entre las clonas regiomontanas y las clonas de circulación internacional, España 23F-1, Cleveland 23F-2, Tennessee 23F-4, España 9V-3 y la clona Taiwán 19F-14. Para los serotipos 35B, 6B y 6A y con formación de clonas denominadas Z, C y S, respectivamente, no se ha encontrado relación genética por medio de electroforesis de campo pulsado, con alguna de las clonas ya reportadas por la Red de Epidemiología Molecular Neumocócica (PMEN), por lo que podrían ser clonas nativas de la ciudad de Monterrey, N. L. Sin embargo, esto hay que tomarlo con cautela, ya que, una investigación de la literatura indica que la caracterización inicial de nuevas clonas en una población de neumococos resistentes debe de ser llevada a cabo usando varios métodos de tipificación molecular como Electroforesis de campo pulsado (PFGE), BOX-PCR y Tipificación de la Secuencia Multilocus (MLST). La PMEN ha establecido los siguientes criterios para la nomenclatura de las clonas de reciente formación:

1. La incipiente clona debe de tener amplia distribución geográfica a través del país (no sólo dentro de un cierto hospital) de la zona identificada, o haberse diseminado internacionalmente.
2. La clona debe estar bien establecida dentro del país por un número de años.

3. La clona debe de ser resistente a uno, o más antimicrobianos que estén en uso clínico frecuente.
4. La fecha de identificación de la clona necesita ser impresa o publicada antes de la ratificación por la PMEN.
5. La consideración de la inclusión de la nueva clona debe ser propuesta en la reunión anual de la PMEN.
6. La clona debe de estar disponible para ser tipificada y confirmada por la PMEN antes de ser aceptada en la misma.
7. La clona debe de estar disponible para ser depositada en la colección de clonas de la American Type Culture Collection (ATCC) (72).

Las clonas regiomontanas denominadas "S y C" del serotipos 6A y serotipo 6B respectivamente, no cumplen con los criterios No.1 y 2 ya que, al no tener un control con quien compararlas no se puede decir que tengan una diseminación internacional, y aunque la clona S esta establecida desde hace 3 años y la clona C, lo está desde hace 6 años en Monterrey, habría que esperar a comprobar la presencia de estas clonas, por lo menos, en algunos otros Estados de la Republica Mexicana, o quizás en algún otro país. El criterio No. 3, se cumple, ya que ambas son resistentes a penicilina y al resto de los antimicrobianos ya mencionados. Los criterios faltantes se cumplirían al consolidarse los dos primeros.

Con respecto a la clona regiomontana denominada "Z" del serotipo 35B, hasta el momento no se ha comprobado su diseminación en otros Estados Mexicanos, esta clona se estableció en Monterrey desde Marzo de 1999 a

Enero del 2003, por otro lado, la resistencia a penicilina es de alto nivel (CMI de 2.0 – 4.0 µg/mL) además de tener una resistencia intermedia a sulfametoxazol/trimetoprim e Imipenem, y el 50% de las cepas tienen una resistencia intermedia a cefotaxima, estas características le permiten a la clona Z del serotipo 35B cumplir los criterios 2 y 3, pero no el No.1. El criterio No. 4 se cumplirá en un futuro cercano al publicarse internacionalmente el artículo de este trabajo. Los criterios 5, 6 y 7, se cumplirán al consolidarse el No. 4. Sería interesante seguir documentando la presencia de este serotipo en Monterrey y poder someter estas cepas a la técnica de tipificación de secuencia multilocus (MLST). De aquí que, la vigilancia de las clonas en Monterrey requerirá el uso de diferentes métodos moleculares, a través de los cuales, se podría empezar a monitorizar los efectos de la vacunación sobre la variación genética de los neumococos así como, la identificación de los reservorios de la resistencia a antimicrobianos.



# CAPITULO 5

## CONCLUSIONES

1. Las infecciones neumocócicas en la ciudad de Monterrey se presentaron con mayor frecuencia en los niños menores de 5 años, mientras que el mayor porcentaje de mortalidad se presentó en los adultos mayores de 60 años.

2. En general, las cepas de *Streptococcus pneumoniae* identificadas en este estudio poseen una elevada resistencia (66%) a la Penicilina y una resistencia a múltiples antimicrobianos del 54%. Sin embargo, la susceptibilidad de las cepas para cefotaxima e imipenem, beta-lactámicos considerados también en el tratamiento de las infecciones neumocócicas, está arriba del 60%.

3. Para los antibióticos no-beta-lactámicos; tales como Sulfametoxazol-Trimetoprim, las cepas mostraron una resistencia del 68%, mientras que para tetraciclina, eritromicina, claritromicina y cloranfenicol la susceptibilidad fluctuó entre el 63% y el 80%.

4. La excelente actividad (100%) que mostró la Vancomicina en contra de los *Streptococcus pneumoniae* de este estudio, le permitirá al médico, seguir utilizándola como herramienta en contra de las enfermedades neumocócicas.

5. La elevada susceptibilidad (99.5%) que presentaron las cepas de *Streptococcus pneumoniae* a la Levofloxacina, Linezolid y Quinupristín-Dalfopristín, permitirá en un futuro cercano, que se coloquen como una importante alternativa terapéutica en contra de estas infecciones.

6. En general, los serotipos de *Streptococcus pneumoniae*; 6A, 6B, 9V, 14, 19A, 19F, 23F y 35B, identificados en este estudio y causantes del 73.4% de las enfermedades neumocócicas en el área metropolitana de Monterrey, podrían entorpecer el tratamiento clínico de estas infecciones, por su alto porcentaje de resistencia a penicilina y la tendencia a formar clones de resistencia.

7. Los siete serotipos de *Streptococcus pneumoniae* incluidos en la vacuna heptavalente conjugada (PNCRM-7) se encuentran circulando en el área metropolitana de Monterrey, sin embargo, su prevalencia es baja, por lo tanto y en general, la cobertura teórica de la vacuna recomendada en niños podría ser del 71%, lo que aumentaría a 86% si se incluyeran los serotipos relacionados.

8. Once de los 23 serotipos de la vacuna polisacárida valente (PPV-23) utilizada en niños mayores de 5 años y adultos, se encuentran circulando en la ciudad, lo cual teóricamente podría indicar la cobertura de ésta, en un 64%, lo que se elevaría a 79.5% si se incluyeran los serotipos relacionados a la misma.

9. Los serotipos 23F, 14, 9V y 19F y cuyas respectivas clonas fueron; A, B, N y H, encontradas en este estudio, ponen de manifiesto las relaciones intergenéticas entre las clonas regiomontanas y las clonas de circulación internacional España 23F-1, Cleveland 23F-2, Tennessee 23F-4, España 9V-3 y la clona Taiwán 19F-14, así como su inminente diseminación hacia nuestra ciudad.

10. Para los serotipos 35B, 6B y 6A y con formación de clonas denominadas Z, C y S, respectivamente, no se ha encontrado relación genética, por medio de electroforesis de campos pulsados, con alguna de las clonas ya reportadas por la Red de Epidemiología Molecular Neumocócica, por lo que podrían ser clonas nativas de la ciudad de Monterrey, N. L.

## CAPITULO 6

### PERSPECTIVAS

Los estudios de la determinación de los patrones de resistencia a antimicrobianos, la distribución de los serotipos y las técnicas de biología molecular utilizadas para poner en evidencia las interrelaciones genéticas intercontinentales de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* han sido abundantemente estudiadas en los países en desarrollo, y tan es así que, han podido tomar medidas en relación con la diseminación del *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, bajando los niveles de resistencia debido al correcto manejo de los antimicrobianos, han podido elaborar vacunas ajustadas a la prevalencia de sus serotipos infectantes y han tenido conocimiento de la presencia de las clonas de resistencia de este microorganismo en diferentes parte del mundo. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo específicamente en México, no existen suficientes datos que indiquen un control en la epidemiología del *Streptococcus pneumoniae* por lo que nuestras perspectivas a futuro son consolidar nuestro sistema de vigilancia en el área metropolitana de Monterrey y hacerlo extensivo a los Estados del Norte de nuestra República Mexicana.

# BIBLIOGRAFÍA

1. Williams, B., Gouws, E., Boschi-Pinto, C., Bryce, J., and Dye, C. 2002. Estimates of World wide distribution of child deaths from Acute Respiratory Infections. *Lancet Infectious Diseases* 2: 25-32.
2. Sniadack, D. H., Schwartz, B., Lipman, H., Bogaerts, J., Butler, J.C., Dagan T. Smith, A. 1995. Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia: Geographic and temporal differences in serotype and serogrup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children-implications for vaccine strategies. *Pediatric. Infect. Dis. J.* 14 (6): 503-510.
3. Shann, F. 1986. Etiology of severe pneumonia in children in developing countries. *Pediatr. Infect. Dis.* 5 (2): 247-252.
4. Indicadores básicos de salud. 2000. Organización Panamericana de la Salud. [www.paho.org](http://www.paho.org). Accesado el 24/03/2005.
5. Secretaría de Salud; INEGI; Dirección general de Información en Salud. 2003.
6. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica No. 10. semana 10; 2005. [dgepi.salud.gob.mx/sinave](http://dgepi.salud.gob.mx/sinave). Accesado en marzo 2005.

7. Doern, G. V. 2001. Antimicrobial use and the emergence of antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States. Clin. Infect. Dis. **33** (Suppl.3): S 187-192.
8. Sternberg, G.M. 1881. A fatal form of septicaemia in the rabbit, produced by subcutaneous injection of human saliva. An experimental research. Nat. Board Health Bull. **2**:781-783.
9. Griffith, F. 1928. The significance of pneumococcal types. J. Hyg. **27**:113-59
10. Avery OT, MacLeod CM, McCarty, M. 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J. Exp. Med. **79**:137-158.
11. Henry, D. I. Clinical Microbiology Procedures Handbook of American Society for Microbiology (ASM). 1992; (1): 1.20.19-1.20.25.
12. Jones, C. 1988. Capsular polysaccharides from *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae*. Carbohydr. Eur. **21**:10-16.
13. Tuomanen, E. I., Austrian, R., Masure, H.R. 1995. Pathogenesis of pneumococcal infection. New Engl. J. Med. **332**(19): 1280-1284.

14. Henrichsen, J. 1995. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* **33**:2759-2762.
15. Musher, D. M., Breiman, R. F., and Tomasz, A. 2000. *Streptococcus pneumoniae*. At the Threshold of the 21<sup>st</sup> Century. *Streptococcus pneumoniae*; Molecular Biology and Mechanisms of Diseases: 2 ed. Mary Ann Liebert. Inc. 485-491.
16. Talkington, D.F., Crimmins D.L., Voellinger, D.C., Yother, J., and Briles, D. E. 1991. A 43-kilodalton pneumococcal surface protein, PspA: Isolation practice abilities and structural analysis of the amino terminal sequence. *Infect. Immun.* **59**: 1285-1289.
17. Fedson, D. S. Pneumococcal vaccines. En: Plotkin SA, Mortimer EAJ, ed. *Vaccine*. 1988. Philadelphia: W. B. Saunders. 271-299.
18. Ghaffar, F., Friendland, I. R., McCrake, G. H., 1999. Dynamics of nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr. Infect Dis. J.* **18**: 638-646.
19. Regev-Yochay, G., Meir, R., Dagan, R., Porat, N. Shainberg, B., Pinco, E., Keller, N., and Rubinstein, E. 2004. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* by adults and children in community and family Settings. *Clinic. Infect. Dis.* **38**:632-639.

20. Gray, B. M., Dillon, H.C. 1988. Epidemiological studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: antibody to types 3, 6, 14 and 23 in the first two years of life. *J. Infect. Dis.* **158**:948-955.
21. Musher, D. M. 1995. *Streptococcus pneumoniae*. In: Principles and Practices of Infectious Diseases, 4<sup>th</sup> edition. Mandel GL. 1811-1826.
22. Gray, B.M., Converse, G. M. III., Dillon, H. C. Jr. 1980. Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage and infection during the first 24 months of life. *J. Infect. Dis.* **142** (6): 923-933.
23. Austrian, R. 1986. Some aspects of the pneumococcal carrier state. *J. Antimicrob. Chemother.* **18** (Suppl A): 35-45.
24. Tuomanen, E. I., and Masure, R. 1997. Molecular and cellular biology of pneumococcal Infection. *Microb. Drug. Resist.* **3**(4): 297-308.
25. Geelen, S. C., Battacharyya, C., and Tuomanen, E. 1993. Cell wall mediates pneumococcal attachment and cytopathology to human endothelial cells. *Microb. Drug. Resist.* **61**:1538-1543.



26. Louisiana State University Medical Center. "*Streptococcus pneumoniae*". Bug Bytes 30 November 1995. 2 (15). Online. Available: [http://www.ccm.1sume.ecu/bugbytes/Volume 2/bb-v2n15.html](http://www.ccm.1sume.ecu/bugbytes/Volume%202/bb-v2n15.html).
27. World Health Organization. Pneumococcal vaccine. 1999. Weekly epidemiological record. 74 :177-83.
28. Hortal, M., Ruvinsky, R., Rossi, Agudelo, C., Castañeda, E., Brandileone, C., Camout, Palacio, R., Echaniz, Di Fabio, J. 2000. Impacto de *Streptococcus pneumoniae* en las neumonías del niño latinoamericano. Grupo SIREVA-VIGIA. Rev. Panam. Salud Pública /Pan Am/Public/Health. 8 (3):185-195.
29. Usen, S., Degbola, R., Molholland, K. 1998. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in the western region. The Gambia Pediatric. Infect. Dis. J. 17: 23-28.
30. Hardie, W., Bukolic, R., García, V. F. 1996. Pneumococcal pleural empyemas in children. Clin. Infect. Dis. 22: 1057-63.
31. Hsieh, Yu-Chia, Hsueh, Po-Ren, Yi-Lu, Chun, Lee, Ping-Ing, Lee, Chin-Yun, and Huang, Li-Min. 2004. Clinical manifestation and molecular epidemiology of necrotizing pneumonia and empyema caused by

*Streptococcus pneumoniae* in Children in Taiwan. Clin. Infect. Dis. 38: 830-835.

32. Orihuela, C. J., Gao, G., Francis, K. P., Jun Yu, and Tuomanen, E. I. 2004. Tissue-specific contributions of pneumococcal virulence factors to pathogenesis. J. Infect. Dis. 190: 1661-1669.
33. Garpenholt, O., Hugosson, S., Fredlun, H., Giesecke, J. 2000. Invasive disease due to *Haemophilus influenzae type b* during the first six years of general vaccination of Swedish children. Acta. Paediatr. 89(4) : 471-474.
34. Schuchat, A., Robinson, K., Wenger, J. D., Harrison, L. H., Farley, M., Reingold, A., Lefkowitz, and Perkins, B. A. 1997. Bacterial meningitis in the United States in 1995. New Engl. J. Med. 337: 970-976.
35. Grimwood, K., Anderson, P., Anderson, V., Tan, L., Nolan, T. 2000. Twelve years outcomes following bacterial meningitis: further evidence for persisting effects. Arch. Dis. Child. 83 :111-116.
36. Ostergaard, C., Brandt, C., Bossen, H., Konradsen, and Samuelsson, S. 2004. Differences in survival, brain damage and cerebrospinal fluid cytokine kinetic due to meningitis caused by 3 different *Streptococcus pneumoniae* serotypes: Evaluation in humans and 2 experimental models. J. Infect. Dis. 190:1212-1220.

37. Musher, D., Dagan, R. 2000. Is the pneumococcus the one and only in acute otitis media?. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **19(5)**: 399-400.
38. Giebink, G. S. 1999. Otitis media: The chinchilla model. *Microb. Drug Resist.* **5 (1)**:57-72.
39. Sinus and Allergy Health Partnership. 2000. Antimicrobial guidelines for acute bacterial rhinosinusitis. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* **123(Suppl)**: 5-31.
40. American Academy of Pediatrics. 2001. Clinical practice guideline management of sinusitis. *Pediatrics.* **108**: 798-808.
41. Brooks, I., Gooch, W. MIII, Jenkins, S. G. 2000. Medical management of acute bacterial sinusitis: recommendations of clinical advisory committee on pediatric and adult sinusitis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **182 (Suppl)**:2-20.
42. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., and Swaminathan, B. 1995. Interpreting Chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing *J. Clin. Microb.* **33(9)**: 2233-2239.

43. Vázquez, J. A., y Berrón, S. 2004. Multilocus sequence typing: el marcador molecular de la era del Internet. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **22** (2):113-128.
44. Hausdorff, W. P., Sibe, G., Paradiso, P. R. 2001. Geographical differences in invasive pneumococcal disease rates and serotypes frequency in young children. *Lancet.* **357**: 950-952.
45. Modlin, J.F. 2000. Preventing Pneumococcal disease among infants and young children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morb. Mortal. Wkly. Rep. MMWR.* **(49)**:1-35.
46. Fry, A. M., Facklam, R. R., Whitney, C. G., Plikaytis B. D., and Schuchat, A. 2003. Multistate evaluation of invasive pneumococcal diseases in adults with, Human Immunodeficiency Virus Infection: Serotype and antimicrobial resistance patterns in the United States. *Journal of Infect Dis.* **188**: 643-652.
47. Lister, F. S. 1923. Specifics serological reactions with pneumococci from different sources. *South Africa Inst. Med. Res.* **2**: 103-114.
48. Oppenheim, B., Koornhof, H. J., and Austrian, R. 1986. Antibiotic-resistant pneumococcal disease in children at Baragwanath Hospital, Johannesburg. *Pediatr. Infect .Dis. J.* **5**: 520-524.

49. Simberkoff, M. S., Lewkaszewski, M., Cross, A., Al-Ibrahaim, M., Baltch, A. L., Smith, R. P., Geisler, P. J., Nadler, J., and Richmond, A. S. 1986. Antibiotic-resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae* from clinical specimens: a cluster of serotype 19A organisms in Brooklyn, New York. *J. Infect. Dis.* **153**: 78-82.
50. Song, Jae-Hoon, Nam, Yong Lee, Ichiyama, S., Ryoji Yoshida, Hirakata, Y., Wang Fu, Chongthaleong, A., Aswapooke N., Cheng-Hsun, Lalitha, M. K., Thomas K., Perera, J., Teow, Y., Jamal, F., Jacobs, M., Appelbaum, P., and the ANSORP Study Group. 1999. Spread of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Asian Countries: Asian network for surveillance of resistant pathogens (ANSORP) *Clin. Infect. Dis.* **28**: 1206-1211.
51. Feikin, D. R., and Klugman, K. P. 2002. Historical changes in pneumococcal serogroup distribution: Implications for the era of pneumococcal conjugate vaccines. *Clin. Infect. Dis.* **35**: 547-555.
52. Appelbaum, P. C. 1992. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. *Clin. Infect. Dis.* **15**:77-83.
53. Dagan, R. P., Yagupsky, A., Goldbart, A., Wasas, and Klugman, K. 1994. Increasing prevalence of penicillin-resistant pneumococcal infection in children in southern Israel: Implications for future immunization policies. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **13**:782-786.

54. Kam, K. M., Luey, K.Y., Fung, S.M., Yiu, P. P., Harden, T J., and Cheung, M. M. 1995. Emergence of multiple-antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Honk Kong. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **39**: 2667-2670.
55. Klugman, K. P. 1990. Pneumococcal resistance to Antibiotics. *Clin. Microbiol. Rev.* **3**:171-196.
56. Koornhof, H. J., Wasas, A., and Klugman, K. 1992. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: A South African perspective. *Clin. Infect. Dis* **15**: 84-94.
57. Liñares, J. R., Pallarés, T., Alonso, J. L., Pérez, J., Ayats, F., Guidol, P. F., Viladrich, and Martín, R. 1992. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1979-90) *Clin. Infect. Dis.* **15**:99-105.
58. Casal, J. 1982. Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*. Serotype distribution of penicillin resistance strains in Spain. *Antimicrobial. Agents. Chemother.* **22**: 222-225.
59. Mason, E. O., Kaplan, L. B., Lamberth, L. B., and Tillman, J. 1992. Increased rate of isolation of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*

in a children's hospital and *in vitro* susceptibilities to antibiotics of potential therapeutic use. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **36**:1703-1707.

60. Di Fabio, J. L., Castañeda, E., Agudelo, C. I., de la Hoz, F., Hortal, M., Camou, T. Echaniz, G., Carnalla, M. N., Heitmann, I., Hormazabal, J. C., Brandileone, M., Díaz, V. S., Regueira, M., Ruvinski, R. Corso, A., Lovgren, M., Talbot, J., De Cuadros, C., and the PAHO SIREVA.VIGIA Study Group. 2001. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, SIREVA-VIGIA Group, 1993 to 1999. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **20**:959-967.
61. Casthaneira, M., Gales, A. C., Mendes, R. E., Jones, R. N., and Sader, H. S. 2004. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus penumoniae* in Latin America: Result from five years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**: 645-651.
62. Echániz A. G., Velásquez, M. E., Carnalla, M. Soto, A., Solórzano, F., Pérez, A., Gática, R., Di Fabio, J. L. 1997. Antimicrobial susceptibilities and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in children in Mexico city. *Microb. Drug. Resist.* **3**:153-157.
63. Babl, F. E., Pelton, S.I., Ruest, K., Sung, J. 2001. Constancy of distribution of serogroups of invasive pneumococcal isolates among children: experience during 4 decades. *Clin. Infect. Dis.* **32**: 1155-1161.

64. Fenoll, A. C., Bourgon, M., Muñoz, R., Vicioso, D., and Casal, J. 1991. Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infection in Spain, 1979-1989. *Rev Infect Dis.* **13**: 56-60.
65. Breiman, R. F., Buttler, J. C., Tenover, F. C., Elliot, J A., and Facklam, R. R. 1994. Emergence of drug-resistance pneumococcal infection in the United States. *J. Am. Med. Assn.* **271**: 1831-1835.
66. Guiscafré, G. H., García, M., Trejo, A., Hernández, R., Muñoz, O. 1981. Frecuencia de *Haemophilus influenzae* y de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina en portadores sanos. *Arch. Invest. Med. Méx.*; **12**:141-151.
67. Jacobs, M. R., and Appelbaum, P. C. 2000. Susceptibilidad de 1,100 cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en 1997 de siete países de América Latina y el Caribe. *Antimicrob. Agents J.* **16**: 17-24.
68. Nachman, J. D., and Tomasz, A. 1989. Penicillin-binding protein families: evidence for the clonal nature of penicillin resistance in clinical isolates of pneumococci. *J. Infect. Dis.* **159**:16-25.



69. Tunkel, A., Hartman, B. J., Sheldon, L., Kaplan, Bruce, A., Kaufman, K., Roos, L. W., Scheld, M., and Whitley, R. J. 2004. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin. Infect. Dis.* **39**: 1267-1284.
70. Mandell, L. A., Bartlett, J. G., Scott F., Dowell, Thomas M. F., Musher, D. M., and Whitley, C. 2003. Update of practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in immunocompetent adults. *Clin. Infect Dis.* **37**:1405-1433.
71. Hortal, M., Camou, T. 2001. Epidemiología Molecular de *Streptococcus pneumoniae*. *Rev. Chil. Infect.* **18** (Supl.1):22-25.
72. PMEN. Pneumococcal Molecular Epidemiology Network: World Wide Spread\_of\_Clones.  
[http://www.sph.emory.edu/PMEN\\_ww\\_spread\\_clones.html](http://www.sph.emory.edu/PMEN_ww_spread_clones.html).
73. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twelfth informational supplement. NCCLS document M100-S12, Vol. 22 Wayne, Pa: National Committee for Laboratory Standards, 2002.
74. Soares, Lefevre, J. C., Faucon, G., Sicard, A. M. 1993. DNA fingerprinting of *S. pneumoniae* strains by pulsed field gel electrophoresis (PFGE). *J. Infect. Dis.* **168**: 158-163. Adaptación de la Dra. María E. Velázquez Meza.

75. Jacobs, M. R. 2004. *Streptococcus pneumoniae*; epidemiology and patterns of resistance. Am J Med. 117 (Suppl 3A): 3-15S.
76. Gómez, D., Calderón, E., Rodríguez, R., Espinosa de los Monteros, L., Juárez M. 1999 *Streptococcus pneumoniae* meningitis resistant to penicillin clinical and microbiological characteristics. Salud Publica Mex 41 (5): 397-404.
77. Shann, F., Woolcock, A., Black, R. 1999. Introduction: acute respiratory tract infection: the forgotten pandemic. Clin Infect Dis 28: 189-91..
78. Bakir, J., Gentile, S., López, G., Procopio, A., Vázquez, M. 2003 Perfil epidemiológico de las infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*. Arch Pediatr Urug. 74 (1): 43-50.
79. Clarke, P., Murchan, S., Smyth, E., and Humphreys, H. 2004 Antimicrobial susceptibility of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Ireland. Clin Microbiol Infect. 10: 657-659.
80. Shortridge, V. D., Doern, G. V., Brueggemann, A.B., Beyer, J.N., Flamm RK.1999 Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotics resistance surveillance study conducted in the United States in 1994-1995. Clin Infect Dis 29: 1186-88.

81. Kyaw, M.H., Clarke, S., Jones, I., and Campbell H. 2002 Incidence of invasive pneumococcal disease in Scotland, 1998-99. *Epidemiol Infect.* **128**: 139-147.
82. Beall, B., McEllistrem, M.C., Gertz, R., Boxrud, D., Besser, J., Harrison Lee, Jorgensen, J., and Whitney, C., and for the active bacterial core surveillance/emerging infections program network. 2002. Emergence of a novel penicillin-Nonsusceptible, invasive serotype 35B clone of *Streptococcus pneumoniae* within the United States. *J Infect Dis.* **186**: 118-22.
83. Porat, N., Barkai, G., Jacobs, M., Treflar, R., and Dagan, R. 2004. Four antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae* clones unrelated to the pneumococcal conjugate vaccine serotypes, including 2 new serotypes causing, acute otitis media in Southern Israel. *J Infect Dis.* **189**: 000-000.
84. Zielen, S., Buhrin, I., Strnad, N., Reichenbach, J., and Hofmann, D. 2000 Immunogenicity and tolerance of a 7-valent pneumococcal conjugates vaccine in nonresponders to the 23-valent pneumococcal vaccine. *Infect and Immun.* **68**: 1435-40.
85. Black, S., Shinefield, H., Fireman, B., Lewise, E. Ray, P., Hansen, J., Elvin, L., Ensork, Hackell, J., Siber, G., Malinoski, F., Mudare, D.,

- Austrian, R. 2000. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J.* **19**:187-95.
86. Hausdorff, W, Bryan, J., Paradiso, P., Siber, G. 2000. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin Infect Dis.* **30**: 100-21.
87. Jackson, L.A., Neuzil, K.M., Yu, O. 2003. Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine in older adults. *N Engl J Med.* **348**: 1737-1755.
88. Muñoz, R., Coffey, T.J., Daniels, M., Dowson, Ch., Laible, G., Casal, J, Hakenbeck, Jacobs, M., Musser, J. M., Spratt, B. G., and Tomasz, A. 1991. Intercontinental spread of a multiresistant clone of serotype 23 F *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* **164**: 302-306.
89. Martin, C., Sibold, C., Hakenbeck, R. 1992. Relatedness of penicillin binding protein 1a gene from different clones of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated in South Africa and Spain. *EMBO J.* **11**: 3831-3836.

90. Sibold, C., Wang, J., Henrichsen, J., Hakenbeck, R. 1992. Genetic relationships of penicillin-susceptible and resistant-*Streptococcus pneumoniae* strains isolated on different continents. *Infect Immun* **60**: 4119-4126.
91. McGee, L., Klugman, K.P., Friedland, D., Lee, H.J. 1997. Spread of Spanish multiresistant serotype 23 F clone of *Streptococcus pneumoniae* to Seoul, Korea. *Microb Drug Resist.* **3**: 253-257.
92. Mc Dougal, L.K., Facklam, R., Reeves, M. 1992. Analysis of multiresistant antimicrobial-resistant isolates *Streptococcus pneumoniae* from the United States. *Antimicrobial Agents Chemother* **36**: 2176-2184.
93. Soares, S., Kristinsson, K.G., Musser, J.M., Tomasz, A. 1993. Evidence for the introduction of a multiresistant clone of serotype 6B *Streptococcus pneumoniae* from Spain to Iceland in the late 1980s. *J Infect Dis.* **168**: 158-163.
94. Versalovic, J., Kapur, V., Mason, E.O., Shah, U., Koeth, T., and Musser, J. M. 1993. Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains recovered in Houston: identification and molecular characterization of multiples clones. *J Infect Dis.* **167**: 850-856

95. Coffey, T.J., Dowson, C.G., Daniels, M., Zhou, J., Martin, C., Spratt, B. G., and Musser, J. M. 1991. Horizontal transfer of multiple penicillin-binding protein genes, and capsular biosynthetic genes, in natural populations of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 5: 2255-2260
96. Coffey, T., Enright, MC, Daniels M., Wilkinson, P., Berron, S., Fenoll, A., and Spratt, B. G. 1998. Serotype 19A variants of the Spanish serotype 23F multiresistant clone of *Streptococcus pneumoniae*. *Microb Drug Resist* 4: 51-55.





