

# Evaluación de la Vigilancia de Laboratorio de *Streptococcus pneumoniae* proveniente de la Enfermedad Invasora en Chile: 2009-2014

Valenzuela, MT<sup>1</sup>; Villegas, R<sup>2</sup>; Díaz, J<sup>2</sup>; Pidal, P<sup>2</sup>; Araya, P<sup>2</sup>; Canales, C<sup>2</sup>; Celis M<sup>2</sup>, Hormazabal, JC<sup>2</sup>; Alarcón, P<sup>2</sup>.

1. Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

2. Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, Chile.

Correspondencia a: Pedro Alarcón, palarcon@ispch.cl

## Abstract

**Introduction:** This study consisted on researching the quality of the laboratory methods and the technical competence for the diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* invasive disease, in three regions of Chile, which included 63% of the population: Metropolitana, Valparaíso and Biobío. **Material and Methods:** A structured and validated survey was applied to the 18 laboratories corresponding to these three regions, which included: a general background of the Health Service and the Microbiology Laboratory, number of cases of *Streptococcus pneumoniae* at the local service, number of samples of these cases that was referred to the National Reference Laboratory and how many of them were confirmed and serotyped. **Results:** The number of positive strains at the local service and the number and percentage of them that are received at the National Reference Laboratory fluctuated between 86.0% and 76.6%; a low percentage of contaminated samples was found, between 1.2% and 1.6%. There was a decrease of 50.4% of cases of pneumococcal invasive disease from 2009 (204 cases) to 2014 (101 cases); while the number of cases attended in Basic Pediatrics decreased significantly, reaching 72.6% between 2009 and 2014 (102 and 28 cases, respectively). **Conclusions:** The evaluation of the surveillance showed a high adherence of the laboratories to the technical standards. The percentage of samples contaminated from pediatric and adult services were below internationally accepted levels for hospitalized patients.

**Palabras clave:** Vigilancia de Laboratorio, Enfermedad Neumocócica Invasora, *Streptococcus pneumoniae*

## Resumen

**Introducción:** Este estudio consistió en conocer la calidad

de los métodos de laboratorio y la competencia técnica para el diagnóstico de *Streptococcus pneumoniae* en ENI, en tres regiones de Chile, las que incluyen el 63% de la población: Metropolitana, Valparaíso y Biobío. **Materiales y métodos:** Se estructuró y validó una encuesta que se aplicó en terreno a los 18 laboratorios correspondientes a estas tres regiones, la que incluyó antecedentes generales del Establecimiento de salud y del laboratorio de Microbiología, datos sobre los casos de *Streptococcus pneumoniae* a nivel local, número de muestras de estos casos que fueron derivadas al Laboratorio de Referencia Nacional y cuantas de ellas fueron confirmadas y serotipificadas. **Resultados:** El número de cepas positivas en el nivel local y el número y porcentaje de ellas que se recibe en el Laboratorio de Referencia Nacional, fluctuó entre 86,0% y 76,6%; se evidenció que existe un bajo porcentaje de muestras que se contaminan en el nivel local. Se observó una disminución del 50,4% de casos de ENI entre los períodos 2009 (204 casos) al 2014 (101 casos); mientras que la cantidad de casos atendidos en Pediatría básica disminuyó de forma significativa, alcanzando el 72,6 % entre los años 2009 a 2014 (102 y 28 casos respectivamente). **Conclusiones:** La evaluación de la vigilancia demostró una alta adherencia de los laboratorios a las normas técnicas. El porcentaje de muestras contaminadas tanto en muestras pediátricas como de adultos, estuvo por debajo de lo aceptado internacionalmente en pacientes hospitalizados.

## Introducción

El sistema de vigilancia de laboratorio de *Streptococcus pneumoniae* aislados de Enfermedad Invasora (ENI), bajo responsabilidad del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) y con carácter obligatorio universal, presenta sus resultados a través de boletines que se encuentran disponibles en la página web de la institución (1). El

monitoreo y análisis de este sistema de vigilancia permite identificar los serotipos circulantes en la población, conocer los perfiles de resistencia antimicrobiana y reconocer oportunamente la aparición de serotipos de reemplazo. Dado el carácter pasivo de la notificación, se hace necesario una evaluación de su calidad, que permita detectar la subnotificación de cepas de *Streptococcus pneumoniae* proveniente de enfermedad invasora, así como analizar la capacidad de detección del agente en los centros asistenciales y laboratorios del país, lo que podría influir en la sensibilidad de dicha vigilancia.

En Chile, la única fuente de información sobre ENI es la que aporta el sistema de vigilancia de laboratorio, permitiendo una aproximación al conocimiento de la carga de enfermedad invasora por este agente bacteriano y los serotipos causantes; por otra parte en Enero del año 2011 se introdujo al Programa Nacional de Inmunizaciones la vacuna PCV 10 mediante un esquema inicial a los 2, 4, y 6 meses de edad, con un refuerzo a los 12 meses y posteriormente se aplicó con un nuevo esquema a los 2, 4 meses y un refuerzo a los 12 meses (2). Por las razones antes señaladas, es fundamental la evaluación y la calidad de la vigilancia de este agente, dado que permitirá medir el efecto de la vacunación contra *Streptococcus pneumoniae*, así como identificar las debilidades para realizar mejoras que fortalezcan este pilar de la vigilancia.

### Objetivo General

Evaluar el sistema de vigilancia de laboratorio de *Streptococcus pneumoniae* en Chile, en el periodo 2009-2014 en tres regiones del país.

### Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo, a partir de la revisión de los registros de laboratorio sobre muestras microbiológicas analizadas en los laboratorios de hospitales bases dependientes de 12 Servicios de Salud del país, correspondientes a las regiones de Valparaíso, Metropolitana y Biobío, durante el periodo 2009-2014. En el caso de la Región Metropolitana, se consideró dos laboratorios de Hospitales de alta complejidad por Servicio, por lo que el total de laboratorios analizados fue de 18.

### Instrumento y Recolección de datos

Se aplicó un cuestionario estándar, presencial, a los 18 laboratorios de los hospitales bases de 12 Servicios de Salud que consideró 5 dimensiones: antecedentes generales del establecimiento, datos del hospital, datos generales del laboratorio de microbiología, datos sobre hemocultivos y datos sobre los casos en que el nivel local aisló *Streptococcus pneumoniae*. La encuesta fue validada por el profesional a cargo del laboratorio y posteriormente fue completada por personal de laboratorio contratado con horas exclusivas para el desarrollo del estudio en terreno, todos ellos, previamente capacitados para tales efectos (S1).

Se auditó un 10% de los cuestionarios recolectados, y en el análisis se revisaron todos aquellos datos discordantes, los que fueron aclarados.

La encuesta fue revisada y aprobada por el Comité de Ética Científico del Servicio de Salud Metropolitano Oriente y su aplicación en los Hospitales fue aprobada por cada uno de los Directores de los establecimientos participantes.

La variable dependiente fue el número de notificaciones de cepas positivas a *Streptococcus pneumoniae*.

### Análisis Estadístico

Dado las características del estudio se calcularon: frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas, las medias, desviaciones estándar y valores máximos o mínimos para las variables cuantitativas. También se analizó el número de casos positivos a *Streptococcus pneumoniae* mediante el ajuste de un modelo de regresión para datos longitudinales ajustado por año y región geográfica, todo ello con una significancia de  $p < 0,05$ .

### Resultados

Los laboratorios seleccionados para el estudio se encuentran ubicados en las tres regiones más pobladas de Chile, representando el 63% de la población total país. Dos tercios de los laboratorios seleccionados pertenecen a la Región Metropolitana, el 22,2% corresponden a la Región del Biobío y un 11,1% pertenece a la Región de Valparaíso. Con respecto a la distribución de los laboratorios, se seleccionó un hospital por cada Servicio de Salud, salvo en la Región Metropolitana, donde se eligieron 2 hospitales por Servicio. El 55,6% de los hospitales indicó estar acreditado bajo estándar MINSAL.

Tabla 1: Datos hospitalarios por año, de los 18 establecimientos incluidos en el estudio.

Año	Camas hospitalarias	Ingresos hospitalarios	Días de hospitalización	Promedio de días de hospitalización			Número de atenciones de urgencias	
				TOTAL	Adulto	Pediatría	Adulto	Pediatría
2009	7.903	507.944	2.437.023	4,8	4,7	5,3	955.262	744.788
2010	8.425	407.064	2.231.656	5,5	5,7	4,4	980.499	741.549
2011	8.277	421.301	2.282.197	5,4	4,7	4,3	989.135	728.030
2012	7.666	458.424	2.080.154	4,5	4,9	4,4	981.019	719.339
2013	8.077	443.878	2.335.064	5,3	5,1	4,7	922.576	718.852
2014	8.260	431.913	2.281.282	5,3	5,1	4,9	856.072	635.636
<b>TOTAL</b>	<b>48.608</b>	<b>2.670.524</b>	<b>13.647.376</b>	<b>5,1</b>	<b>5,0</b>	<b>4,6</b>	<b>5.684.563</b>	<b>4.288.194</b>

### Datos hospitalarios

En la tabla 1 se resume parte de la información hospitalaria, indicando el promedio de días de hospitalización y el número de atenciones de urgencia para los servicios de adulto y pediatría.

Se observó que en estos 18 hospitales se disponía de un total de 48.608 camas. El promedio de día de hospitalización de los pacientes adultos fue de 5,0 días, mientras que en pacientes pediátricos fue de 4,6 días. En el año 2011, se recibió el mayor número de atención de urgencia de adultos (989.135), mientras la atención de urgencia pediátrica fue mayor en el año 2009.

Tabla 2: Número de hemocultivos totales solicitados, contaminados y positivos a *Streptococcus pneumoniae* 2009-2014.

	Año						TOTAL
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Número de hemocultivos solicitados	96.461	101.019	116.586	129.951	131.615	125.329	700.961
Número de hemocultivos contaminados a cualquier agente	1.260	1.599	1.424	1.616	1.701	1.442	9.042
Porcentaje de hemocultivos contaminados a cualquier agente (%)	1,3	1,6	1,2	1,2	1,3	1,2	1,3
Número de hemocultivos útiles para el análisis	95.201	99.420	115.162	128.335	129.914	123.887	691.919
Número de hemocultivos positivos, a cualquier agente	15.455	17.025	21.362	15.173	16.445	16.531	101.991
Porcentaje de rendimiento de positividad (%)	16,2	17,1	18,5	11,8	12,7	13,3	14,7
Número de hemocultivos positivos menos número de contaminados a cualquier agente	14.195	15.426	19.938	13.557	14.744	15.089	92.949
Número de casos positivos a <i>Streptococcus pneumoniae</i>	442	409	393	319	326	280	2.169
Número de casos positivos y confirmados por <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Fuente: ISP)	380	337	301	269	275	227	1.789
Porcentaje confirmados en el ISP	86,0	82,4	76,6	84,3	84,4	81,1	82,5

### Datos generales de los laboratorios

La totalidad de los laboratorios contaba con un manual de toma de muestras y el 83,3% de los laboratorios indicó que el manual incluye el tiempo de traslado de éstas. El tiempo máximo de traslado alcanzó las 2hrs con una media de 1hr. El 76,5% de los laboratorios señaló que el manual incluye el número de hemocultivos, siendo 2 el número informado por todos los laboratorios. El 88,8% de los laboratorios incluyó la cantidad de sangre mínima (1ml) y máxima(5ml) por botella pediátrica y el 83,3% por botella de adulto, siendo un mínimo de 9ml y un máximo de 11ml por botella.

Todos los laboratorios realizaron la incubación del hemocultivo mediante equipo automatizado y el 61,1% poseía un equipo automatizado con antigüedad superior al año 2000. El 88,9% de los laboratorios evidenció un procedimiento documentado de siembra para hemocultivo.

Todos los laboratorios participantes en este estudio estaban adscritos al programa de Evaluación Externa de Calidad del ISP.

ción básica con 2.765 hemocultivos. El porcentaje de casos en relación al total de hemocultivos positivos varió entre 0,8% y 2,0%, siendo el servicio de urgencia adulto el que registró el mayor porcentaje en el período estudiado (1,7%) (Tabla 3).

El número de casos positivos a *Streptococcus pneumoniae* fluctuó entre un mínimo de 175 (año 2014) y un máximo de 234 (año 2009). El mayor número de casos positivos a *Streptococcus pneumoniae* se registró en el Servicio de Urgencia Adulto, con 778 casos.

Se observó un leve incremento de solicitudes de hemocultivos totales entre los años 2009 y 2014, sin embargo, difirieron entre los distintos servicios de pediatría, si en pediatría básica el número de solicitudes fue constante en el tiempo, en la UPC de pediatría tendió a disminuir y en la urgencia pediátrica aumentó desde 9.873 a 15.200 solicitudes. Además, se observó una disminución de hemocultivos positivos totales entre los años 2009 y 2014, con un incremento de positividad en el año 2011 en UPC pediatría y pediatría básica, sin que en ese año se haya incrementado el número de solicitudes de exámenes.

Tabla 3: Total de hemocultivos contaminados y porcentaje\* según hemocultivos solicitados en servicios de adulto, según año.

	AÑO										TOTAL (%)			
	2009 (%)		2010 (%)		2011 (%)		2012 (%)		2013 (%)			2014 (%)		
Adulto de atención básica	422	(1,3%)	576	(1,8%)	330	(0,9%)	428	(1,1%)	584	(1,5%)	425	(1,2%)	2.765	(1,3%)
UPC Adulto	231	(1,5%)	226	(1,1%)	241	(1,0%)	216	(0,9%)	197	(0,8%)	178	(0,8%)	1.289	(1,0%)
Urgencia Adulto	163	(1,7%)	156	(1,4%)	189	(1,4%)	292	(2,0%)	303	(1,7%)	294	(1,6%)	1.397	(1,7%)
Total Servicios Adulto	816	(1,4%)	958	(1,5%)	760	(1,0%)	936	(1,2%)	1.084	(1,3%)	897	(1,2%)	5.451	(1,3%)

\*porcentaje en relación al total solicitado.

### Datos de los hemocultivos en laboratorio de microbiología

El número de cepas positivas en el nivel local y el número y porcentaje de ellas que se recibió en el Laboratorio de Referencia Nacional, fluctuó entre 86,0% y 76,6%. Además, se evidenció que existe un bajo porcentaje de muestras que se contaminan en el nivel local, cifra que se mantuvo estable en el tiempo y fluctuó entre 1,2% a 1,6% (Tabla 2).

Se constató que el total de hemocultivos contaminados en los servicios adulto, fue mayor en adulto aten-

La tabla 4 muestra que el porcentaje de contaminación de hemocultivos en los servicios de pediatría fluctuó entre 0,7% y 2,7%. Estos niveles de contaminación observados se encuentran por debajo del porcentaje de aceptabilidad en pacientes hospitalizados, (inferior a un 3%), según lo indica el Manual de Microbiología Clínica.

Se observó una disminución de un 50,4% de casos de ENI en el período 2009 (204 casos) a 2014 (101 casos) en los servicios de pediatría, y en los casos atendidos en pediatría básica esta disminución (72,6%) fue significativa, observándose 102 casos en el 2009 y 28 casos en el 2014). En

general, a partir del año 2012 se produce un quiebre en la tendencia del número de casos positivos a *Streptococcus pneumoniae*.

(p-value=0,036; IC95%= 1,02 a 1,72). En cambio, a partir del año 2011 se constató un descenso de la razón del número de casos positivos, coincidiendo con la

Tabla 4: Total de hemocultivos contaminados y porcentaje\* según hemocultivos solicitados por año en servicio pediátrico

	AÑO						TOTAL (%)
	2009 (%)	2010 (%)	2011 (%)	2012 (%)	2013 (%)	2014 (%)	
Pediatría básica	144 (1,0%)	247 (1,8%)	239 (1,6%)	203 (1,1%)	162 (1,0%)	152 (1,0%)	1.147 (1,2%)
UPC Pediatría	48 (0,7%)	70 (1,0%)	88 (1,2%)	78 (1,1%)	74 (1,1%)	56 (0,9%)	414 (1,0%)
Urgencia Pediátrica	187 (1,9%)	246 (2,7%)	256 (2,2%)	247 (1,7%)	280 (1,8%)	215 (1,4%)	1.431 (1,9%)
Total Servicios Pediatría	379 (1,2%)	563 (1,9%)	583 (1,7%)	528 (1,3%)	516 (1,3%)	423 (1,1%)	2.992 (1,4%)

\*Porcentaje en relación al total solicitado.

Tabla 5. Número de casos positivos confirmados en el ISP de menores de 15 años y menores de 5 años, y porcentaje de ellos sobre el total de informados por los servicios de Pediatría, 2009 a 2014.

	AÑO						TOTAL
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Número de casos positivos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> en menores de 15 años confirmados en el ISP	182	163	151	105	104	88	818
Número de casos positivos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> en menores de 5 años confirmados en el ISP	164	134	118	76	78	60	630
Número de casos positivos informados por los servicios de Pediatría en menores de 15 años	204	219	199	114	118	101	955
Porcentaje de casos confirmados en el ISP del total de casos positivos informados por los servicios de Pediatría	89,2	74,4	75,9	92,1	88,1	87,1	85,7

En la tabla 5 se observa que de los 818 casos confirmados por el ISP en menores de 15 años, 630 corresponden a menores de 5 años de edad (77,0 %). En este grupo, se observó una reducción de 164 a 60 casos durante el período analizado, lo que se traduce en un descenso del 63,4%.

De lo detectado en los laboratorios locales, el porcentaje de casos confirmados fluctuó en 74,4% para el año 2010 y 92,1% para el año 2012.

Mediante el ajuste de un modelo de regresión binomial negativa para datos longitudinales, se estimó que el número de casos positivos en el año 2009 fue 1,33 veces el número de casos observados en el año 2011

fecha de inicio del programa nacional de vacunación, y especialmente en el año 2014, donde el número de casos fue 0,75 veces los del año de referencia (p-value=0,037; IC95%= 0,57 a 0,98).

En la tabla 6 se observan los casos de acuerdo a serotipos causantes en dos períodos: un período prevacuna y otro postvacuna, considerando al año 2011 como año de transición. Se observó una reducción de los casos serotipo vacunales (10 valente), del orden de 96,3% en el caso del serotipo 5, sobre el 80% de reducción de los serotipos 14 y 19F. La reducción del serotipo 14, el más prevalente en Chile, fue de un 77%. Se destacó la reducción de casos producidos por el serotipo 6A que no se encuentra en la PCV10, y el aumento de los serotipos 3 y 19A que si se encuentran en la vacuna 13 valente.

El número promedio de casos en el periodo prevacuna fue de 8,4 (IC95%=2,9 a 14,0) y en el periodo postva-

Tabla 6: Caracterización de los casos de ENI en menores de 5 años, según serotipos ( período antes y período después de introducir la vacunación PCV\*)

Serotipos Vacuna 10 valente	Serotipos Vacuna 13 valente	Serotipos No vacunales	Promedio casos 2009-2010 Período 1	Casos 2011	Promedio casos 2012-2014 Período 2	Variación % (períodos 1 - 2)
1	1		16	4	3	-81,3
4	4		2	1	0	-83,3
5	5		9	6	0	-96,3
6B	6B		10	13	2	-75,4
7F	7F		6	2	2	-57,6
9V	9V		2	4	1	-50,0
14	14		50	40	11	-77,1
18C	18C		7	7	3	-59,0
19F	19F		8	8	1	-87,5
23F	23F		8	4	4	-46,7
	3		2	2	5	166,7
	6A		10	10	3	-70,0
	19A		6	5	9	63,6
		24F	2	1	4	100,0
		12F	2	3	2	0,0
		38	0	1	3	-
		NT	2	1	2	-16,7
		Otros	10	6	15	46,7

\*PCV: Vacuna neumocócica conjugada

cuna fue de 3,9 (IC95%=1,9 a 5,9), mostrándose una disminución de 4,6 casos entre ambos periodos (p-value=0,056).

## Discusión

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), a partir del año 1993 desarrolló un programa regional de vigilancia de laboratorio denominado SIREVA (Sistema de Redes de Vigilancia de los Agentes Responsables de Neumonías y Meningitis Bacterianas), el que a través de los años ha ido evolucionando desde el punto de vista técnico y de cobertura de patógenos meníngeos (3).

La Red SIREVA ha sido un gran apoyo en el fortalecimiento de los sistemas de vigilancia locales para infecciones invasoras por *S. pneumoniae*, y en especial en el aporte de información de laboratorio estandarizada, permitiendo la comparación de datos entre países y la emisión de información de calidad aceptada por la comunidad científica internacional (3,4,5,6,7). A partir de esta red, Chile ha adquirido la experiencia técnica conducente a la calidad de la vigilancia de laboratorio de *S. pneumoniae*.

Los resultados obtenidos por la encuesta mostraron un alto compromiso por parte de los laboratorios a las normas técnicas y el uso de los manuales en el manejo de muestras para aislamiento de agentes bacterianos. El porcentaje de muestras contaminadas, tanto en muestras pediátricas como de adultos, está por debajo de lo aceptado internacionalmente en pacientes hospitalizados; se acepta hasta un 3%, según lo indica el Manual de Microbiología Clínica (8).

Este estudio, por primera vez evaluó el grado de adherencia y la calidad del trabajo realizado en los laboratorios locales, por lo que no se cuenta con un referente de comparación. Sin embargo el demostrar que alrededor del 80% de las muestras en las que se aísla *S. pneumoniae* en el nivel local, se derivan al Instituto de Salud Pública para su confirmación, serotipificación y estudio de susceptibilidad a antibióticos, pareciera ser un porcentaje satisfactorio, aunque lo deseable sería que el 100% de estas cepas de derivaran al Laboratorio de Referencia.

Resulta interesante observar la reducción de los casos debidos a los serotipos vacunales contenidos en la vacuna 10 valente: 96,3% en los casos del serotipo 5, sobre el 80% de reducción de los casos debidos a los serotipos 1, 4 y 19F y de un 77% para los casos del se-

rotipo 14, habiendo sido este último el más prevalente. También se destaca la reducción de casos producidos por el serotipo 6A que no se encuentra en la PCV10 y el aumento de los casos debidos a los serotipos 3 y 19A que si se encuentran en la vacuna 13 valente.

## Agradecimientos:

- Red de Laboratorios participantes en el estudio de los 18 hospitales quienes generosamente aportaron con información.
- Organización Panamericana de la Salud, a través de su unidad "Comprehensive Family Immunization Unit", por el apoyo financiero brindado a este estudio en la contratación de un profesional de laboratorio, por cada Servicio de Salud durante un mes, para la extracción de los datos solicitados en la encuesta.

## Referencias Bibliográficas

1. Instituto de Salud Pública de Chile. Vigilancia de laboratorio de Streptococcus pneumoniae procedente de enfermedad invasora. Chile, 2007 – 2015. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. julio de 2015;5(7):3-17.
2. Jadue Hund L, Subsecretaria de Salud Pública. Dispone vacunación obligatoria contra enfermedades inmuno prevenibles de la población del país. Decreto 6 Exento. ene 29, 2010.
3. Lovgren M, Talbot JA, Brandileone MC, Casagrande ST, Agudelo CI, Castañeda 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 to 2005. J Clin Microbiol. octubre de 2007;45(10):3184-90.
4. Castañeda E, Agudelo CI, Regueira M, Corso A, Brandileone MC de C, Brandão AP, et al. Laboratory-based surveillance of Streptococcus pneumoniae invasive disease in children in 10 Latin American countries: a SIREVA II project, 2000-2005. Pediatr Infect Dis J. septiembre de 2009;28(9):e265-270.
5. Agudelo CI, Castañeda E, Corso A, Regueira M, Brandileone MC de C, Brandão AP, et al. Resistencia a antibióticos no betalactámicos de aislamientos invasores de Streptococcus pneumoniae en niños latinoamericanos: SIREVA II, 2000-2005. Rev Panam Salud Pública, Rev panam salud pública. abril de 2009;25:305-13.
6. Di Fabio JL, Castañeda E, Agudelo CI, De La Hoz F, Hortal M, Camou T, et al. Evolution of Streptococcus pneumoniae serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993 to 1999. PAHO Sireva-Vigía Study Group. Pan American Health Organization. Pediatr Infect Dis J. octubre de 2001;20(10):959-67.
7. Organización Panamericana de la Salud. Informe regional de SIREVA II, 2014. Datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, en procesos invasivos bacterianos. OPS; 2017.
8. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. Medical microbiology. Philadelphia: Elsevier/Saunders. 2015.