



ID.340. AGENTES ETIOLÓGICOS Y SEROTIPOS DE NEUMOCOCO ASOCIADOS A EMPIEMA PLEURAL EN NIÑOS: DEL CULTIVO A LOS MÉTODOS MOLECULARES.

Claudia Gutiérrez¹, Cecilia D'Albora¹, Emilia Alonso², Paula Méndez², Federica Badía², María Catalina Pérez², Adriana Varela³, Gabriela Algorta^{1,3}, María Inés Mota^{1,3}.

1-Unidad Académica Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR). 2-Clinica Pediátrica A, Facultad de Medicina, UdelaR
3-Departamento de Patología Clínica, Centro Hospitalario Pereira Rossell. Montevideo, Uruguay.



Introducción

El empiema pleural (EP) es una complicación grave presente en 10-15% de los niños hospitalizados por neumonía aguda comunitaria. La vacunación para *Haemophilus influenzae* tipo b y *Streptococcus pneumoniae* (Spn) determinó cambios epidemiológicos y disminución significativa de las hospitalizaciones. Los cultivos de sangre y/o líquido pleural (LP) logran aislar el agente en menos del 40% de los casos; las técnicas moleculares (TM) basadas en la detección de ácidos nucleicos han mejorado este rendimiento.

Objetivo: Mejorar el diagnóstico etiológico del EP con la incorporación de TM en menores de 15 años hospitalizados por EP en un hospital pediátrico de referencia (HPR).

Material y métodos

Estudio descriptivo. De 246 <15 años con EP hospitalizados en HPR entre 2015 y 2021, se incluyeron 126 por contar con alícuota LP congelada (2015: 5/57, 2016: 30/39, 2017:25/34, 2018:30/43, 2019:18/32, 2020:5/13, 2021:13/31).

Laboratorio HPR LP	<ul style="list-style-type: none"> Técnicas microbiológicas estándar para cultivo e identificación bacteriana. BioFire® FilmArray® panel meningitis/encefalitis. Serotipificación Spn por Quellung en DLSP.
Laboratorio IH Alícuota LP	<ul style="list-style-type: none"> Secuenciación gen 16S rDNA PCR para los genes <i>Xisco</i> y <i>ply</i> - identificación <i>Spn</i> Secuenciación gen <i>cpsB</i> – serotipificación Spn

Se utilizó prueba z para comparación de proporciones. Se obtuvo aval del Comité de Ética.

Resultados

112 muestras resultaron positivas para 125 agentes. Se detectaron 13 coinfecciones. Se identificó el agente por cultivo en 26 muestras (20,6%) y agregando TM se logró la identificación del agente en 112 (88,9%) (p<0,001).

Tabla 1. Identificación de gérmenes en LP mediante cultivo y TM.

Germen identificado	Cultivo	TM	Total	p
<i>S. pneumoniae</i>	17	82	99	< 0,01
<i>H. influenzae</i>	3	11	14	< 0,01
<i>S. pyogenes</i>	3	3	6	
<i>S. aureus</i>	1		1	
<i>E. coli</i>	1		1	
<i>K. pneumoniae</i>	1		1	
<i>M. tuberculosis</i>	1		1	
<i>P. melaninogenica</i>		1	1	
<i>B. vulgatus</i>		1	1	
Total	27	98	125	

Tabla 2. Identificación de Spn por las distintas técnicas y concordancia entre estas.

Detección de Spn.	Cultivo	FA - ME	Sec. 16s RNA	gen Xisco	gen ply
Cultivo (17/99 – 17%)		3/4 (75%)	16/17 (94%)	17/17 (100%)	8/8 (100%)
FA - ME (53/61 – 87%)	3/53 (5%)		25/53 (47%)	42/53 (79%)	27/30 (90%)
Sec. 16s RNA (48/99 – 48%)	16/48 (33%)	25/27 (93%)		47/48 (98%)	19/19 (100%)
gen Xisco (88/99 – 89%)	17/88 (19%)	42/48 (88%)	47/88 (53%)		51/54 (94%)
gen ply (59/66 – 89%)	8/59 (14%)	27/31 (87%)	19/59 (32%)	51/59 (86%)	

Serotipificación de Spn: Se realizó la serotipificación por Quellung en 17 muestras y por secuenciación del gen *cpsB* en 56, (incluyendo los 17 tipificados por Quellung, con 100% de acuerdo entre ambas técnicas) (p<0,001).

Tabla 3. Identificación de serotipo mediante técnica de Quellung o secuenciación del gen *cpsB*.

Serotipo (ST)	ST por técnica Quellung	ST por secuenciación <i>cpsB</i> .	ST probable por secuenciación <i>cpsB</i> .	Total
1	2	1	2	5
3	11	24	7	42
19A	1	3		4
8	1		1	2
9N	1			1
12F	1			1
15A/F			1	1
Total	17	28	11	56

Definición de ST:

Serotipo cuando el % ID>98% y la diferencia con el segundo serotipo >1%.
Serotipo probable % ID <98% y >90% y la diferencia con el segundo serotipo fue >1%.
Indeterminado: diferencia con el segundo serotipo <1%.

Conclusiones

La aplicación de técnicas moleculares aumentó significativamente el diagnóstico etiológico y serotipos de *S.pneumoniae* asociados a EP. Conocer mejor la epidemiología del EP contribuye sustancialmente a optimizar las medidas de prevención y tratamiento.

Referencias:

Badía, F; Assandri, E; Pujadas, M; Machado, MK; Varela, A; Gutiérrez, C; Mota, I; Le Pera, V; Puglia P; Piñeiro S; Kenny J; Algorta, G; Pérez MC Catalina. Hospitalizaciones por empiema paraneumónico en un hospital pediátrico de referencia entre los años 2005 y 2016. XXXI Congreso Uruguayo de Pediatría, Montevideo octubre 2017.
Gonzales-Siles L, Salvá-Serra F, Degerman A, et al. Identification and capsular serotype sequencing of *Streptococcus pneumoniae* strains. *J Med Microbiol.* 2019;68(8):1173-1188. doi:10.1099/jmm.0.001022
Krenke K, Sadowy E, Podsiay E, Hryniewicz W, Demkow U, Kulus M. Etiology of parapneumonic effusion and pleural empyema in children. The role of conventional and molecular microbiological tests. *Respiratory Medicine* 116 (2016) 28e33