

Ana E. Limón Rojas, Jesús Reyna Figueroa,  
 César Maldonado Rivera, Guillermo Wakida Kusunoki,  
 Luz Elena Espinosa, Demóstenes Gómez Barreto,  
 Octavio Ayala Montiel

Prevalence of *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal isolates from children attending in care-day centers of Petróleos Mexicanos

## Serotipos prevalentes de *Streptococcus pneumoniae* aislados en nasofaringe de niños asistentes al sistema de guarderías de Petróleos Mexicanos

Fecha de aceptación: junio 2008

### Resumen

**Objetivo.** Determinar la prevalencia de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en aislamientos de nasofaringe de niños que asisten a cuatro guarderías de Petróleos Mexicanos en la ciudad de México.

**Material y Métodos.** Por medio de un estudio transversal se muestreó la nasofaringe de niños de dos a 71 meses de edad; se identificaron los serotipos de *S. pneumoniae* mediante la reacción de Quellung con sueros producidos por el Statens Serum Institut (SSI), de Dinamarca.

Este estudio fue autorizado por el comité de investigación y de ética.

**Resultados.** Se incluyeron 498 niños, de los cuales en 176 (35.3%) se aisló *S. pneumoniae* con una variación de acuerdo con el grupo de edad de 0.4% a 8%. Los serotipos más frecuentes fueron el 6B (26.7%) y el 19 A (10.7%).

En pacientes no vacunados, se aisló 78.4%, mientras que, la no aplicación de vacuna o el uso de una sola dosis (RR 13.6; IC 95% 3.3-51,  $p<0.05$ ) y la edad mayor a un año del niño (RR 7.3, IC 95% 1.6-45;  $p<0.5$ ) resultaron con un riesgo mayor de tres y altamente significativos.

**Conclusiones.** El porcentaje de colonización está dentro de lo reportado en nuestro país. La estrategia de vacunación implementada hace un año aún se ve reflejada en las cifras reportadas.

**Palabras clave:** *Streptococcus pneumoniae*, inmunización, guardería, colonización, serotipo, prevalencia.

### Abstract

**Objective.** To determine the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* serotypes in nasopharyngeal isolates from children attending four day-care centers of Petróleos Mexicanos in Mexico City.

**Material and Methods.** A cross-sectional survey was conducted in children of two months to five years old. A nasopharyngeal sample was taken. *S. pneumoniae* identification, and capsular serotyping were performed.

The types of *S. pneumoniae* were identified by means of serums produced by Statens Serum Institut (SSI), Denmark.

Ethical considerations in this study were authorized by the committee of research and ethics.

**Results.** *S. pneumoniae* was isolated in 176/498 (35.5%) children. The most frequent capsular serotypes were 6B (26.7%) and 19 A (10.7%). 78.4% of isolates corresponded to unvaccinated patients. The non-vaccine application (RR 13.6; CI 95% 3.3-51,  $p<0.05$ ) and the use of a single dose and the age over a year (RR 7.3, CI 95% 1.6-45;  $p<0.5$ ) were significant.

**Conclusions.** The percentage of colonization obtained is similar to others reported in Mexico. The strategy of vaccination implemented one year ago in our institution is not reflected in the reported numbers.

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae*, immunization, day-care center, colonization, serotypes, prevalence

Correspondencia:

Dra. Ana Elena Limón Rojas. Departamento de Pediatría. Hospital Central Sur de Alta Especialidad Petróleos Mexicanos. Periférico Sur 4091, Fuentes del Pedregal. CP 14140, Delegación Tlalpan, México, D. F. Correo electrónico: aelimon@sm.pemex.com

## Introducción

*Streptococcus pneumoniae* es la principal causa de neumonía, meningitis, otitis media y sinusitis de etiología bacteriana, y se reconocen en la actualidad 90 serotipos inmunológicamente distintos, clasificados por la composición química de su polisacárido capsular. Estos serotipos son organizados dentro de 21 serogrupos, cada uno de los cuales contiene de dos a cinco serotipos relacionados; el resto de los 25 serotipos se numeran individualmente. En particular, el polisacárido capsular es el principal factor de virulencia además de ser el blanco para la producción de anticuerpos.<sup>1</sup>

La enfermedad neumocócica es precedida por la colonización asintomática, la cual es especialmente alta en niños; debido a esto, se elaboró una vacuna conjugada 7-valente (Wyeth<sup>(R)</sup>), que se considera altamente efectiva contra enfermedad invasiva causada por los serotipos incluidos en la vacuna, aunque el principal temor de la vacunación en un futuro es la aparición de enfermedades provocadas por serotipos no considerados en ella.<sup>2</sup>

Existen reportes que confirman la hipótesis de que los niños atendidos en guarderías están más expuestos a microorganismos respiratorios potencialmente patógenos, debido al estrecho contacto con otros niños, lo que resulta en altos rangos de colonización y diseminación de cepas dentro de la población.<sup>3</sup>

En México, de manera reciente, se está utilizando la vacuna conjugada, que contiene siete serotipos de *S. pneumoniae* de mayor predominio en enfermedad invasora (meningitis, neumonía, bacteriemia) y otitis media aguda, al igual que en Estados Unidos de América (EUA), Canadá y algunos países europeos. Considerando la dificultad de contar con aislamientos *S. pneumoniae* en enfermedad invasora que permitan evaluar el comportamiento de los serotipos, se ha propuesto como alternativa la vigilancia epidemiológica a través de estudios de colonización nasofaríngea.<sup>4</sup>

Petróleos Mexicanos ofrece desde hace tres años a su población derechohabiente la inmunización en población de riesgo, especialmente en menores de 5 años de edad, por lo que conocer los serotipos prevalentes y los porcentajes de colonización de su población cautiva se consideró conveniente. Pensando en que, por características propias de la población (mayor disponibilidad de la vacuna en comparación con la población abierta), probablemente el comportamiento en los porcentajes de colonización y en los serotipos prevalentes fuera diferente, se planteó la realización del presente estudio en niños que asisten a las guarderías del sistema de salud petrolero.

## Material y métodos

### Universo y muestra

Mediante un estudio transversal realizado en el año 2005 en el que se muestreó la nasofaringe de los niños que acuden a estancias infantiles (CENDI) para la población atendida en los servicios médicos de Petróleos Mexicanos en el Distrito Federal, denominadas: CENDI Picacho, CENDI Azcapotzalco, CENDI Verónica, y CENDI Castillo de Chapultepec.

Los niños que formaron parte del estudio fueron lactantes y preescolares, cuyos padres aceptaron firmar el consentimiento informado y contestar una encuesta creada y validada, en la cual se incluyeron ítems que evaluaban características demográficas, factores de riesgo e información acerca de la inmunización en contra del neumococo (cotejada contra la cartilla de vacunación) en la población en estudio.

### Grupos de estudio

Después de obtener los resultados del cultivo, se definieron dos grupos: a) expuestos, pacientes en los que se documentó aislamiento de *S. pneumoniae*, y b) no expuestos, pacientes en los que no se documentó *Streptococcus pneumoniae*. Se excluyeron del estudio aquellos con tratamiento antibiótico en el momento de la toma o, en su defecto, al menos 15 días previos, o que se aislara de la muestra de nasofaringe *S. pyogenes*.

Se definió colonización cuando el aislamiento de *S. pneumoniae* se realizó en un niño sano, sin sintomatología de patología infecciosa respiratoria, al momento de cultivo.

### Procedimientos

A los niños que cumplieron con los criterios de inclusión, se les tomó un exudado nasofaríngeo con un hisopo flexible de alginato de calcio (Pur-Wraps), y colocado en medio de transporte (Stuart). Los procedimientos microbiológicos se realizaron en el laboratorio de bacteriología del Hospital Infantil de México, bajo el siguiente procedimiento:

1. Siembra en placas de Petri con base de agar sangre (Dickinson Microbiology Systems, Maryland, MD) suplementado con sangre de carnero al 5%, incubándose por 24 horas a 37 °C en atmósfera al 10% de CO<sub>2</sub>.
2. Comprobación del crecimiento en placa y verificación de hemólisis.
3. Tinción de Gram y prueba de la catalasa.
4. Identificación por método manual (pruebas

- bioquímicas confirmatorias), tales como sensibilidad a la optoquina y solubilidad en bilis- esculina.
5. Serotipificación una vez identificado como *Streptococcus pneumoniae* por medio de la reacción de Quellung con sueros producidos por el **Statens Serum Institut (SSI)**, de Dinamarca.

El análisis estadístico se realizó mediante medidas de tendencia central y de dispersión de las diferentes variables epidemiológicas. La comparación entre grupos de variables continuas se realizó a través de la prueba de la t de Student. En el caso de las variables categóricas, la comparación se realizó mediante la prueba de  $\chi^2$  o la prueba exacta de Fisher, dependiendo de los valores esperados en las tablas de 2 x 2. Para estimar la fuerza de asociación, se obtuvo el riesgo relativo (RR) con IC de 95% y  $\chi^2$  con corrección de Yates.

### Consideraciones éticas

Este estudio fue autorizado por el comité de investigación y de ética del Hospital Central Sur de Alta Especialidad. Debido a que el trabajo consistió en la toma de muestras nasofaríngeas considerado de riesgo mínimo en el manejo de cepas bacterianas y el uso de antisueros y reactivos que no son de aplicación a humanos ni animales, se consideró una investigación sin riesgo para los niños. Aun así, antes de iniciar los procedimientos, se elaboró consentimiento informado, el cual firmaron los padres.

## Resultados

En las cuatro guarderías visitadas se muestreó a 520 niños, de los cuales 498 se incluyeron en el estudio, 251 del género femenino (50.4%) y 247 (49.5%) del género masculino. Para analizar la variación de acuerdo con el grupo de edad y presencia de aislamiento de *S. pneumoniae*, se distribuyeron de la siguiente manera:

De dos a 11 meses: 27 pacientes; de 12 a 23 meses: 90; de 24 a 35 meses, 71; de 36 a 47 meses, 82; de 48 a 60 meses, 99, y más de 60 meses, 129 pacientes, del total de la población en estudio.

En 176 (35.3%) niños se aisló *S. pneumoniae* con una variación de acuerdo con el grupo de edad de 0.4% a 8 % (Cuadro 1).

Asimismo, el Cuadro 2 muestra la relación de los serotipos conforme al grupo de edad. El análisis global nos indica que los más frecuentes fueron el 6B (26.7%), el 19 A (10.7%), el 11B (8.5%), el 6 A (7.9%) y el 11 A (7.9%).

Tomando en cuenta los serotipos y el número de vacunas administradas, 78.4% se aisló de niños sin vacunación, 18.1% en niños que tenían una dosis de vacuna, 2.2% en los que tenían dos dosis, y 1.1% en los que tenían tres dosis de vacuna. Los aislamientos de este último grupo fueron una cepa 6B y una 11B (Cuadro 3).

**Cuadro 1**  
**Distribución por grupos de edad de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* en niños que asisten a guarderías de Petróleos Mexicanos.**

Grupo de edad	n = 498 (%)	Aislamiento de <i>S. pneumoniae</i> Porcentaje por grupo (%)
2 a 11 meses	2 (0.4)	7.6
12 a 23 meses	26 (5.2)	28.8
24 a 35 meses	37 (7.4)	52.8
36 a 47 meses	32 (6.4)	39.5
48 a 60 meses	40 (8.0)	40.8
Más de 60 meses	39 (7.8)	30.4

Cuadro 2

Distribución por grupo de edad de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* aislados de nasofaringe en niños que acuden a guarderías de Petróleos Mexicanos

Serotipo	2-11	12-23	24-35	36-47	48-60	61	Total
2	0	0	1	0	1	0	2
3	0	0	0	0	0	3	3
14	0	1	2	2	0	1	6
34	0	0	0	0	0	1	1
10 <sup>a</sup>	0	0	0	0	2	2	4
11A	1	1	4	0	5	3	14
11B	0	3	1	2	7	2	15
11F	0	0	0	0	0	2	2
12 <sup>a</sup>	0	0	0	1	0	0	1
12B	0	0	0	0	1	0	1
15F	0	0	2	1	0	0	3
16F	0	0	1	0	0	1	2
19A	0	3	6	2	1	7	19
19B	0	0	0	0	1	0	1
19F	1	3	1	1	2	0	8
22F	0	0	0	0	1	0	1
23A	0	1	0	1	0	0	2
23B	0	1	2	1	1	0	5
23F	0	0	2	3	1	3	9
35A	0	2	1	0	0	0	3
35B	0	0	2	0	2	0	4
35F	0	1	0	0	1	0	2
6A	0	3	1	2	6	2	14
6B	0	7	10	14	5	11	47
7F	0	0	1	0	0	0	1
9 A	0	0	0	0	3	1	4
9B	0	0	0	1	0	0	1
9V	0	0	0	1	0	0	1
Total	2	26	37	32	40	39	176

Cuadro 3

Frecuencia de serotipos encontrados en niños de acuerdo con el número de dosis de vacuna administrados al momento del aislamiento

Serotipo	0	1	2	3	Total
2	3	0	0	0	3
3	3	0	0	0	3
14	5	1	0	0	6
34	1	0	0	0	1
10 A	2	2	0	0	4
11 A	14	0	0	0	14
11B	9	5	0	1	15
11F	2	0	0	0	2
12 A	1	0	0	0	1
12B	1	0	0	0	1
15F	3	0	0	0	3
16F	1	0	0	0	1
19 A	17	1	1	0	19
19B	1	0	0	0	1
19F	7	1	0	0	8
22F	0	1	0	0	1
23 A	1	1	0	0	2
23B	5	0	0	0	5
23F	6	2	1	0	9
35A	0	3	0	0	3
35B	4	0	0	0	4
35F	2	0	0	0	2
6A	13	1	0	0	14
6B	31	13	2	1	47
7F	1	0	0	0	1
9A	3	1	0	0	4
9B	1	0	0	0	1
9V	1	0	0	0	1
Total	138	32	4	2	176

**Cuadro 4**  
**Factores de riesgo analizados, para la colonización con *S. pneumoniae*  
en niños asistentes a guarderías de Petróleos Mexicanos**

Variable	Colonizados n = 176 (%)	No colonizados n = 322 (%)	RR (IC95%)	p
<b>Sexo Masculino</b>	91	156	1.12(0.77-1.65)	0.5
<b>Sexo Femenino</b>	85	166	0.92(0.72-1.17)	0.5
<b>Aplicación de una o ninguna dosis de vacuna</b>	174	259	13.6 (3.3-51)	<0.05
<b>Edad mayor a un año</b>	174	297	7.3 (1.6-45)	<0.05
<b>Más de 4 miembros en la familia</b>	52	89	1.14 (0.75-1.75)	0.5
<b>Tabaquismo</b>	47	104	0.8 (0.5-1.22)	0.2
<b>Alergias</b>	12	35	0.62 (0.3-1.28)	0.16
<b>CENDI 1<sup>a</sup></b>	66	129	0.9 (0.61-1.35)	0.6
<b>CENDI 2<sup>b</sup></b>	53	128	0.66 (0.44-0.99)	0.33
<b>CENDI 3<sup>c</sup></b>	27	42	1.16 (0.6-2)	0.5
<b>CENDI 4<sup>d</sup></b>	30	23	2.6( 1.4- 4.8)	<0.05

a. Azcapotzalco    c. Verónica  
b. Chapultepec    d. Picacho

En el análisis de factores de riesgo para colonización de *Streptococcus pneumoniae*, la no aplicación de vacuna o el uso de una sola dosis y la edad mayor a un año del niño resultaron con un riesgo mayor de tres y altamente significativos. La asistencia a una guardería en particular (Picacho), aunque resultó significativa, tuvo un riesgo menor a tres (Cuadro 4).

## Discusión

Los estudios nacionales han ponderado la importancia del conocimiento de los serotipos prevalentes en la población infantil mexicana susceptible a ser inmunizada contra *Streptococcus pneumoniae*, y han reportado porcentajes de colonización de 20% a 47%<sup>3,6</sup>, cifras en las que se incluye la encontrada en nuestro estudio (35.3%), lo cual refleja la importancia de algunos factores, como el hacinamiento propio de las guarderías en la transmisión de la bacteria<sup>4,6</sup>; por eso, en poblaciones cerradas y seleccionadas, el riesgo de infecciones invasivas es cada vez mayor, y la vacunación puede disminuirlo.

Petróleos Mexicanos, aplica desde hace alrededor de tres años de manera rutinaria la vacuna antineumocócica a su población infantil, particularmente en niños menores de 5 años. Esta situación aún no se ve reflejada en las cifras reportadas en este estudio, donde el mayor porcentaje de colonización se encontró en niños de 24 a 35 meses de edad, lo cual es fácil de explicar, ya que la mayoría de los pacientes (78.4%) no había recibido dosis alguna de vacuna, debido al poco tiempo transcurrido desde que se inició la vacunación en Pemex a la fecha del estudio (un año), lo que repercutió en la cobertura de nuestra población, aún no total.

La distribución de serotipos, por otra parte, no corresponde a lo reportado en algunas series, en donde los serotipos como el 23F y el 35 son los más frecuentes. Nosotros encontramos que los serotipos tales como el 6B (26.7%), el 19 A (10.7%) y el 11B (8.5%) son los más frecuentes; aquí prácticamente aplica la misma explicación: la mayoría de ellos son individuos no vacunados; motivo por el cual los serotipos como el 6B, 9V, 14, 19F y 23F (incluidos en la vacuna) se aíslan en nuestra

población. Esto se observa claramente reflejado al realizar el análisis del aislamiento de serotipos de acuerdo con el número de dosis aplicadas, donde el serotipo 6B se presentó únicamente en un caso con tres dosis de vacuna y 13 con una sola dosis, comportamiento que siguen el resto de los serotipos incluidos en la vacuna.

Los factores de riesgo, por su parte, señalan que el no inmunizar o recibir una sola dosis tiene un riesgo de 13 veces para colonización por *Streptococcus pneumoniae* en nuestra población. La edad mayor a un año y acudir a una guardería en particular del sistema petrolero (CENDI Picacho) confiere también riesgo para colonización. Este último, al tener el mayor número de casos, debe ser un foco de alerta, en el que se intensifique la inmunización.

Existen dos limitaciones importantes en este estudio; la primera es el desconocimiento de la sensibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas, que claramente

se reporta en otros estudios, y que permiten conocer el comportamiento microbiológico y farmacológico del fenómeno bacteriano, debido a que la vacunación rutinaria con la vacuna conjugada podría dar mejores resultados, al prevenir el desarrollo de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a antibióticos, simplificando así el manejo de la enfermedad neumocócica,<sup>7,8</sup> y la segunda, que sólo refleja el comportamiento epidemiológico de un sistema específico (Petróleos Mexicanos). Sin embargo, consideramos que es valioso, debido a que quizá sea el mismo comportamiento de otras guarderías con características similares, que permiten la transmisión de la bacteria, y podría reflejar un panorama general de lo que ocurre en estos centros de cuidados infantiles.<sup>9,10</sup>

Este primer acercamiento debe evaluarse de nuevo, debido a que, probablemente la influencia de la vacunación en la población infantil, aún no esté reflejada en el estudio. El seguimiento de estos niños se hace obligado.

## Referencias

1. Michael R. Jacobs, "Streptococcus pneumoniae: Epidemiology and Patterns of Resistance". *Am J Med* 2004; 117: 3S-15S
2. Bogaert D, de Groot R, Hermans PWM. "Streptococcus pneumoniae colonization: the key to pneumococcal disease". *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 144-54
3. Peerbooms PGH, Engelen MN, Stokman DAJ, van Benthem BHB, van Weert ML, Bruisten SM, van Belkum A, Coutinho RA. "Nasopharyngeal Carriage of Potential Bacterial Pathogens Related to Day Care Attendance, with Special Reference to the Molecular". *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40(8): 2832-2836
4. Solórzano SF, Ortiz OLA, Miranda NMG, Echaniz AG, Soto NA, Guiscafré-GH. "Serotipos prevalentes de Streptococcus pneumoniae colonizadores de nasofaringe en niños del Distrito Federal". *Salud Pública Méx* 2005; 47: 276-281
5. Nandí LE, Espinosa LE, Viñas FL, Avila FC. "Infección respiratoria aguda en niños que acuden a un centro de desarrollo infantil". *Salud Pública Méx* 2002; 44: 201-206
6. Gómez BD, Calderón JE, Rodríguez RS, Espinosa LE, Viña FL, Jiménez RV. "Carriage of antibiotic-resistant pneumococci in a cohort of a daycare center". *Salud Pública Méx* 2002; 44: 26-32
7. Echániz AIG, Solórzano SF. "Meeting the Challenge: Prevention of Pneumococcal Disease with Conjugate Vaccines". *Salud Pública Méx* 2001; 43: 352-367
8. Gómez BD, Calderón JE, Rodríguez RS, Espinosa de los Monteros LE. "Características clínico-microbiológicas de la meningitis por Streptococcus pneumoniae resistente a la penicilina". *Salud Pública Méx* 1999; 41: 397-404
9. Bogaert D, de Groot R, Hermans PWM. "Streptococcus pneumoniae colonization: the key to pneumococcal disease". *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 144-54
10. File, Jr., TM. "Streptococcus pneumoniae and Community-Acquired Pneumonia: A Cause for Concern". *Am J Med* 2004; 117: 39S-50S