Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina en niños que asisten a jardines infantiles en Santiago

Olivia Trucco A.¹; Valeria Prado J.¹; Jaime Inostroza S.²; Elsa Cabrera J.³; Raúl Terán R.³; Ignacio Bravo P.³; Lorian Castillo D.¹; Rosa Bustos V.⁴

Penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* among children attending day care centers

Pneumococcal infections are serious diseases in children. Epidemiological changes in *Streptococcus pneumoniae* including increased incidence, epidemic outbreaks and development and spreading of antimicrobial resistance have been recognized. Carrier studies are good to monitor antimicrobial resistance and prevalent serotypes. To describe prevalence of resistant isolates of *S. pneumoniae* among children attending day care centers and their most prevalent serotypes, samples of nasopharyngeal secretions were obtained and cultured in sheep blood agar with or without gentamicin 5 µg/ml at 37°C in c 5% CO₂. Susceptibility testing was done by oxacillin test, broth microdilution and E-test. During november 1994 and august 1995, samples from 200 children aged 3 months to 4 years (97 less than two years of age) were studied. *S. pneumoniae* was isolated from nasopharynx of 60.2% of these children: 28.4% isolates were resistant to penicillin (20.3% moderately reduced susceptibility and 8.1% fully resistant strains) and 2% were resistant to chloramphenicol. No erythromycin, cefotaxime or vancomycin resistant strains were identified. Similar resistance patterns were observed among isolates from children either younger or older than age 2 years. Serotype 6A was the most frequently isolated among different serotypes.

(Key words: *Streptococcus pneumoniae*, antibiotics, microbial drug resistance, penicillins.)

Las infecciones producidas por *Streptococcus pneumoniae* representan la principal causa de enfermedad bacteriana grave en la infancia en todo el mundo, produciendo en los países en vías de desarrollo más de un millón de muertes infantiles por neumonía. También son causa importante de hospitalización y muerte en la tercera edad¹.

Streptococcus pneumoniae es responsable de infecciones sistémicas graves como neumonía, meningitis y septicemia y otras menos severas no invasivas como otitis media aguda, sinusitis aguda, bronquitis y conjuntivitis, en niños y adultos, ubicándose entre los tres agentes más

frecuentes². Recientemente este agente ha cobrado importancia por algunos cambios en su epidemiología, entre los que destacan aumento de la incidencia de infecciones neumocócicas en el mundo, desarrollo creciente de resistencia a penicilina y otros antimicrobianos y resurgimiento de brotes epidémicos en centros de atención cerrada³⁻⁵.

Estudios de vigilancia en el mundo durante los últimos 5 años han demostrado aumento de 16 a 20% en la incidencia de infecciones neumocócicas en todas las naciones⁶. La tasa anual de infección, entre 130 a 210 casos por 100 000 habitantes al año, es superior en niños menores de 2 años de edad, ancianos, pacientes con disminución de sus mecanismos de defensa y los infectados con virus de inmunodeficiencia humana (VIH)⁷.

Desde la introducción de la penicilina para el tratamiento de las infecciones neumocócicas, hace cuatro décadas, este agente se mantuvo sensible a dicho antimicrobiano hasta 1967, en

1. Unidad de Microbiología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

2. Universidad de la Frontera.

3. Ayudantes alumnos, Unidad de Microbiología, Campus Oriente.

4. Tecnólogo Médico, Instituto de Salud Pública.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt N: 1950635.

que aparecieron las primeras cepas con resistencia moderada a la penicilina (concentración mínima inhibitoria -CMI- 0,1 a 1 µg/ml) en el año 1967 en Australia y Nueva Guinea. Diez años más tarde aparecieron cepas de resistencia elevada (CMI > 2 µg/ml) a la penicilina y también a otros antibióticos (multirresistentes). Ningún país se ha mantenido ajeno a la aparición de cepas resistentes de *Streptococcus pneumoniae*, que han ido en aumento, dificultando el tratamiento de los pacientes con estas infecciones.^{8-10.}

Los estudios de portadores nasofaríngeos de *Streptococcus pneumoniae* en la comunidad pueden dar una idea de los serotipos causales de enfermedad invasiva y la resistencia antimicrobiana de estas cepas¹¹. Los cambios observados a nivel mundial en las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* hacen indispensable estudiarlas también localmente para diseñar esquemas terapéuticos más efectivos.

El propósito de esta investigación fue determinar la frecuencia de colonización nasofaríngea por *Streptococcus pneumoniae* en niños que asisten a salas cuna o jardines infantiles en Santiago; estimar la incidencia de cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina y otros antimicrobianos en la flora nasofaríngea; determinar los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* prevalentes en esos niños y analizar factores de riesgo que favorezcan la colonización por cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistentes.

Material y Métodos

Se estudiaron 200 niños entre 3 meses y 4 años de edad, de condición socioeconómica media-baja, asistentes a salas cuna o jardines infantiles de la Junta Nacional de Jardines Infantiles (JUNJI).

El estudio de portadores fue realizado mediante hisopado nasal y faríngeo, utilizando tórula estéril transportada al laboratorio de microbiología del Campus Oriente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en medio de Amies dentro de 6 horas. Las muestras fueron sembradas paralelamente en placas de agar sangre (soya tripticasa adicionado de 5% de sangre de cordero) y en placa de agar sangre con agregado de gentamicina 5 µg/ml. Las placas fueron incubadas a 37° C en atmósfera de 5 a 10% de CO₂ en tarro con vela, por 24 horas.

La identificación presuntiva de *Streptococcus pneumoniae* fue realizada según normas internacionales¹². Se determinó la susceptibilidad de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* a cinco antimicrobianos (penicilina, vancomi-

cina, eritromicina, cefotaxima, cloranfenicol), empleando un método de rastreo con disco de oxacilina (1 µg) para detección de resistencia a penicilina. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada antibiótico mediante técnica de microdilución en caldo de cultivo, entre 8 y 0,0076 µg/ml¹³. En el caso de la penicilina se determinó paralelamente la CMI mediante tiras con gradiente exponencial de penicilina entre 32 y 0,002 µg/ml (E-test).

Las cepas fueron calificadas de sensibles o resistentes (resistencia intermedia o elevada en el caso de penicilina) según las normas del NCCLS 1994^{14, 15}. Se utilizó como control la cepa de *S. pneumoniae* ATCC 496¹⁶.

La serotipificación de las cepas se realizó en el Centro para Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Estados Unidos, mediante la reacción de Quellung con antisueros polivalentes y monovalentes.

Los factores de riesgo de colonización por cepas resistentes a penicilina se analizaron en cada niño mediante una encuesta que se completó con ayuda de los padres destinada a registrar antecedentes de uso de antibióticos en las cuatro semanas precedentes, hospitalización dentro del mes anterior y nivel de hacinamiento.

Los resultados fueron ingresados a una base de datos en un programa Windows 2.0 y el análisis estadístico se realizó mediante el programa computacional Epiinfo.

Resultados

Entre noviembre de 1994 y agosto de 1995 se estudiaron 200 niños de 3 meses a 4 años de edad (97 menores de 2 años y 103 de 2 a 4 años), que asistían regularmente a jardines infantiles o salas cuna de la Junta Nacional de Jardines Infantiles (JUNJI) de Santiago.

En 60,2% de los niños se aisló *Streptococcus pneumoniae* de muestras de la nasofaringe. El estudio en paralelo de muestras nasales y faríngeas mostró mejor rendimiento en las primeras, pues todos los portadores albergaban *Streptococcus pneumoniae* en la nariz y sólo la mitad de ellos también en la faringe. La frecuencia de aislamiento de *Streptococcus pneumoniae* fue similar en menores y mayores de 2 años. El uso de una placa de agar sangre adicionada de gentamicina 5 µg/ml para el cultivo en paralelo de las muestras nasofaríngeas, facilitó el aislamiento de *Streptococcus pneumoniae* al eliminar una parte importante de flora normal acompañante, facilitando así el manejo de las muestras. La distribución de serotipos de 50 cepas de *S. pneumoniae* se muestra en la figura. Al menos 12 serotipos aparecieron diseminados en la comunidad en secreciones nasofaríngeas, siendo los 6A, 15B y 19F los más frecuentes.

Figura: Serotipos de 50 cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas de niños portadores nasofaríngeos.

En 28,4% de la cepas se registró algún grado de resistencia a penicilina, 20,3% presentaban resistencia intermedia (CMI entre 0,1 y 1 µg/ml) y 8,1% resistencia elevada (CMI >2), todas las cepas eran sensibles a vancomicina, cefotaxima y eritromicina y 2% eran resistentes a cloranfenicol. El rastreo con disco de oxacilina resultó un buen método para identificar cepas resistentes a penicilina.

El análisis de los posibles factores de riesgo de portación de una cepa de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina en la nasofaringe, reveló asociación entre éste y uso previo de antibiótico (el mes anterior), enfermedad respiratoria precedente y mayor grado de hacinamiento familiar (grupo familiar mayor de 5 y 3 o menos habitaciones). En cambio no se estableció asociación con sexo, edad, hospitalización previa ni enfermedades concomitantes.

Comentario

Los cambios en la epidemiología de las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* han

motivado nuevos estudios sobre este patógeno en distintos lugares. Las muestras nasofaríngeas de niños sanos han sido útiles para vigilar su resistencia a los antimicrobianos y predecir los serotipos prevalentes en infecciones invasivas, ya que las cepas obtenidas en ambos casos muestran perfiles semejantes de resistencia y distribución de serotipos¹⁶, lo que permite orientar en la comunidad las medidas necesarias para el manejo y prevención de las infecciones producidas por este agente. Chile no ha estado ajeno al problema de la resistencia, ya que en infecciones invasivas se ha encontrado 30,9% de cepas de resistencia intermedia y 4,6% con resistencia elevada a penicilina¹⁷.

La diseminación de *Streptococcus pneumoniae* de una persona a otra ha sido demostrada. En jardines infantiles y hospitales para ancianos se han originado pequeños brotes epidémicos de infección neumocócica por una misma cepa^{18, 19}. El reservorio natural de *Streptococcus pneumoniae* es la nasofaringe, que se encuentra colonizada entre 5 y 70% de los casos, más frecuentemente en niños, especialmente los que asisten a jardines infantiles o salas cuna o viven en centros de atención infantil^{20, 21}. No está cla-

ra la relación entre portador nasofaríngeo y enfermedad invasiva, pero se acepta que ésta sigue al estado de portador (usualmente en la primera semana) de una cepa con capacidad invasiva o de un huésped con deficiencias en los mecanismos de defensa, principalmente insuficiente actividad de anticuerpos contra el serotipo colonizante²².

La frecuencia de colonización nasofaríngea en los niños de este estudio es comparable a muchas series de otros lugares²³. Se hace notar la gran proporción de estos niños que albergaba al patógeno en la nasofaringe, desde donde es posible su diseminación a territorios cercanos como oído medio, cavidades paranasales, tracto respiratorio inferior o diseminación hematogénea, si las condiciones son propicias.

En Chile ha habido un significativo aumento de la resistencia a los antimicrobianos del *S. pneumoniae*. La resistencia a la penicilina en las cepas de portadores nasofaríngeos observada en este estudio, es comparable a la descrita por otros en cepas aisladas de infecciones invasivas¹⁷. La resistencia intermedia tiene, al parecer, significación clínica sólo en las infecciones invasivas, sin embargo la resistencia elevada ha sido asociada a fallas de tratamiento en otitis media y meningitis, razón por la cual la proporción con que esta última característica ha sido registrada en este estudio sugiere la conveniencia de mantener bajo vigilancia a este patógeno para elegir el tratamiento antimicrobiano más eficaz.

La serotipos más frecuentes en este estudio difieren de los prevalentes en infecciones invasivas. Este estudio de portadores no es necesariamente un exponente fiel de lo que ocurre con las enfermedades causadas por el agente en la comunidad pediátrica. En Chile, como en otros países, más de 90% de los serotipos están incluidos entre los 23 de la vacuna polivalente disponible.

Los factores de riesgo de portar cepas resistentes a penicilina, demostrados en este trabajo, coinciden con lo descrito en otros lugares geográficos, los antimicrobianos betalactámicos facilitan la selección de cepas resistentes y el hacinamiento favorece la diseminación de éstas, por lo que se debe insistir una y otra vez en el uso adecuado y fundamentado de los antimicrobianos en pediatría para retrasar la expansión de cepas resistentes.

Resumen

Las infecciones neumocócicas causan enfermedades graves en los niños. Se han observado cambios epidemiológicos en las infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, como aumento de la incidencia, desarrollo creciente de resistencia antimicrobiana y brotes infecciosos epidémicos. El estudio de portadores es útil para vigilar la aparición y desarrollo de la resistencia antimicrobiana y de los serotipos prevalentes. Con el propósito de determinar la prevalencia de cepas resistentes de *S. pneumoniae* en niños que asisten a jardines infantiles de Santiago y los serotipos más frecuentes en la nasofaringe, se efectuó cultivo de hisopado faríngeo y nasal obtenido entre noviembre de 1994 y agosto de 1995 de 200 de ellos, cuya edad era entre 3 meses y 4 años (97 < de 2 años y 103 > de 2 años). Las muestras fueron sembradas en agar sangre con 5% de sangre de cordero, con o sin gentamicina (5 µg/ml) e incubadas en ambiente con dióxido de carbono. La resistencia antimicrobiana se evaluó mediante disco de oxacilina, microdilución en caldo y E-test. En 60,2% de los casos se aisló *S. pneumoniae* de la nasofaringe; 28,4% de las cepas eran resistentes a penicilina (20,3% con resistencia moderada y 8,1% elevada), 2% eran resistentes a cloranfenicol. No se encontraron cepas resistentes a eritromicina, cefotaxima o vancomicina. La frecuencia de cepas resistentes a la penicilina fue similar en los niños menores y mayores de 2 años. El serotipo más frecuente fue el 6A.

(Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*, antibióticos, resistencia microbiana a drogas, penicilinas.)

Referencias

1. Williams W, Hickson M, Kane M, Kendal A, Spika J, Hinman A: Immunization policies and vaccine coverage among adults. *Ann Int Med* 1988; 108: 616-625.
2. Musher D: *Streptococcus pneumoniae*. En: Principles and Practice of Infectious Diseases, Fourth Edition. Editado por Mandell, Bennett y Dolin. Churchill Livingstone, New York 1995; 1811-1826.
3. Bourza E, Rodríguez-Creixems M, Muñoz P, Cercenado E, Leóni M: Increased isolation of *Streptococcus pneumoniae* in recent years. Abstr. 1176. Program and Abstracts XXXIII Interscience Conference On Antimicrobial Agents and Chemotherapy. New Orleans. 1993.

4. Breiman RF, Butler JC, Tenover JA, Elliot JA and Facklam RR: Emergence of drug resistant pneumococcal infections in the United States. *J Am Med* 1994; 271: 1831-1835.
5. Cherian T, Steinhoff MC, Harrison LH, Rohn D, McDougal LK, and Dick J: A cluster of pneumococcal disease in young children in child care. *J Am Med* 1994; 271: 695-697.
6. Breiman R: Changing epidemiology of pneumococcal disease: a critical need for vaccine development and use. Symposium: Prevention and Control of pneumococcal infections. XXXIII Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. New Orleans 1993.
7. Bouza E, Muñoz P: Penicillin resistant pneumococci in adult disease with special reference to AIDS patients. *Microbial Drug Resistance* 1995; 1: 9-28.
8. Hansman D, and Bullen MM: A resistant pneumococcus. *Lancet* 1967; 2: 264-265.
9. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM, et al: Emergence of multiply-resistant pneumococci. *N Engl J Med* 1978; 299: 735-740.
10. Spika JS, Facklam RR, Plikaytis BD, Oxtoby MJ, and the Pneumococcal Surveillance Working Group: Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1979-1987. *J Infect Dis* 1991; 163: 1273-1278.
11. Musher DM: Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: Clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 801-809.
12. Manual de Diagnóstico bacteriológico en el Laboratorio Clínico. Instituto de Salud Pública. 1994.
13. Ruoff K: *Streptococcus*. En: Manual of Clinical Microbiology, Sixth edition. Editado por Murray, Baron, Pfaller, Tenover y Tenover. American Society for Microbiology, Washington DC. 1995: 299-307.
14. Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests-Fifth Edition: Approved Standard. NCCLS Documento M2-A5.13 N° 24, 1993.
15. Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that Grow Aerobically - Third Edition: Approved Standard. NCCLS Documento M7-A3.13 N° 25, 1993.
16. Mastro D, Nomani N, Ghaffor Z, et al: Use of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* from children in Pakistan for surveillance of antimicrobial resistance. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 824-830.
17. Castillo L, Bustos R, Ulloa MT, et al: Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones sistémicas en Chile. *Revista Chilena de Infectología* 1994; 11: 163-167.
18. Reichler MR, Alphin AA, Breiman RF, et al: The spread of multiply resistant *Streptococcus pneumoniae* at a day care center in Ohio. *J Infect Dis* 1992; 166: 1346-1353.
19. Miller MR, Brown NM, Tobin GW, and Murphy PJ: Outbreak of infection with penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in a hospital for the elderly. *J Hosp Infect* 1994; 27:99-104.
20. Mastro TD, Nomani NK, Ishaq Z, et al: Use of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* from children in Pakistan for surveillance for antimicrobial resistance. *Pediatr Infect Dis* 1993; 12: 824-830.
21. Mogdasy MC, Camou T, Fajardo C, and Hortal M: Colonizing and invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* in Uruguayan children: type distribution and patterns of antibiotic resistance. *Pediatr Infect Dis* 1992; 11: 648-652.
22. Smith T, Lehmann D, Montgomery J, Gratten M, Riley JD, and Alpers MP: Acquisition and invasiveness of different serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in young children. *Epidemiol Infect* 1993; 111: 27-39.
23. Koornhof H, Wasas A, Klugman K: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumococcal*: A South African perspective. *Clin Infect Dis*. 1992; 15: 84-94.