Portación nasal de *Streptococcus pneumoniae* en adulto mayor y su respuesta frente a la vacunación antineumocócica

Rogelio Altuzarra H¹, M. Teresa Valenzuela B^{2,3},
Olivia Trucco A⁴, Jaime Inostroza S^{5a}, Paulo Granata S¹,
José Fleiderman V^b.

Nasal carriage of Streptococcus pneumoniae in elderly subjects according to vaccination status

Background: *S pneumoniae* is the main cause of community-acquired pneumonia in the elderly, group that concentrates 95% of deaths. **Aim:** To assess the prevalence of nasal carriage of *S pneumoniae* in institutionalized elderly patients. **Material and methods:** One hundred eighteen institutionalized subjects aged over 60 years (65 males) were enrolled. Since they were also participating in a controlled protocol related to the immunogenicity of an anti-pneumococcal vaccine, our investigation was also blind and randomized. According to randomization, they received pneumococcal or tetanic vaccine. Nasal swab cultures were taken at the beginning of the trial and two months after vaccination. According to recommended methods, we identified *S pneumoniae*, the serotypes and their antimicrobial susceptibility. **Results:** In the first nasal sample, 16% of subjects were positive for *S pneumoniae*. The second sample was positive in 12%. Of the 33 isolated serotypes, 9.1% demonstrated intermediate resistance to penicillin and 3.3% were resistant to chloramphenicol. **Conclusions:** The study demonstrated a greater percentage of colonized patients than in the general population. The isolated serotypes are the same that cause invasive diseases in this age group, according to data of the Institute of Public Health of Chile. There were no differences in the percentage of colonization between subjects vaccinated against *S pneumoniae* and control groups, after two months of follow up. Isolated strains had a low resistance to penicillin. High level resistance was not observed (Rev Méd Chile 2007; 135: 160-6).
(**Key words:** Aged; Pneumococcal vaccines; *Streptococcus pneumoniae*)

Recibido el 25 de abril, 2006. Aceptado el 3 de agosto, 2006.

Fondos concursables para Proyectos de Investigación Científica de la Universidad de los Andes.

¹Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina Universidad de los Andes. ²Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina Universidad de los Andes. ³Escuela de Salud Pública, Universidad de Chile. ⁴Programa de Microbiología, Facultad de Medicina Universidad de Chile. ⁵Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina Universidad de la Frontera.

^aQuímico Farmacéutico

^bAlumno de Medicina, Facultad de Medicina Universidad de los Andes.

Correspondencia a: Dr. Rogelio Altuzarra Hernáez. Facultad de Medicina Universidad de los Andes. San Carlos de Apoquindo 2200. Teléfono: (56-2) 4129307. Fax: (56-2) 2141752. E mail: raltuzarra@uandes.cl

Streptococcus pneumoniae (*S pneumoniae*) es una bacteria capsulada identificada por Louis Pasteur en 1881. Al entrar en contacto con el hombre, produce desde una colonización nasofaríngea hasta cuadros invasores, tales como meningitis, septicemia, bacteremias, otitis y neumonías, todos ellos de gravedad en ambos extremos de la vida. Hoy se reconoce al *S pneumoniae* como la principal causa de morbilidad y mortalidad en el mundo¹. Es la primera causa de neumonía comunitaria y la segunda de meningitis bacteriana después de la introducción de la vacuna *H influenzae b* en los programas de inmunización². La incidencia de bacteremia neumocócica y de meningitis ha aumentado dos o tres veces en los últimos veinte años. La infección por VIH puede estar jugando un rol en ello³.

El 95% de las muertes por neumonía se produce en adultos mayores de 65 años^{2,4}. Las tasas de mortalidad por infección respiratoria aguda (IRA) en el adulto mayor han permanecido históricamente altas en nuestro medio, 350 por cien mil habitantes y sólo han descendido a 295 por cien mil habitantes en el período de 1985 a 1995⁵. Estas cifras pueden tener su origen en la ausencia de medidas de prevención diferentes a las ya contempladas, tales como la vacunación antiinfluenza y las salas de ERA (enfermedad respiratoria del adulto).

La patogenicidad del *S pneumoniae* está relacionada primariamente con la propiedad antifagocitaria del polisacárido capsular y la protección está correlacionada a la presencia de anticuerpos opsonicos⁶.

Los serotipos predominantes de *S pneumoniae*, tanto en la colonización faríngea como en los cuadros invasores del adulto mayor, son poco conocidos en nuestro medio, ya que los estudios se han canalizado a caracterizar las cepas en menores de cinco años. Los serotipos predominantes obtenidos de cuadros invasores en este grupo de edad son: 1, 5, 7F, 8, 9N, 10A, 14 y 23F⁷. En muestras provenientes de nasofaringe de niños que asisten a jardines infantiles los serotipos más prevalentes han sido, 6A, 15B y 19F (*IX International Congress on Infectious Diseases*. Buenos Aires, Argentina. 10 de abril de 2000).

En un estudio comparativo realizado en dos ciudades chilenas, se determinaron los serotipos capsulares y la resistencia antibiótica en niños. Los

resultados mostraron la coexistencia tanto de serotipos similares, como serotipos específicos para cada localidad. Además, se encontró distintos porcentajes de resistencia antibiótica entre ambas ciudades, incluso para el mismo serotipo aislado⁸.

Si bien se ha estudiado la prevalencia, serotipos y resistencia en niños, no se ha realizado lo mismo en adultos, especialmente en la población de tercera edad, donde los datos no son del todo extrapolables, pese a la relación existente entre los cuadros invasores de ambos grupos etáreos⁹. Por tal razón, el interés en nuestro estudio fue conocer esos tópicos en el adulto mayor.

OBJETIVOS

Dado que los adultos mayores constituyen un grupo de riesgo para contraer enfermedades neumocócicas, hemos considerado interesante plantearnos en este estudio los siguientes objetivos: conocer la prevalencia de portación nasofaríngea de *Streptococcus pneumoniae* en población adulta mayor en un centro cerrado, identificar los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* aislados en esas cepas prevalentes y la relación entre estos serotipos y los causantes de enfermedades invasoras y determinar la susceptibilidad de las cepas aisladas a los antimicrobianos más frecuentemente empleados en infecciones neumocócicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio doble ciego aleatorio en 118 pacientes adultos mayores de 60 años, 55,1% del sexo masculino y 44,9% de sexo femenino, residentes del Hogar de Ancianos Rosita Renard, perteneciente al Hogar de Cristo.

El estudio fue sometido a revisión por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes y se obtuvo el consentimiento informado de los participantes o sus representantes.

El inicio del estudio fue el 20 de agosto de 1998, fecha en la cual se seleccionaron los sujetos, se tomó el consentimiento informado y la primera muestra de frotis nasal.

Los criterios de inclusión fueron: adultos de 60 años o más, sistema inmune normal o inmuno-

comprometidos con alto riesgo de enfermedad neumocócica o sus complicaciones, incluyendo aquellos con disfunción esplénica, esplenectomía, linfomas, mieloma múltiple, insuficiencia renal crónica, síndrome nefrótico y sujetos candidatos a trasplantes, portadores del VIH/SIDA, portadores de enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus y alcoholismo. Como criterios de exclusión se consideraron: edad menor a 60 años, vacunados en período inferior a 6 años y mayores de 60 años que estuvieran cursando un cuadro de neumonía, sinusitis, mastoiditis o meningitis.

La patología de base de los pacientes fue la siguiente: 19,5% padecía de enfermedades cardíacas, 41,5%, hipertensión arterial, 9,3%, diabetes mellitus, 10,2%, enfermedad pulmonar crónica y 1,7%, enfermedad inmunosupresora.

El total de los sujetos participantes del estudio fueron distribuidos aleatoriamente, dado que corresponden a los participantes de un estudio de respuesta inmune a la vacuna antineumocócica 23 valente. De acuerdo a dicha distribución, el grupo en estudio recibió la vacuna antineumocócica y el grupo control la vacuna antitetánica (Tabla 1).

En ambos grupos de sujetos se estudió la colonización nasal por *S pneumoniae* en el mo-

mento basal (0) y a los dos meses después de la vacunación.

Para el análisis estadístico se trabajó con el programa EPI-INFO 6.1.

Estudio de colonización por *S pneumoniae*. Para estudiar la colonización por *S pneumoniae*, las muestras de frotis nasal fueron tomadas con tórula estéril humedecida en suero fisiológico y transportadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en un tubo con medio de transporte Amies y sembradas dentro de las 6 h de tomadas. La siembra se realizó en placas de agar sangre (Blood Agar Base adicionado de 5% de sangre de cordero) a las que se agregó 2 ug/ml de gentamicina y 50 ug/ml de ácido nalidixico; se incubaron en atmósfera de 5% de CO₂ a 37°C. Las colonias alfa hemolíticas fueron examinadas morfológicamente y se estudiaron 5 colonias sospechosas de *S pneumoniae* por placa. La identificación de las cepas se realizó según el método internacionalmente recomendado^{10,11}.

La serotipificación se realizó mediante la reacción de Quellung, con antiseros del Institute Antiserum de Copenhague. En lámina de vidrio se colocó la cepa emulsionada en gota de azul de

Tabla 1. Características de los pacientes participantes en el estudio

Parámetros	Grupo A: vacuna antitetánica n=59	Grupo B: vacuna antineumocócica n=59	Total	p value
Sexo				
Mujeres	28	25	53	0,57
Hombres	31	34	65	
Edad (años)				
60-70	12	14	26	0,80
70-80	23	21	44	
80 y más	19	23	42	
Sin información	2	4	6	
Sin comorbilidad	10	13	23	0,90
enfermedades previas	46	49	95	
a) Cardíacas	12	11	23	
b) Diabetes	6	5	11	
c) Hipertensión	23	26	49	
d) EPOC*	5	7	12	

*Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

metileno más una gota de antisuero; luego de 10 min, se observó con microscopio de luz la hinchazón de la cápsula. La técnica fue realizada en el *Center for Diseases Control* (CDC), Atlanta, Estados Unidos.

El estudio de susceptibilidad se realizó mediante E-test (determinación de la concentración mínima inhibitoria [CIM]) en placa de agar Muller Hinton con 5% de sangre de cordero. Se evaluaron cuatro antimicrobianos: penicilina, cefotaxima, cloranfenicol y vancomicina. Las cepas fueron clasificadas como sensibles o resistentes (intermedia o elevada) según las normas del NCCLS, 2004¹¹. Se utilizó como cepa control, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Los puntos de corte para considerar cepas sensibles a penicilina son CIM de 0 o menor a 0,06 ug/ml. CIM para sensibilidad intermedia, 0,12 a 1 ug/ml y CIM para resistencia elevada (CMI ≥ 2 ug/ml).

RESULTADOS

En la primera muestra nasal realizada a 118 adultos mayores, 16,1% de los pacientes demostró la presencia de *S pneumoniae*. De los 19 pacientes colonizados, 2 pacientes mantuvieron la colonización por el mismo serotipo hasta la toma de la segunda muestra (2 meses después).

La segunda muestra nasal demostró que 14 sujetos de un total de 114 (12,3%) estaban coloni-

zados por *S pneumoniae*, de los cuales 12 habían sido negativos en la primera muestra.

Por lo tanto, de los 118 sujetos participantes del estudio, hubo 26,3% que estuvo colonizado en algún momento en los dos meses. De los 31 sujetos colonizados, se obtuvo un total de 33 cepas para el estudio. No hubo diferencias en la colonización entre el grupo vacunado y el grupo control.

Los serotipos de *S pneumoniae* aislados en los sujetos colonizados se muestra en las Figuras 1 y 2 correspondientes a la primera y segunda muestra, respectivamente. En la primera muestra se identificaron 10 serotipos distintos en los 19 sujetos: 14, 6B, 5, 31, 19F, 15A, 20, 7F, 8 y 15B; en la segunda muestra se identificaron 9 serotipos en los 14 sujetos. De esos serotipos, sólo 3 fueron distintos a los ya identificados en la primera muestra: 19A, 38 y 3. Los serotipos más prevalentes encontrados en las dos muestras fueron, en primer lugar 6B (18%), 14 (15%), después en orden de importancia estuvieron el serotipo 31 (15%), 19 F (9%), 15 A (9%), 5 (6%). Es decir, tan sólo 3 serotipos correspondieron casi a la mitad de los serotipos prevalentes en la portación en el adulto mayor: 14, 6B y 31.

Los serotipos que se repitieron en los dos sujetos en las dos muestras consecutivas fueron el 14 y el 6B.

En la Tabla 2 se observa el perfil de resistencia antimicrobiana de las 33 cepas de *S pneumoniae* aislados de los 31 pacientes. El 9,1% de las cepas demostró resistencia intermedia a penicilina (CMI

Figura 1. Serotipos de *S pneumoniae* aislados de frotis nasal de 118 adultos mayores, primera muestra.

Figura 2. Serotipos de *S pneumoniae* aislados de frotis nasal de 114 adultos mayores segunda muestra.

entre 0,1 y 1 ug/ml), ninguna cepa demostró resistencia elevada (CMI ≥ 2 ug/ml). No hubo cepas resistentes a cefotaxima ni vancomicina. El 3,3% de las cepas fue resistente a cloranfenicol.

En la Figura 3, se observa la distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias de penicilina frente a las 33 cepas aisladas. En 3 cepas, la CMI de penicilina fue de 0,1 ug/ml, que las calificó de resistentes (resistencia intermedia). Sobre el resto de cepas la penicilina demostró gran actividad, con CMI entre 0,015 y 0,06 ug/ml en la mayoría de las cepas; en 3 de ellas, la CMI de penicilina fue tan baja como 0,007 ug/ml.

DISCUSIÓN

Hoy se reconoce a las enfermedades invasoras por *S pneumoniae* como la principal causa de morbilidad y mortalidad en el mundo y la primera de neumonía comunitaria.

Es también en la actualidad el agente causal más importante (60%) de aquellos cuadros con etiología establecida, como lo muestran estudios entre 1966 y 1995², siendo, además, la segunda causa más importante de meningitis bacteriana después de la introducción de la vacuna *H influenzae b* a los programas de inmunización³.

El estudio de colonización realizado en adultos mayores en un centro cerrado, demostró un porcentaje de portación mayor que lo observado en población

general. En un estudio previo, realizado en un centro abierto de salud, la portación fue inferior a 10% (VIII *International Congress on Infectious Diseases*. Boston, Mass, USA. 15 de mayo 1998).

En diferentes estudios realizados, se demuestra que la colonización en adultos es bastante menor que la determinada en población infantil. En un estudio en Gambia, 52% de niños sanos menores de dos años de edad eran portadores¹². En un reciente estudio se demostró que esta portación disminuyó de 17,7% en sujetos de 18-29 años a 10,3% en sujetos de 40-49 años¹³. El alto porcentaje de portación ha sido asociado a mayor hacinamiento y mayor contaminación intradomiciliaria.

La importancia de conocer los serotipos en el adulto, es saber el grado de relación existente entre los serotipos de la portación y los causantes de cuadros invasores, lo que ha podido demostrarse a

Tabla 2. Perfil de resistencia de 33 cepas de *S pneumoniae*. Importancia relativa (%)

	Total	Resistencia Intermedia	Elevada
Penicilina	9,1	9,1	0
Cefotaxima	0		
Cloranfenicol	3,3	3,3	0
Vancomicina	0

Figura 3. Distribución de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de penicilina frente a 33 cepas de *S pneumoniae*.

través de un estudio nacional⁸ y a través de datos aportados por la vigilancia epidemiológica realizada por el Instituto de Salud Pública de Chile (XXI Congreso Chileno de Microbiología. Campus Isla Teja, Universidad Austral de Chile, Valdivia 9 octubre).

Esta vigilancia nos ha mostrado que los serotipos más frecuentes aislados de cuadros invasores en el adulto mayor de 60 años son: 1, 7, 19, 14, 6, 12, 9 y 3. De estos serotipos, en nuestro estudio estuvieron representados en la portación el 6B, 6A, 7F, 14 y el 19F. Es importante señalar que todos ellos están contenidos en la vacuna 23 valente de indicación muy precisa en el adulto mayor¹⁴.

Se destaca que los serotipos más prevalentes en este estudio de portación fueron el 6, 14 y 19, serotipos esperables y concordantes con los que causan enfermedad invasora; sin embargo, el serotipo 31 que aparece como prevalente en la portación, frecuentemente está asociado a colonización y no a infección invasora. Los serotipos varían de una ciudad a otra, como lo demuestra un estudio realizado en nuestro propio país, en que participaron dos centros, uno en la Región Metropolitana y otro en Temuco⁸. En ese estudio los serotipos más frecuentes en portación nasofaríngea fueron el 6B, 6A y 15B.

Se destaca también, como ha sido descrito en la literatura, la colonización por más de un serotipo, situación observada en 9,1% de colonizados, 3 de 33 pacientes¹⁵.

El estudio de muestras nasales con 2 meses de intervalo entre una y otra, no nos permite documentar una dinámica de colonización nasofaríngea de *S pneumoniae*. Al incluir un grupo vacunado y otro control, pudimos demostrar que en el grupo etario estudiado, no hubo diferencias en el porcentaje de colonización entre vacunados y control en el corto plazo.

En cuanto al perfil de resistencia de la cepas estudiadas en esta investigación, se demuestra un bajo nivel de resistencia antimicrobiana, similar a lo reportado por otros autores. Las cifras de resistencia en adultos son más bajas que las encontradas en población pediátrica¹⁶. También así se demuestra en un estudio realizado sobre 900 cepas de *S pneumoniae* aisladas entre los años 1997-2003, en un centro académico. Del total de cepas estudiadas, 32% provenían de muestras estériles y 68% de muestras no estériles, principalmente del tracto respiratorio superior. La resistencia encontrada a penicilina en menores de 15 años, fue: 26% de resistencia intermedia y 18% de resistencia alta; en cambio en los mayores de 15 años estas cifras descendieron a 19% y 10%, respectivamente.

Nuestro estudio reportó una resistencia aún más baja. La resistencia encontrada en el estudio citado a cloranfenicol fue de 3,6%¹⁷, cifra muy similar a la encontrada por nosotros (3,3%).

La vigilancia de resistencia de las cepas aisladas de infecciones invasoras en niños chilenos provenientes

de las distintas regiones, demuestra un creciente aumento de la resistencia intermedia y total de estas cepas a los β -lactámicos con cifras de 30%¹⁸.

En la vía del conocimiento del comportamiento del *S pneumoniae* respecto de su rol en

la portación, en la generación de enfermedades invasoras y en la generación de resistencia a antibióticos, es necesario continuar periódicamente realizando investigaciones en estas materias.

REFERENCIAS

- MUSHER DM. *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and Practices of Infectious Diseases*, 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995; 1811-26.
- FINE MJ, SMITH MA, CARSON CA, MUTHA S, SANKEY S, WEISSFELD L ET AL. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. *JAMA* 1996; 275: 134-41.
- PLOUFFE J, BREIMAN R, FACKLAM R. Bacteremia with *Streptococcus pneumoniae* in adults: Implications for therapy and prevention. *JAMA* 1996; 275: 194.
- WOODHEAD M. Pneumonia in the elderly. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34 Sppl. A, 85-92.
- Anuarios de Demografía INE, Registro Civil, MINSAL 1985-1995.
- MUSHER D, GROOVER J, REICHLER M, RIEDO F, SCHWARTZ B, WATSON D ET AL. Emergence of antibody to Capsular Polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*: Association with Nasopharyngeal Colonization. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 441-6.
- KERTESZ DA, DI FABIO JL, DE CUNTO MC, CASTANEDA E, ECHANIZ G, HEITMANN I ET AL. Invasive *Streptococcus pneumoniae* infection in Latin American children: results of the Panamerican Health Organization Surveillance Study. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1355-61.
- INOSTROZA J, TRUCCO O, PRADO V, VINET A, RETAMAL G, OSSA G ET AL. Capsular Serotype and Antibiotic Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Isolates in two Chilean Cities. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology* 1998; 5: 176-80.
- LAGOS R, SAN MARTIN B, ERAZO A, AVENDAÑO A, LEVINE M Y GRUPO COLABORATIVO. Epidemiología de las enfermedades invasoras causadas por *Streptococcus pneumoniae* en niños chilenos: Proyecciones clínicas y de salud pública. *Rev Chil Infectol* [online] 2001; 18 supl. 1: 15-21.
- MUFSON M. *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandel RG Douglas, and JE Bennett (eds). *Principles and Practices of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone, New York. 1990, 1539-1550.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Ninth Informational supplement. Document M1100-S12. 2004.
- LLOYD-EVANS N, O'DEMPSEY TJ, BALDEH I, SECKA O, DEMBA E, TODD JE ET AL. Nasopharyngeal carriage of pneumococci in Gambian children and their families. *Pediatr Infect Dis* 1996; 15: 866-71.
- WATT JP, O' BRIEN KL, KATZ S, BRONSDON ELLIOT MA, DALLAS J ET AL. Nasopharyngeal versus Oropharyngeal Sampling for Detection Pneumococcal Carriage in Adults. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4974-6.
- SAMA -SA Pulmonology Society Working Group. Adult Pneumococcal Vaccination Guideline. *SAMJ* 1999; 89: 222-30.
- GRAY B, CONVERSE G, DILLON H. Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage and infection during the first 24 months of life. *J Infect Dis* 1980; 142: 923-32.
- GARCÍA P. Resistencia bacteriana en Chile. *Rev Chil Infect* 2003, 20 (supl 1): S11-S23.
- SALDÍAS F, FLORES LJ, TORRES C, GARCÍA P, DÍAZ A. Susceptibilidad a antimicrobianos de *Streptococcus pneumoniae* en población infantil y adulta de Santiago. Período de 1997-2003. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 42-9.
- HEITMANN I. Nota Breve: Epidemiología nacional de las infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae*. *Rev Chil Infect* 1999; 16: 133-6.

Agradecimientos

Los autores desean reconocer la valiosa colaboración del personal de salud del Hogar de Ancianos Rosita Renard del Hogar de Cristo. Además valora el aporte de Aventis Pasteur que gentilmente donó las vacunas del estudio.