

Epidemiología de la colonización nasofaríngea por *Streptococcus pneumoniae* en niños sanos menores de 5 años

D. Sánchez Tatay¹, M.J. Gil Domínguez², A. Barcia Ramírez², R. Torronteras Santiago³, I. Mateos³, A. Fenoll Comes⁴, I. Obando Santaella²

¹Unidad de Investigación. Hospital Virgen Rocío. Sevilla. ²Pediatría. Hospital Virgen Rocío. Sevilla. ³Microbiología. Hospital Virgen Rocío. Sevilla. ⁴Centro Nacional de Microbiología. Instituto Salud Carlos III. Madrid

INTRODUCCIÓN

La colonización de la nasofaringe (NP) es un paso previo al desarrollo de infección neumocócica y las tasas más elevadas de colonización se encuentran en los niños, especialmente en aquellos de edad preescolar⁽¹⁾. En la población infantil, los aislados que se encuentran colonizando la NP constituyen el reservorio ecológico principal a partir del que surgen y se diseminan las resistencias del microorganismo y reflejan los aislados circulantes en la comunidad⁽²⁾. La vacuna conjugada 7-V ejerce un importante efecto sobre la colonización NP, cuyos efectos a largo plazo son desconocidos⁽³⁾. La respuesta a esta importante cuestión solamente puede ser obtenida con una vigilancia continuada de la colonización NP en niños pequeños.

MATERIAL Y MÉTODOS

En enero del 2005 se inició un estudio descriptivo transversal sobre las prevalencias locales de colonización NP por *Streptococcus pneumoniae* (SP), distribución de serotipos y perfil fenotípico y genotípico de resistencias, que sigue en curso. Hasta junio se evaluaron 238 niños sanos entre 6 meses y 5 años procedentes de 5 centros de salud y consultas hospitalarias en la ciudad de Sevilla. La obtención de la muestra, transporte, almacenamiento, cultivo y serotipación de los neumococos se ha realizado de acuerdo a las recomendaciones del grupo de expertos de la OMS para estandarizar el método de detección de portadores nasofaríngeos de SP⁽⁴⁾. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó por microdilución en caldo, utilizando los puntos de corte recomendados por el NCCLS⁽⁵⁾. Las resistencias genotípicas a eritromicina se analizaron por PCR utilizando los cebadores

descritos por Sutcliffe *et al.*⁽⁶⁾. La serotipación se ha realizado en el Laboratorio Nacional de Referencia de SP mediante la reacción de Quellung y *dot-blot*⁽⁷⁾.

RESULTADOS

De forma global, el 26% de los niños (61) fueron portadores de SP. Se identificaron serotipos incluidos en la vacuna conjugada 7-V (4,6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) en el 28% de casos (17), con reactividad cruzada frente a los serotipos vacunales en el 25% (6A, 9A, 19A, 23A/B) (15) y el 47% restante (29) correspondió a serotipos no vacunales, incluyendo 5 aislamientos no tipables (**Figura 1**). Los serotipos individuales más frecuentemente encontrados fueron 14 (14,7%), 6A (14,7%), 11 (9,8%) y 10 (8,2%) (**Figura 2**).

La prevalencia de resistencias de cualquier tipo fue del 52,5%, con un 23% mostrando resistencia a uno solo de los antimicrobianos evaluados, 19,7% a dos y un 9,8% a tres o más antibióticos. Los patrones de resistencia y su distribución entre los distintos serotipos aparece reflejada en la **Tabla I**.

De los 61 aislamientos, un 35% tenían susceptibilidad disminuida a la penicilina: 7% resistencias elevadas y un 28% resistencias intermedias (**Tabla II**). Las resistencias a la penicilina fueron significativamente más frecuentes entre los serotipos vacunales que entre los relacionados (82 *vs.* 33% $p < 0,02$) y los no vacunales (82 *vs.* 10% $p < 0,001$) (**Figura 3**).

Más de un 90% de aislamientos fueron sensibles a los otros antibióticos betalactámicos testados, con tan sólo un 7 y un 2% de resistencias plenas a amoxicilina y cefotaxima respectivamente (**Tabla II**). No se detectaron cepas con resistencias discordantes entre la penicilina y cefotaxima o amoxicilina (**Tablas III y IV**).

Las resistencias a la eritromicina se detectaron en cerca de un tercio de los 61 aislamientos (32,8%). El 65% de las resistencias a eritromicina correspondía a fenotipo MLS_B y el 35% restante a fenotipo M. El gen *ermB* estaba presente en todos los aislamientos con resistencias fenotípicas MLS_B (Figura 4). A diferencia de las resistencias a la penicilina, los niveles de resistencia a eritromicina entre serotipos vacunales y relacionados fueron similares (41 vs. 40% p 0,95) (Figura 5). Aunque las resistencias a eritromicina fueron inferiores entre los serotipos no vacunales, la diferencia no tiene significación estadística (41 vs. 24% p 0,2). Las resistencias a eritromicina de tipo MLS_B se asociaron con las resistencias a tetraciclinas en un 71% de casos (posible existencia trasposones conjugativos familia Tn915-Tn1545), mientras que sólo se detectaron resistencias a tetraciclinas en el 4% de los aislamientos que no presentaban dicho fenotipo.

Aunque todas las cepas fueron uniformemente sensibles a la levofloxacina, fluoroquinolona "respiratoria" de uso relativamente frecuente en la población adulta, se encontraron dos cepas con CMI de 2. Estos aislamientos podrían tener mutaciones de primer nivel en *parC*, lo que teóricamente favorecería el desarrollo de resistencias de alto nivel si aparecen mutaciones adicionales en el curso de los tratamientos antibióticos.

CONCLUSIONES

Tras la introducción de la vacuna se registra un importante grado de reemplazamiento de serotipos a nivel de NP. Los principales reemplazantes son tanto serotipos relacionados con los serotipos no vacunales, especialmente 6A, y serotipos no vacunales. Dentro de estos últimos, los serotipos identificados más frecuentemente corresponden a aquellos detectados rutinariamente en menor frecuencia en las series prevacuna. El potencial invasivo de estos serotipos reemplazantes es bastante desconocido, si bien existen evidencias de su capacidad para producir enfermedad invasora, como es el caso del serotipo 33 presente en dos de nuestros casos^(8,9).

Las resistencias a penicilina y eritromicina son inferiores a las comunicadas en años recientes en niños en aislamientos procedentes del tracto respiratorio superior en nuestro país⁽¹⁰⁻¹²⁾. Modelos matemáticos han sugerido, sin embargo, que este presumible efecto beneficioso se amortiguará a largo plazo por los

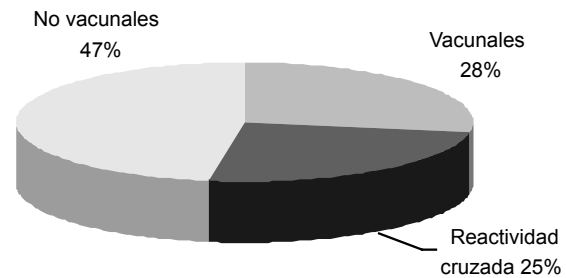


Figura 1. Distribución relativa de serotipos por grupos en colonizantes nasofaríngeos.

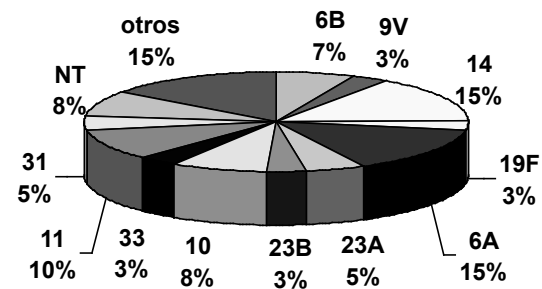


Figura 2. Distribución relativa de serotipos individuales en colonizantes nasofaríngeos.

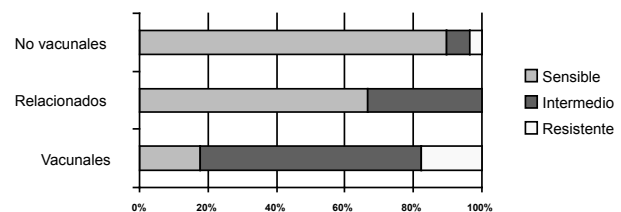


Figura 3. Nivel de resistencias a penicilina en los serotipos vacunales, relacionados con la vacuna y no vacunales.

efectos de presión selectiva antibiótica sobre los serotipos reemplazantes y por los fenómenos de intercambio capsular^(13,14). Las resistencias entre los serotipos no vacunales están emergiendo, según un muy reciente estudio, lo que parece confirmar esta hipótesis⁽¹⁵⁾. Los niveles de resistencia a eritromicina en serotipos reemplazantes en este estudio son relativamente similares a los de los vacunales y se han apreciado en serotipos que históricamente presentaban este problema⁽¹²⁾. De todas formas, el limitado número

Tabla I. Patrones de resistencias antibióticas y distribución de serotipos de los 61 aislamientos nasofaríngeos de *Streptococcus pneumoniae*

ST	NR	P	E	T	PE	PC	PA	ET	PET	PAC	ETCI	PETCA	Total
3	1												1
6A	4	2			1			1	1				9
6B			1		2					1			4
7	1												1
9V							2						2
10	5												5
11	4		2										6
12				1									1
13F	1												1
14	2	3			1	2			1				9
15B			1										1
19A				1									1
19F									2				2
23A	1							1			1		3
23B	2												2
24	1												1
31	3												3
33								2					2
35B		1											1
35F	1												1
NT	2	1	1									1	5
Total	28	7	5	2	4	2	2	4	4	1	1	1	61

Tabla II. CMI₅₀, CMI₉₀, perfil de susceptibilidad antimicrobiana y farmacodinámico frente a diversos antimicrobianos

Antibiótico	CMI ₅₀ (mg/ml)	CMI ₉₀ (mg/ml)	S%	I%	R%	S PK/PD%
Penicilina	0,015	1	65,5	27,8	6,7	96,6
Amoxicilina	2	0,06	91,1	2,2	6,7	91,1 (93,3)*
Cefotaxima	1	0,015	93,4	4,4	2,2	93,4
Eritromicina	128	0,12	67,2	0	32,8	67,2
Levofloxacino	1	1	100	0	0	100
Tetraciclina	0,25	16	87,5	0	12,5	87,5
Cloranfenicol	4	4	96,8	0	3,2	96,8
Vancomicina	0,5	0,5	100	0	0	100

S: susceptible; I: intermedio; R: resistente; PK/PD: farmacocinético/farmacodinámico.

* amoxicilina altas dosis.

Tabla III. CMI a penicilina y cefotaxima en los aislamientos de SP procedentes de muestras NP

Penicilina / Amoxicilina	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4
0,06	29	4	7	2	1				
0,12				2	1				
0,25						1			
0,5									
1					1	2	3		
2							4		
4									1
8								2	1

Tabla IV. CMI a penicilina y amoxicilina en los aislamientos de SP procedentes de muestras NP

Penicilina / Cefotaxima	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4
0,015	27	1							
0,03	2	3	1						
0,06				1					
0,12			6	3	1				
0,25					2				
0,5						2	1	1	
1						1	4	1	
2							2		1
4									1

ro de aislamientos no permite establecer conclusiones válidas sobre este particular.

No se encontraron resistencias discordantes entre amoxicilina y penicilina, lo que permite seguir usando la CMI como marcador surrogado de eficacia microbiológica de la amoxicilina^(16,17).

La utilización de altas dosis de amoxicilina en el tratamiento empírico de las infecciones respiratorias neumocócicas no parece justificada, al menos en niños sin factores de riesgo para el desarrollo de resistencias. De acuerdo a criterios farmacodinámicos (concentraciones séricas > CMI durante 40-50% intervalo entre dosis) un 93% de niños serían adecuadamente tratados en cuadros de infecciones respiratorias neumocócicas, incluyendo OMA, con amoxicilina a dosis estándar (40-45

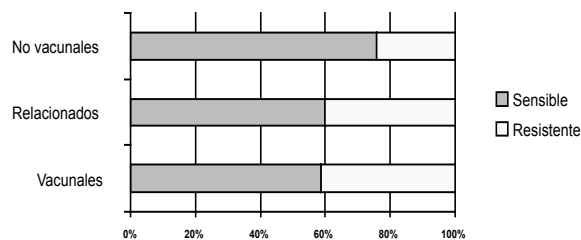


Figura 4. Nivel de resistencias a eritromicina en los serotipos vacunales, relacionados con la vacuna y no vacunales.

mg/kg/día) y solamente un 2,2% adicional se beneficiarían de la utilización de dosis elevadas (80-90 mg/kg/día). Estos resultados son similares a los expues-



Figura 5. Detección por PCR del gen *ermB* en extractos de ADN procedente de aislamientos de SP con resistencias fenotípicas MLS_B.

tos recientemente en medios con niveles de resistencia equiparables a los encontrados en nuestro estudio⁽¹⁸⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bogaert D, De Groot R, Hermans PWM. Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 144-54.
2. Lencastre H, Tomasz A. From ecological reservoir to disease: the nasopharynx, day-care centers and drug resistant clones of Streptococcus pneumoniae. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: S2, 75-81.
3. Dagan R, Lipsitch M. Changing the ecology of pneumococci with antibiotics and vaccines. En: Tuomanen EI, Mitchell TJ, Morrison DA, Spratt BG (eds.). *The Pneumococcus*. Washington: ASM press; 2004. p. 283-313.
4. O'Brien KL, Nohynek H; the WHO pneumococcal vaccine trials carriage working group. Report from a WHO working group: standard method for detecting upper respiratory carriage of Streptococcus pneumoniae. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 133-40.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth informational supplement, M100-s12*. Wayne: Pam USA; 2002.
6. Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A, Wondrack L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2562-6.
7. Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Casal J. Dot Blot Assay for the Serotyping of Pneumococci. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 764-6.
8. Sandgren A, Sjostrom K, Olsson-Lijequist B, Christensson B, Samuelsson A, Kronwall, G *et al.* Effect of clonal and serotype-specific properties on the invasive capacity of Streptococcus pneumoniae. *J Infect Dis* 2004; 189: 785-96.
9. Kaplan SL, Mason EO, Wald ER, Schutze GE, Bradley JS, Tan TQ, *et al.* Decrease of invasive pneumococcal infections in children among 8 children's hospitals in the United States after the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics* 2004; 113: 443-50.
10. Marco FJ, García de Lomas C, García Rey E, Bonza L, Aguilar, Fernández-Mazarrasa. Antimicrobial susceptibilities of 1.730 Haemophilus influenzae respiratory tract isolates in Spain in 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3226-3228.
11. Fenoll A, Asencio G, Jado I, Berrón S, Camacho MT, Ortega M, Casal J. Antimicrobial susceptibility and pneumococcal serotypes. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: S13-19.
12. Pérez-Trallero E, García de la Fuente C, García Rey C, Baquero F, Aguilar L, Dal-Re R, *et al.* Geographical and Ecological analysis of resistance, coresistance and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1965-72.
13. Termine L, Guilkemot D, Böelle PY. Short- and Long-Term Effects of Pneumococcal Conjugate vaccination of children on penicillin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2206-13.
14. Trcinski K, Thompson CM, Lipsitch M. Single-step capsular transformation and acquisition of penicillin resistance in Streptococcus pneumoniae. *J Bacteriol* 2004; 186: 3447-52.
15. Huang SS, Platt R, Rifas-Shiman SL, Pelton SI, Goldmann D, Finkelstein JA. Post-PCV7 changes in colonizing pneumococcal serotypes in 16 Massachusetts communities, 2001 and 2004. *Pediatrics* 2005; 116:e408-13.
16. Garau J. Both penicillin and amoxycillin should be tested in antimicrobial surveillance for Streptococcus pneumoniae. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 422-3.
17. Du Plessis M, Bingen E, Klugman KP. Analysis of penicillin-binding protein genes of clinical isolates of Streptococcus pneumoniae with reduced susceptibility to amoxicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2349-57.
18. Garbutt J, St. Geme JW, May A, Storch GA, Shackelford PG. Developing Community-Specific Recommendations for First-Line Treatment of Acute Otitis Media: Is High-Dose Amoxicillin Necessary? *Pediatrics* 2004; 114: 342-7.