

Prevalencia de colonización nasofaríngea por neumococo en niños de 1 a 5 años de edad institucionalizados en Cienfuegos.

Chavez Amaro, Dra. Dunia María¹
Casanova González, Dra.C. Maria Felicia²
Capote Padrón, Jorge Luis³

¹ Universidad de Ciencias Médicas, Cienfuegos, Cuba, metmed5807@ucm.cfg.sld.cu

² Hospital Pediátrico Universitario. Cienfuegos, Cuba, neurofisiologia@hosped.cfg.sld.cu

³ Hospital Pediátrico Universitario. Cienfuegos, Cuba, jorgelu @hosped.cfg.sld.cu

Resumen:

Introducción: El *Streptococcus pneumoniae* forma parte de la flora bacteriana normal de la mucosa nasal y faríngea. La colonización nasofaríngea antecede a la enfermedad neumocócica y los individuos afectados constituyen el reservorio a nivel comunitario. Alcances del estudio: Conocer la prevalencia de colonización nasofaríngea en niños de 1 a 5 años de edad vinculados a un ensayo clínico fase II-III del nuevo candidato vacunal cubano contra el neumococo para evaluar el impacto post- vacunación y estudiar el fenómeno de reemplazo. **Métodos:** se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal en niños que asisten a círculos infantiles del municipio Cienfuegos. Se evaluaron criterios de inclusión para la vacunación y se obtuvo el consentimiento informado de los padres incluyéndose en el estudio 1135 sujetos. Las muestras de exudado nasofaríngeo se tomaron siguiendo los protocolos establecidos. Se estimó la prevalencia de colonización y se identificaron los serotipos más frecuentes. El análisis de datos incluyó la distribución de frecuencias. **Resultados:** La prevalencia global de colonización nasofaríngea por neumococos fue de 31,01 %. Los serotipos vacunales 19F, 6B, 23F y 14 fueron predominantes en este estudio. **Conclusiones:** los hallazgos sugieren que la carga de enfermedad neumocócica y la colonización nasofaríngea en niños menores de 5 años pudiera ser significativamente impactada por la introducción de la nueva vacuna cubana contra neumococos.

Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*; colonización nasofaríngea; serotipos; vacunas conjugadas antineumocócica.

I. INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus pneumoniae* o neumococo (*S. pneumoniae*) es reconocido como el principal patógeno bacteriano que afecta el tracto respiratorio de los niños y adultos. Ocasiona infecciones de la vía aérea superior, y constituye la principal causa de neumonía adquirida en la comunidad (NAC) en los países desarrollados y en vías de desarrollo¹.

La enfermedad neumocócica constituye una de las diez primeras causas de muerte en los países desarrollados. Se estima que del 15 al 30% de todas las neumonías son debidas al neumococo².

La transmisión del neumococo se hace por vía respiratoria, especialmente por núcleo-gotitas de aproximadamente 10µm, que permanecen en suspensión. Su cápsula de polisacáridos le permite evadir la fagocitosis, facilitando la invasividad del germen, que puede también ocasionar meningitis, septicemia, fiebre sin foco y, más raramente, artritis, peritonitis y celulitis³.

Estudios en América Latina y el Caribe muestran que el costo de la enfermedad neumocócica es una carga económica importante y significativa para los Sistemas de Salud y las familias^{4,5}.

Un hecho central en la epidemiología de las infecciones neumocócicas es la colonización nasofaríngea, ya que es el paso previo a la enfermedad y condiciona la selección de resistencias. Todas las enfermedades causadas por neumococos están precedidas de una colonización nasofaríngea asintomática de mayor o menor duración, en función de diferentes factores, pero principalmente de la invasividad de cada serotipo. El porcentaje de portadores asintomáticos varía con la edad, el entorno y la presencia de infecciones en el tracto respiratorio alto. La prevalencia de portadores puede llegar a alcanzar hasta el 60% en niños en edad preescolar, el 35% en edad escolar y mostrar hasta un 29% de prevalencia en los adultos jóvenes⁶.

En la actualidad, se describen más de 90 serotipos de neumococos inmunológicamente distintos, que difieren según la estructura de su cápsula de polisacáridos. Cada serotipo difiere en sus propiedades biológicas, la capacidad patógena e invasora, los síndromes que producen, la capacidad para colonizar la nasofaringe y la resistencia a antibióticos⁷.

La introducción de la vacuna antineumocócica en los esquemas de inmunización es una herramienta efectiva para la prevención y control de la enfermedad neumocócica y la colonización nasofaríngea. La nueva generación de vacunas conjugadas antineumocócicas es altamente efectiva en niños menores de dos años y se ha introducido en varios países con gran éxito, registrándose una disminución evidente en la incidencia de la Enfermedad Neumocócica Invasiva (ENI) en menores de cinco años⁸⁻¹².

Cuba no ha iniciado la vacunación antineumocócica, pero un candidato vacunal heptavalente (PCV7-TT), se encuentra actualmente en fase de evaluación clínica, que se espera introducir en el 2018¹³⁻¹⁵.

Con el objetivo de estimar la prevalencia de colonización nasofaríngea e identificar los serotipos circulantes en niños de 1 a 5 años de edad, institucionalizados del municipio de Cienfuegos durante el período 2014-2015, se realiza este estudio. El mismo constituye la línea de base de un ensayo clínico de la nueva vacuna antineumocócica cubana, para monitorear su impacto.

II. MÉTODO

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal en el municipio de Cienfuegos, en el período de junio del 2014 a noviembre del 2015.

El marco muestral del estudio lo constituyeron 4 084 niños, matrícula total de los 26 círculo infantiles ubicados en las 8 áreas de salud del municipio de Cienfuegos.

A partir de la identificación del universo de niños elegibles, fueron incluidos los que cumplieron los criterios de inclusión asociados al rango de edad, el consentimiento informado firmado por los padres y la condición de asistencia a círculos infantiles. Resultaron incluidos 1 135 sujetos.

Se consideraron como criterios de exclusión: la presencia de defecto anatómico que limitara la toma de muestra en el paciente; las enfermedades o trastornos de la sangre referidos por los padres; el tratamiento antibiótico siete días antes de que se recogieron muestras clínicas; o historia previa de vacunación contra neumococo.

Los exudados nasofaríngeos (NF) fueron recogidos por el técnico de laboratorio del área de salud, previamente entrenado. Se siguió el procedimiento establecido en el protocolo.

El aislamiento de *S. pneumoniae* y la serotipificación fue realizada en el Laboratorio Nacional de Referencia de Neumococo del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (LNRN-IPK). La identificación de *S. pneumoniae* se basó en la presencia de α -hemólisis y la inhibición por optoquina¹⁶. Las muestras de exudados NF se descongelaron a temperatura ambiente (25°C), se agitaron, y utilizando el hisopo contenido en el tubo, se inocularon en placas de agar sangre con 5 % de sangre de carnero y 5 mg/L de gentamicina. Estas se incubaron durante 18-24 h a 37 °C en atmósfera de CO₂.

El tipo capsular o serotipo se determinó empleando la reacción de Neufeld-Quellung o reacción de hinchamiento capsular, utilizando el juego de reactivos Pneumotest (Statens Serum Institute, Copenhagen, Dinamarca)¹⁶.

Los serotipos se clasificaron en: a) serotipos vacunales incluidos en el candidato vacunal cubano contra neumococo (1, 5, 6B, 14, 18C, 19F y 23F); b) relacionados con la vacuna por posible reacción cruzada (6A y 19A); c) serotipos no vacunales, referido a los no incluidos en la formulación de dicho candidato vacunal; y d) aislamientos para los que no se podría asignar una cápsula se informaron como "sin serotipar" en el laboratorio de referencia.

Se realizó una entrevista individual utilizando un cuestionario semiestructurado diseñado al efecto, donde se recogieron los datos de identificación del sujeto y de la muestra de exudado nasofaríngeo tomada. Los registros se incluyeron en una base de datos utilizando Microsoft Access versión 2007.

Se estimó la prevalencia de la colonización NF global y por serotipos. Se describieron las proporciones de serotipos vacunales, los relacionados con la vacuna y los serotipos no vacunales.

El protocolo de estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del IPK y de la Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos, así como por el Consejo Científico Provincial.

III. RESULTADOS

De 4 084 niños entre 1-5 años de edad posibles a estudiar, se incluyeron 1 135 (27,79%) que cumplieron los criterios de inclusión. Se obtuvo el 100% de las muestras de exudado nasofaríngeo y el 31,01% (352/1 135) de los sujetos estaban colonizados (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia global de colonización nasofaríngea en niños entre 1 y 5 años que asistían a Círculos Infantiles del municipio Cienfuegos, 2014-2015.

Exudados nasofaríngeos	N	%
Positivos	352	31,01
Negativos	783	68,99

Total	1135	100,00
Exudados nasofaríngeos	N	%

La distribución de serotipos de neumococos aislados se muestra en la Tabla 2. Los serotipos predominantes incluidos en el candidato vacunal cubano representaron el 46,88 % de las muestras (165/352). En 91 sujetos (25,85%) se aislaron serotipos relacionados con la vacuna (6A y 19A), considerados así por las evidencias de la posibilidad de detectar un efecto de protección cruzada. Solo en el 21,31% de los casos (75) se les aislaron serotipos no vacunales. En 11 muestras no fue posible realizar la serotipificación.

Tabla 2. Distribución de serotipos con respecto al total de neumococo aislado en niños entre 1 y 5 años que asistían a Círculos Infantiles del municipio Cienfuegos. 2014-2015.

Serotipos Aislados	N	%
Serotipos vacunales	165	48,25
Serotipos relacionados con la vacuna	91	26,60
Serotipos no vacunales	75	21,93
No serotipados	11	3,22
Total	342	100,00

La distribución por serotipos vacunales aparece en la Tabla 3. El serotipo 19F (39,40%) resultó el más frecuente, aislado en 65 sujetos; seguidos del 6B en 43 muestras (26,06%). El serotipo 23F representó el 18,19%, el 14 (14,54%) y el serotipo 18C fue aislado en solo tres muestras (1,81%).

Tabla 3. Distribución de serotipos vacunales aislado en niños entre 1 y 5 años que asistían a Círculos Infantiles del municipio Cienfuegos. 2014-2015.

Serotipos vacunales	N	%
14	24	14,54
18C	3	1,81
6B	43	26,06
19F	65	39,40
23F	30	18,19
Total	165	100,00

En los aislamientos de serotipos no vacunales (Tabla 4), puede apreciarse que el de mayor frecuencia de aislamiento fue el serotipo 15B, aislado en 14 sujetos (4,09%): Le siguieron en orden de frecuencia el serotipo 19C en 10 muestras (2,92%), el 23A en 10 sujetos (2,92%) y los serotipos 29, 34, 35, 42, y 47 en 7 muestras (2,05%).

Tabla 4. Distribución de serotipos no vacunales aislado en niños entre 1 y 5 años que asistían a Círculos Infantiles del municipio Cienfuegos. 2014-2015.

Serotipos no vacunales	N	%
10A	1	1,33
10B	1	1,33
10C	1	1,33
11A	3	4,00

15B	14	18,65
15C	2	2,70
15F	1	1,33
18A	3	4,00
18B	3	4,00
18F	2	2,70
19B	1	1,33
19C	10	13,33
23A	10	13,33
23B	2	2,70
23F	1	1,33
29,34,35,42,47	7	9,30
3	4	5,33
35B	1	1,33
6C	4	5,33
7B	1	1,33
7F	1	1,33
9N	1	1,33
9V	1	1,33
Total	75	100,00

DISCUSIÓN

La Enfermedad Neumocócica Invasiva (ENI) se considera un problema de salud pública en el mundo, en niños y adultos, que causa un amplio espectro de manifestaciones de la enfermedad¹⁷.

Los resultados del presente artículo forman parte de los estudios de línea de base previos a la introducción de la vacuna cubana antineumocócica PVC7-TT, que servirán para evaluar la efectividad y el impacto de la misma en los menores de cinco años.

La colonización nasofaríngea por neumococo en la muestra estudiada se comporta con resultados similares a los reportados en la literatura^{18, 19}. Se ha estimado que entre un 25% y un 60% de los niños menores de 4 años están colonizados por esta bacteria²⁰.

Estudios reportados en Europa plantean que del 25-60% de los niños y un 6-29% de los jóvenes, presentan colonización nasofaríngea por este germen y que la misma está relacionada, en el caso de los adultos, a la convivencia con lactantes y párvulos^{21, 22}.

La distribución de serotipos varía a lo largo del tiempo y es diferente de un área geográfica a otra, dependiendo de la edad, del uso de los antibióticos y de otros factores conocidos²³.

En poblaciones no vacunadas frente a neumococo, los serotipos que con más frecuencia colonizan la nasofaringe son el 3, 6A, 6B, 7F, 14, 18C, 19A, 19F y 23F, comportamiento muy similar al encontrado en este estudio, teniendo en cuenta tanto los serotipos vacunales como los relacionados con la vacuna.

Diversos reportes han puesto de manifiesto que los serotipos que predominan en el mundo son los serotipos 4, 14, 6, 19, 23, 18 y 9 y que los más prevalentes en los países desarrollados tales como EE.UU, Canadá y Europa son los serotipos 6, 14, 19 y 23^{12, 24-26}.

IV. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio de prevalencia de colonización NF en menores de cinco años contribuye a la generación de nuevas evidencias científicas para la evaluación del candidato vacunal PCV7-TT que permitirá la toma de decisiones para la introducción y uso por el sistema de salud.

REFERENCIAS

1. Hausdorff WP, Feikin DR, Klugman KP. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. *Lancet Infect Dis* 2005; 5; 83-93.
2. Sinclair A, Xie X, Teltscher M, Dendukuri N. Systematic review and meta-analysis of a urine-based pneumococcal antigen test for diagnosis of community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 2013; 51(7):2303-10.
3. Muhammad RD, Oza-Frank R, Zell E, Link-Gelles R, Narayan KM, Schaffner W, et al. Epidemiology of invasive pneumococcal disease among high-risk adults since the introduction of pneumococcal conjugate vaccine for children. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 59-67.
4. De la Hoz F, Gálvis N, Narváez J, Orozco J. Evaluación del impacto epidemiológico y económico de la introducción de la vacuna del neumococo en Colombia. *Infect Dis*. 2008; 12(S1):90.
5. Bello González T, Rivera-Olivero I.A, Sisco M.C, Spadola E, Hermans P.W, de Waard J.H. PCR deduction of invasive and colonizing pneumococcal serotypes from Venezuela: a critical appraisal. *J Infect. Dis* 2014; 8 (4), 469-473.
6. Salleras L, Domínguez A, Izquierdo C. Epidemiología de la enfermedad neumocócica en el adulto. En: La enfermedad neumocócica y su prevención. Caminando hacia el futuro. Moraga Llop FA. 2010; 113-26.
7. Lee H, Cha JH, Nahm MH, Burton RL, Kim KH. The 7-valent pneumococcal conjugate vaccine elicits cross-functional opsonophagocytic killing responses to *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D in children. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 474.
8. Diamantino-Miranda J, Isabel Aguiar S, Carrico JA, Melo-Cristino J, Ramirez M. Conjugate vaccine introduction in Portugal was followed by a decrease of serotype 6A and 6E but not of serotypes 6B and 6C. In: Abstr 12th EuroPneumo.2015, abstr P2.22.
9. Lee GM, Kleinman K, Pelton SI, Hanage W, Huang SS, Lakoma M, et al. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination on *Streptococcus pneumoniae* carriage in young children in Massachusetts. *J Pediatr Infect Dis* 2014; 3(1):23-32.
10. Ben-Shimol S, Greenberg D, Givon-Lavi N, Schlesinger Y, Somekh E, Aviner S, et al. Early impact of sequential introduction of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on IPD in Israeli children <5 years: an active prospective nationwide surveillance. *Vaccine* 2014; 32(27):3452-9.

11. Moore CE, Paul J, Foster D, Mahar SA, Griffiths D, Knox K, et al. Reduction of invasive pneumococcal disease 3 years after the introduction of the 13-valent conjugate vaccine in the Oxfordshire region of England. *J Infect Dis* 2014; 210 (7):1001–11.
12. Moore MR, Link-Gelles R, Schaffner W, Lynfield R, Lexau C, Bennett NM, et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect Dis* 2015; 15(3):301–9.
13. González N, Paredes B, Pérez S, Mirabal M, Rivero I, González C, et al. Safety and immunogenicity of Cuban antipneumococcal conjugate vaccine PCV7-TT in healthy adults. *MEDICC Review*. 2015; 17(4):32-7.
14. Dotres CP, Puga R, Ricardo Y, Brono CR, Paredes B, Echemendía V, et al. Safety and preliminary immunogenicity of Cuban pneumococcal conjugate vaccine candidate in healthy children: A randomized phase I clinical trial. *Vaccine*. 2014; 32 (41):5266-70.
15. Toledo ME, Casanova MF, Linares-Pérez N, et al. Prevalence of Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage among Children 2-18 Months of Age: Baseline Study Pre Introduction of Pneumococcal Vaccination in Cuba. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Jan; 36(1):e22-e28.
16. World Health Organization & Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae* [homepage en Internet]; WHO manual, 2011 [citado 12 de junio de 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/70765>
17. Oliveira LH. La vigilancia de la enfermedad neumocócica en América Latina y Caribe: conceptos, oportunidades y desafíos. OPS. V Simposio de Neumococo. São Paulo, 5-6 marzo de 2013.
18. Croucher NJ, Kagedan L, Thompson CM, Parkhill J, Bentley SD, Finkelstein JA, et al. Selective and genetic constraints on pneumococcal serotype switching. *PLoS Genet*. 2015; 11(3): e1005095.
19. Ziane H, Manageiro V, Ferreira E, Moura IB, Bektache S, Tazir M, et al. Serotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolates from invasive pneumococcal disease and asymptomatic carriage in a pre-vaccination period, in Algeria. *Front Microbiol*. 2016; 7: 803-10.
20. Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet* 2014; 385(9966):430–40.
21. Tin Tin Htar M, Christopoulou D, Schmitt HJ. Pneumococcal serotype evolution in Western Europe. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 419.
22. Van der Linden M, Falkenhorst G, Perniciaro S, Imöhl M. Effects of infant pneumococcal conjugate vaccination on serotype distribution in invasive pneumococcal disease among children and adults in Germany. *PLoS One* 2015; 10: e0131494.
23. Muñoz-Almagro C, Ciruela P, Esteva C, Marco F, Navarro M, Bartolomé R, et al. Serotypes and clones causing invasive pneumococcal disease before the use of new conjugate vaccines in Catalonia, Spain. *J Infect*. 2011; 63: 151-162.
24. Kawaguchiya M, Urushibara N, Kobayashi N. High prevalence of genotype 6E (putative serotype 6E) among noninvasive/colonization isolates of *Streptococcus pneumoniae* in northern Japan. *Microb Drug Resist* 2015; 21(2): 209–14.
25. Knol, M. J. et al. Invasive pneumococcal disease 3 years after introduction of 10-valent pneumococcal conjugate vaccine, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2015; 21, 2040–2044.

26. Desai, A. Decline in Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage of Vaccine Serotypes after the Introduction of the 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Children in Atlanta, Georgia. *Pediatr. Infect. Dis. J* 2015; 34, 1168–1174.