

## PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/87365>

Please be advised that this information was generated on 2017-12-06 and may be subject to change.

# Estado de portador nasofaríngeo de *Streptococcus pneumoniae* en madres e hijos de la población indígena Panare del estado Bolívar, Venezuela

T. BELLO GONZÁLEZ<sup>1</sup>, I. A. RIVERA-OLIVERO<sup>1</sup>, L. POCATERRA<sup>2</sup>, E. SPADOLA<sup>3</sup>,  
M. ARAQUE<sup>4</sup>, P. W. M. HERMANS<sup>5</sup>, J. H. DE WAARD<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biomedicina, Laboratorio de Tuberculosis, Caracas, Venezuela; <sup>2</sup>Universidad Central de Venezuela, Escuela de Medicina "José María Vargas", Cátedra de Parasitología, Caracas, Venezuela; <sup>3</sup>Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Departamento de Bacteriología, Sección de Aislamiento e Identificación Bacteriana, Caracas, Venezuela; <sup>4</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; <sup>5</sup>Department of Pediatrics, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, the Netherlands.

\*Correspondencia. E-mail: jacobusdeward@gmail.com

## RESUMEN

En América del Norte, los grupos indígenas se han identificado como una población con un riesgo elevado de ser portadora de *Streptococcus pneumoniae*, así como de desarrollar enfermedad neumocócica invasora. Sin embargo, hay poca información con respecto a los indígenas de Latinoamérica. En el presente estudio se evaluó el estado de portador nasofaríngeo y la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* en madres e hijos de la población panare de Venezuela. Durante el mes de mayo de 2008 se obtuvieron 148 muestras nasofaríngeas de 64 madres y 84 niños menores de 5 años pertenecientes a 8 comunidades panare. Mediante procedimientos estándares se identificaron 65 cepas de *S. pneumoniae*. Dichas cepas fueron tipificadas por PCR múltiple, y sus patrones de sensibilidad a los antimicrobianos se determinaron por el método de difusión con discos. El 11% de las madres y el 69% de los niños eran portadores de *S. pneumoniae*. Los serotipos 6B (49%), 33F (21,5%), 6A (6%), 19A (3,1%) y 23F (1,5%) fueron los más frecuentes. El mismo serotipo se identificó en 3 de los 6 grupos madre-hijo/s colonizados. Todas las cepas fueron sensibles a la penicilina y el 13,7% fue resistente a los macrólidos. La elevada tasa de colonización en la población panare sugiere que los niños presentan un alto riesgo de desarrollar enfermedad invasora por *S. pneumoniae*; por lo tanto podrían beneficiarse de la vacunación. Cuatro serotipos de la vacuna conjugada (6B, 6A, 19A y 23F), que representaron el 58% de las cepas aisladas, estaban presentes en la población al momento del estudio. La resistencia a los antibióticos no se presenta como un problema dentro de esta población.

**Palabras clave:** *Streptococcus pneumoniae*, estado de portador, nativo americano, indígenas, enfermedad neumocócica

## ABSTRACT

**Pneumococcal carriage in mothers and children of the Panare Amerindians from the State of Bolivar, Venezuela.** In North America, the indigenous groups have been identified as a population with increased risk of pneumococcal colonization and pneumococcal invasive disease. However, little information is available from South American natives. In the present study we evaluated the nasopharyngeal carriage and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* in mothers and children of the Panare people from Venezuela. In May 2008, in 8 distinct geographically isolated communities, 148 nasopharyngeal samples were obtained from 64 healthy mothers and 84 healthy Panare children under 5 years of age. *S. pneumoniae* was isolated and identified by standard techniques. Strains were typed by multiplex PCR and resistance patterns were determined by the disk diffusion method. A total of 65 strains were isolated; 11% of the mothers and 69% of the children carried *S. pneumoniae*. Serotypes 6B (48%), 33F (21,5%), 6A (6%), 19A (3,1%) and 23F (1,5%) were the most predominant. Of the 6 colonized mother-child pairs, 3 pairs (2 with 6B), were colonized with the same serotype. All strains were sensitive to penicillin and 13,7% were resistant to macrolides. The high colonization rates in the Panare people suggest that the children are at increased risk of pneumococcal invasive disease and could benefit from vaccination. Four conjugate vaccine serotypes (6B, 6A, 19A and 23F) representing 58 % of all strains were present in the population at the moment of sampling. Resistance to antibiotics is (still) not a problem.

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae*, nasopharyngeal carriage, native Americans, indigenous, pneumococcal disease

*Streptococcus pneumoniae* es un patógeno importante que causa procesos invasores como sepsis, meningitis y neumonía. La colonización nasofaríngea siempre precede a la enfermedad grave. En general, existen factores de riesgo

que determinan la tasa de colonización en diferentes poblaciones; entre los más importantes se encuentran la etnia y el hacinamiento, y también los ambientales y socioeconómicos como el número de personas en la familia (1).

Los estudios de colonización nasofaríngea por *S. pneumoniae* son de gran utilidad para determinar grupos en riesgo y, al mismo tiempo, permiten conocer la distribución de los serotipos circulantes en la población y evaluar el impacto de la utilización de vacunas antineumocócicas.

En general, los estudios de portadores han revelado que la tasa de colonización disminuye con el incremento de la edad; las tasas más elevadas se presentan en los menores de 2 años y las más bajas en los adultos. Un estudio llevado a cabo en Inglaterra entre niños preescolares y sus familias mostró una prevalencia promedio de portadores de 52% en los niños de 0-2 años, 45% en el grupo etario de 3-4 años, 21% en el de 5-17 años y 8% para el grupo de 18 años o más (6). Otro estudio que evaluó 332 niños sanos de 6 años que asistían a 9 escuelas primarias del norte de España reveló un 36% de colonización nasofaríngea (7).

Al papel de la madre en la trasmisión de *S. pneumoniae* a sus niños (y viceversa) se le ha dado relativamente poca atención en los estudios realizados hasta la fecha; sin embargo, la estrecha relación entre ellos justifica un examen más exhaustivo al respecto.

Una investigación efectuada en Costa Rica reveló un 38,5% de niños portadores y 9,8% de colonización en parejas de madre-hijo (14). Los serotipos de estas cepas no estaban disponibles, por lo que no se pudo verificar si existía concordancia entre los serotipos presentes en las madres y en sus hijos. No obstante, en un estudio realizado en Bangladesh, la serotipificación de los aislamientos de un 7,3% de las madres y 8,2% de otros adultos de la familia colonizados con *S. pneumoniae* mostró una distribución diferente de serogrupos y serotipos entre los niños y los adultos portadores en sus familias (3).

Varios grupos étnicos tienen un elevado riesgo de colonizarse y desarrollar enfermedad invasora por *S. pneumoniae*. Se ha comunicado una alta frecuencia de colonización entre los aborígenes australianos, que alcanzó el 89% en los niños, el 39% en los adolescentes y el 34% en los adultos (4). Este grupo étnico es el que presenta la incidencia más alta informada en el mundo de enfermedad invasora por *S. pneumoniae*, que supera en 59 a 80 veces a las tasas halladas en los niños de los Estados Unidos y de Suecia (13).

En los Estados Unidos, los nativos navajos, apaches y esquimales son considerados grupos de riesgo de estado de portador nasofaríngeo de *S. pneumoniae*. Se han comunicado tasas de colonización del 63% y 15% en los niños y los adultos apaches, respectivamente (8, 15).

Existe muy poca información disponible acerca del estado de portador nasofaríngeo de *S. pneumoniae* entre los nativos de Suramérica. Hay solamente un estudio efectuado en Venezuela, en la población indígena warao, que informa una frecuencia promedio de portadores de 49%, con un rango de variación del 13% al 76% según la comunidad y el grupo etario evaluados. La alta tasa de

colonización hallada coloca a los niños warao en una situación de elevado riesgo de desarrollar enfermedad neumocócica invasora. Dada la considerable morbimortalidad asociada a las infecciones respiratorias agudas, las poblaciones de esa parte de Venezuela se beneficiarían de un programa de vacunación antineumocócica (11).

Para tratar de lograr una mejor comprensión de la enfermedad neumocócica en otras comunidades étnicas de Latinoamérica, el presente trabajo se centró en los grupos de madres e hijos de las comunidades panare, también nativas de Venezuela. Los panare son un grupo étnico de tan solo 4 000 individuos distribuidos en alrededor de 40 comunidades, con muy poco contacto con otros grupos étnicos de la zona y que se mantienen, fundamentalmente, de la agricultura y de la caza.

El estudio epidemiológico de campo aquí presentado, de corte transversal, se efectuó en mayo de 2008 y tuvo por finalidad determinar el estado de portador de *S. pneumoniae* en la población panare de Venezuela, la distribución de serotipos y sus perfiles de sensibilidad a distintos antimicrobianos. La población panare se distribuye en el estado de Bolívar, en la región suroccidental de la República Bolivariana de Venezuela. Se seleccionaron para el estudio 8 comunidades geográficamente aisladas y se evaluaron 25 familias por comunidad. De cada comunidad se registró el número de familias y se tomó en cuenta la edad y el sexo de cada uno de los miembros del grupo familiar. Las comunidades incluidas en este estudio ocupaban las siguientes zonas: Vista del Sol (sector 1 y 2), Las Corobas, La Bomba, La Pista, La Planta, Río Colorado y La Tortuga.

Dado que los resultados de este estudio serían especialmente útiles para evaluar la probable eficacia del uso de vacunas conjugadas en esta población, antes de iniciar el estudio y con la ayuda de un traductor se les informó acerca de esta intención a los representantes de las comunidades que serían evaluadas. Los niños eran incluidos en el estudio sólo tras el consentimiento de los padres. El Comité de Ética del Instituto de Biomedicina, el Servicio de Salud Regional y el Comité de Salud Indígena aprobaron este protocolo de estudio.

Se tomó un total de 148 muestras de hisopado nasofaríngeo, 64 (43,2%) correspondientes a las madres de cada uno de los grupos familiares seleccionados al azar y 84 (56,8%) de sus respectivos hijos menores de 5 años. Las muestras fueron tomadas por el personal médico empleando un hisopo flexible (Copan Italia) y 72 horas después fueron transportadas en el medio STGG (*skim-milk-tryptone-glucose-glycerol*) (9) a 4 °C al Instituto de Biomedicina de Caracas para su procesamiento.

Las muestras se sembraron en agar infusión cerebro corazón (BHI, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) suplementado con 5% de sangre de carnero, con 5 µg/ml de gentamicina o sin ésta, y se incubaron en microaerofilia durante 24 h a 35 °C. La presencia de colonias alfa-

hemolíticas con micromorfología de cocos gram positivos y reacción de catalasa negativa se consideró sospechosa de neumococos. Estas colonias se seleccionaron (crecimiento a partir del segundo cuadrante) y se subcultivaron con el fin de continuar con su identificación preliminar, la cual se fundamentó en la sensibilidad a la optoquina (BBL-BD, Sparks, MA, EE.UU.). La biotipificación definitiva se realizó mediante la prueba de solubilidad en bilis, según los criterios de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 1998).

La tipificación capsular de las cepas de *S. pneumoniae* se realizó a través de la técnica de PCR múltiple para los 23 serotipos/serogrupos presentes en la vacuna polisacárida 23-valente (10, 12) modificada por Sisco (datos no publicados); se utilizaron como controles cepas que habían sido previamente serotipificadas por la reacción de Quellung. El serogrupo 6 fue serotipificado con el método de Quellung para diferenciar entre los serotipos 6A y 6B.

El patrón de sensibilidad de las cepas de *S. pneumoniae* fue evaluado a través del método de difusión con discos; se probaron los siguientes antibióticos (Oxoid): eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), vancomicina (30 µg), tetraciclina (30 µg) y trimetoprima-sulfametoxazol (25 µg). La resistencia a penicilina fue evaluada con el disco de oxacilina (1 µg). Adicionalmente, todas las cepas con sensibilidad disminuida a penicilina fueron evaluadas por el método de microdilución en caldo, acorde con el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) 2008 (2).

Durante el período de estudio, el 11% de las madres y el 69% de los niños evaluados resultaron ser portadores de *S. pneumoniae*. La Figura 1 muestra la distribución de portadores por grupo etario. El porcentaje más alto de portadores fue encontrado en niños de 1 a 2 años (82%). En la Tabla 1 se muestra el número total de portadores presentes en cada comunidad; y se observa en ella el mayor número de niños portadores en La Bomba.

La prevalencia de portadores que se halló en la población infantil panare fue alta y muy superior a las publicadas en estudios realizados en Europa y Estados Unidos, pero similar a las encontradas en otros grupos étnicos. La frecuencia de colonización nasofaríngea en las madres fue relativamente baja y comparable con la informada en poblaciones no indígenas, por lo que podemos inferir que su papel en la transmisión no es muy relevante. Estos resultados son coincidentes con los obtenidos en estudios previos en los que se evaluaron poblaciones indígenas warao en Venezuela (12).

El número total de cepas tipificadas de *S. pneumoniae* fue de 65; el serotipo 6B fue el que se encontró con mayor frecuencia (49%), en tanto que la frecuencia del serotipo 23F fue del 1,53%; lo que implica una cobertura teórica de la vacuna heptavalente (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) de 51%. El serogrupo 6B estaba presente en todas las comunidades. Otros serotipos no incluidos en la vacuna heptavalente y que estaban presentes en la

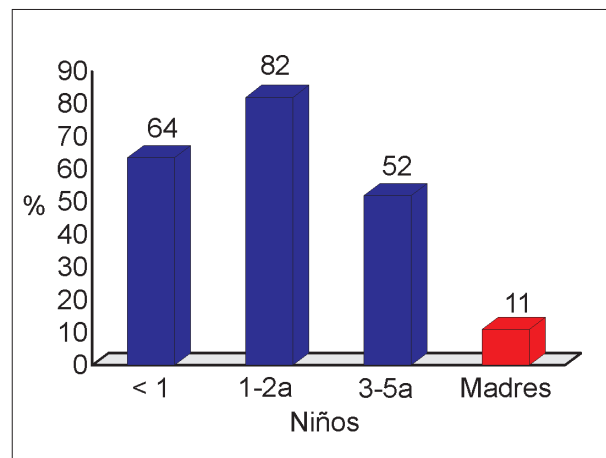


Figura 1. Porcentaje de portadores de *Streptococcus pneumoniae* por grupo etario. Población infantil y madres (>15 años).

Tabla 1. Estado portador de *S. pneumoniae* en la población de madres e hijos panare del estado Bolívar, Venezuela

Comunidad	Madres (n)	Niños (n)	Madres portadoras	Niños portadores
Vista del Sol 1	11	13	0	7
Vista del Sol 2	5	6	1	3
Las Corobas	4	6	1	4
La Bomba	9	16	2	14
La Planta	4	4	0	3
La Pista	11	14	1	10
Río Colorado	9	11	1	7
La Tortuga	11	14	1	10
Total	64	84	7 (11%)	58 (69%)

**Tabla 2.** Serotipos presentes en madres e hijos portadores de *S. pneumoniae* en muestras nasofaríngeas

Madres portadoras	Hijo(s) < 5 años	Hijo(s) portadores	Serotipo madre	Serotipo hijo(s)	Comunidad
A	1	-	6A	-	Vista del Sol
B	2	2	19 A	6A/ NT	Las Corobas
C	1	1	6A	33F	La Bomba
D	2	2	6B	6B	La Bomba
E	1	1	33F	33F	La Pista
F	1	1	6B	6B	Río Colorado
G	2	2	NT	NT	La Tortuga

población de madres e hijos panare fueron los serotipos 19A y 33F, en un 3,1% y 21,5%, respectivamente. El serotipo 33F estaba presente en 6 de las 8 comunidades visitadas.

En la Tabla 2 se muestran los diferentes serotipos presentes en madres e hijos de la población panare y su ubicación por comunidad. Tres madres estaban colonizadas con el mismo serotipo que sus hijos (serotipos 6B en dos casos y 33F en el otro caso).

Es de hacer notar el escaso número de serotipos presentes en esta población. Únicamente dos serotipos (6B y 33F) fueron los que colonizaban al 71% de la población y estaban presentes en la mayoría de las comunidades. Esto se debe, probablemente, al poco contacto de estas poblaciones con otros grupos étnicos, lo que trae como consecuencia una limitada introducción y circulación de nuevos serotipos.

El 49% de las cepas aisladas pertenecieron al serotipo 6B, el segundo serotipo más invasor en Venezuela según los datos informados por SIREVA (después del serotipo 14 y seguido de los serotipos 6B, 1, 5, 3 y 19A). El hallazgo del serotipo 19A es relevante, ya que éste ocupa un lugar destacado como agente causal de neumonías y no se encuentra incluido en las vacunas conjugadas (SIREVA II en Venezuela, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", año 1999 - 2004).

Todos estos resultados indican que la introducción de la vacuna conjugada podría beneficiar a las comunidades panare. Sin embargo, cabe destacar la alta prevalencia del serotipo 33F en dicha población; un serotipo emergente—que ha causado enfermedad invasora en los Estados Unidos luego de la introducción de la vacuna conjugada heptavalente en la población de ese país (5)—y no cubierto por las vacunas conjugadas actualmente disponibles en el mercado. Por lo tanto, la introducción de la vacunación antineumocócica en la población panare debe hacerse en el marco de un programa de vigilancia y seguimiento de la vacunación.

En relación con el patrón de sensibilidad obtenido por el método de difusión con discos, se pudo conocer que

el 41,3% de los aislamientos presentó sensibilidad disminuida a oxacilina (< 19 mm); sin embargo, al evaluar mediante el método de concentración inhibitoria mínima, no se detectó ninguna cepa resistente a penicilina. El 13,7% de las cepas presentó resistencia a macrólidos, el 3,4% a tetraciclina y el 3,4% a trimetoprima-sulfametoxazol. No se encontraron cepas multirresistentes en los aislamientos evaluados.

Es posible que la baja resistencia a las drogas observada en las cepas aisladas de esta población se deba al poco acceso a los antibióticos; el 100% de los aislamientos fue sensible a la penicilina, lo cual implica que, en esta población, los antibióticos  $\beta$ -lactámicos todavía pueden considerarse útiles en el manejo de las infecciones respiratorias bajas.

**Agradecimiento:** los autores reciben un aporte a la investigación efectuada por SHELL de Venezuela (LOCTI).

## BIBLIOGRAFÍA

- Bogaert D, De Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonization: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 2004; 3: 144-54.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 18th Informational Supplement, 2008; M100-S18. Wayne, Pa, USA.
- Granat SM, Mia Z, Ollgren J, Herva E, Das M, Piirainen L, et al. Longitudinal study on pneumococcal carriage during the first year of life in Bangladesh. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 4: 319-24.
- Hansman D, Morris S, Gregory M, McDonald B. Pneumococcal carriage amongst Australian aborigines in Alice Springs, Northern Territory. *J Hyg (London)* 1985; 3: 677-84.
- Hicks LA, Harrison LH, Flannery B, Hadler JL, Schaffner W, Craig AS, et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998-2004. *J Infect Dis* 2007; 9: 1346-54.
- Hussain M, Melegaro A, Pebody RG, George R, Edmunds WJ, Talukdar R, et al. A longitudinal household study of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in a UK setting. *Epid Inf* 2005; 133: 891-8.

7. López B, Cima MD, Vázquez F, Fenoll A, Gutiérrez J, Fidalgo C, *et al.* Epidemiological study of *Streptococcus pneumoniae* carriers in healthy primary-school children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 11: 771-6.
8. Millar EV, O'Brien KL, Watt JP, Bronsdon MA, Dallas J, Whitney CG, *et al.* Effect of community-wide conjugate pneumococcal vaccine use in infancy on nasopharyngeal carriage through 3 years of age: a cross-sectional study in a high-risk population. *Clin Infect Dis* 2006; 1: 8-15.
9. O'Brien KL, Bronsdon MA, Dagan R, Yagupsky P, Janco J, Elliott J, *et al.* Evaluation of a medium (STGG) for transport and optimal recovery of *Streptococcus pneumoniae* from nasopharyngeal secretions collected during field studies. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1021-4.
10. Pai R, Gertz RE, Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol* 2006; 1: 124-31.
11. Rivera-Olivero IA, Bogaert D, Bello T, del Nogal B, Sluijter M, Hermans PW, *et al.* Pneumococcal carriage among indigenous Warao children in Venezuela: serotypes, susceptibility patterns, and molecular epidemiology. *Clin Infect Dis* 2007; 11: 1427-34.
12. Rivera-Olivero I, del Nogal B, Sisco M, Debby Bogaert D, Hermans PW, de Waard JH. Pneumococcal carriage in the Warao Amerindian from Venezuela: the relevance of mother-to-child transmission 6th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD6). Poster Presentation. June 8-12, 2008. Reykjavik, Iceland.
13. Torzillo PJ, Hanna JN, Morey F, Gratten M, Dixon J, Erlich J. Invasive pneumococcal disease in central Australia. *Med J Aust* 1995; 162: 182-6.
14. Vives M, Garcia ME, Saenz P, Mora MA, Mata L, Sabharwal H, *et al.* Nasopharyngeal colonization in Costa Rican children during the first year of life. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 9: 852-8.
15. Watt JP, O'Brien KL, Katz S, Bronsdon MA, Elliott J, Dallas J, *et al.* Nasopharyngeal versus oropharyngeal sampling for detection of pneumococcal carriage in adults. *J Clin Microbiol* 2004; 11: 4974-6.