

Resistencia a los antimicrobianos de bacterias potencialmente patógenas aisladas de niños preescolares asintomáticos

Antimicrobial Resistance of Potentially Pathogenic Bacteria Isolated from Asymptomatic Preschool Children

Perozo-Mena, A.¹; Castellano-González, M.²; Ginestre-Pérez, M.² y Ávila-Roo, Y.²

¹Cátedra de Práctica Profesional de Bacteriología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Centro de Referencia Bacteriológica. SAHUM.

²Cátedra de Microbiología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

Resumen

El estudio de la susceptibilidad a los antimicrobianos de las bacterias potencialmente patógenas aisladas del tracto respiratorio superior de portadores asintomáticos, permite establecer medidas de control epidemiológico, tendentes a prevenir la propagación de cepas resistentes entre la población susceptible. Se determinó la susceptibilidad por el método de Bauer y Kirby, siguiendo los lineamientos del NCCLS, a 224 cepas bacterianas (100 *S. aureus*; 52 *H. influenzae*; 45 *Streptococcus* -hemolíticos; 24 *S. pneumoniae* y 3 *N. meningitidis*), aisladas a partir de exudados nasales y faríngeos obtenidos de 200 niños preescolares asintomáticos. Las cepas de *S. aureus* mostraron altos niveles de resistencia a PG (97,97%) y eritromicina (26,19%), la resistencia a oxacilina fue del 3,03% y no se detectó resistencia a vancomicina. *H. influenzae*, mostró los siguientes porcentajes de resistencia: TE 40%, ATM 25%, CEC 21,15%, SXT 17,31%, C 11,54%, CIP 3,85%, AM 1,92% y RA 1,92%. Todas las cepas fueron susceptibles a AMC, AZT, IPM y SAM. El 20,8% de las cepas de *S. pneumoniae* mostró resistencia a PG utilizando el disco de OX de 1µg, de éstas el 50% fue intermedio y el 50% sensible al determinar la CIM. El 71% de las cepas de *Streptococcus* del grupo B fueron intermedias a PG por el método de difusión en agar, pero todas resultaron susceptibles a PG al aplicar el método de E-test. Los agentes antimicrobianos como TE, AZT, CEC, AM, SXT, C y RA, empleados rutinariamente para el tratamiento de infecciones causadas por *H. influenzae* mues-

tran niveles significativos de resistencia. La totalidad de cepas de *N. meningitidis* estudiadas resultaron sensibles a PG. Es necesario determinar la CIM a PG a todos los aislados de *S. pneumoniae*, ya que algunas cepas resistentes a PG al utilizar el método del disco de OX de 1 µg, son en realidad susceptibles al determinarles la CIM a PG.

Palabras clave: Nasofaríngeos, portadores, resistencia, bacterias.

Abstract

Antimicrobial susceptibility studies of potentially pathogenic bacteria found in the upper respiratory tract of asymptomatic carriers allows us to establish epidemiological control to prevent the spread of resistant strains within the susceptible population. Susceptibility of 224 bacterial strains (100 *S. aureus*, 52 *H. influenzae*, 45 hemolytic streptococci, 24 pneumococci and 3 *N. meningitidis*) isolated from nasal and pharyngeal swabs and obtained from 200 asymptomatic preschool children, were found using the Bauer & Kirby method, following NCCLS guidelines. *S. aureus* strains showed high resistance levels to PG (97,97%) and erythromycin (26,19%), resistance to oxacillin was 3,03%, vancomycin resistance strains were not detected. *H. influenzae* exhibited the following resistance percentages: TE 40%, ATM 25%, CEC 21,15%, SXT 17,31%, C 11,54%, CIP 3,85%, AM 1,92% y RA 1,92%. All the strains were susceptible to AMC, IMP, SAM and AZT. 20,8% of isolated *S. pneumoniae* strains presented resistance to PG using OX disk (1µg) and 50% of them were sensitive to and 50% intermediately susceptible when MIC was determined. 71% of group B streptococci were intermediately susceptible to PG in the agar diffusion method, but all strains were susceptible to PG when the E-test method was applied. Anti-microbial agents such as: TE, AZT, CEC, AM, SXT, C and RA, routinely employed to treat *H. influenzae* infections showed significant levels of resistance. All *N. meningitidis* strains isolated, were sensitive to PG. It is necessary to determine PG-MIC of all *S. pneumoniae*, since some strains with resistance to PG using OX disk are sensitive to determination of MIC by PG.

Key words: Nasopharyngeal, carriers, resistance, bacteria.

Introducción

A nivel mundial, conjuntamente con las infecciones diarreicas y la desnutrición, las infecciones agudas del tracto respiratorio inferior constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad entre los niños menores de seis años de edad (45), particularmente en los países en desarrollo (6). Cada año mueren más de 14 millones de niños en todo el mundo y cerca del 3% de estas muertes se deben a infecciones agudas del tracto respiratorio (2). Estas infecciones tienen una etiología muy variada, siendo los agentes bacterianos y vi-

rales, los patógenos más frecuentemente involucrados.

Las bacterias aisladas más comúnmente son: *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y en menor proporción *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*) y *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) (6); mientras que entre los virus destacan: virus respiratorio sincicial (15-20%), parainfluenzae (7-10%), influenzae (tipos A y B) y adenovirus (15-20%) (25).

La mayor parte de las infecciones virales son moderadas y autolimitadas, involucran-

do sólo el tracto respiratorio superior; en contraste, las bacterias pueden causar infecciones tanto a nivel del tracto respiratorio superior como del inferior y aunque ocurren menos frecuentemente que las virales, el riesgo de muerte es mayor con las infecciones bacterianas (aproximadamente, 50 veces superior que las infecciones virales) (26). Con frecuencia ocurren infecciones mixtas (2, 38); aunque no se ha demostrado, es probable que la infección viral predisponga a una subsiguiente infección bacteriana. Esta relación requiere mayores investigaciones especialmente en los ambientes tropicales (2).

Haemophilus influenzae conjuntamente con *S. pneumoniae* son considerados como los principales agentes etiológicos de infecciones agudas del tracto respiratorio inferior, frecuentemente severas, y a menudo fatales, en los niños de países en vías de desarrollo (38). *Streptococcus pneumoniae* es la causa más frecuente de neumonía, otitis media y bacteriemia; así como la tercera causa de meningitis en infantes menores de 2 años de edad, quienes poseen el mayor riesgo de infección neumocócica (26). Estudios recientes indican que un alto porcentaje de cultivos faríngeos y nasofaríngeos son positivos para este microorganismo, de los cuales, es significativo el número de cepas con susceptibilidad reducida a penicilina, correspondientes a los serotipos más comúnmente aislados (31, 46, 49). *Haemophilus influenzae*, particularmente las cepas no capsuladas, son microorganismos ubicuos que colonizan el tracto respiratorio superior de la mayoría de los humanos sin causar enfermedad (38, 49). Investigaciones en niños sanos de países desarrollados muestran que a los 5 años de edad, virtualmente todos los niños han sido colonizados con una o más cepas de *H. influenzae* (25, 26).

Staphylococcus aureus, es un componente normal de la microflora humana autó-

tona y es transportado en forma asintomática en ciertas áreas del cuerpo, siendo las fosas nasales anteriores, el principal reservorio de infección y fuente de enfermedad (39), la tasa de portadores oscila entre 30 y 60% (1, 4, 5). *Neisseria meningitidis*, cuyo hábitat natural es la orofaringe y nasofaringe del humano, es causa de meningitis endémica y epidémica, la tasa de portadores oscila entre 5 y 30%, incrementándose en los meses de invierno, en especial, entre las personas que conviven en ambientes cerrados (46).

La existencia de tasas de portadores inusualmente elevadas se ha asociado con mayor riesgo de desarrollar infección respiratoria o sistémica; ya que los portadores asintomáticos de microorganismos potencialmente patógenos, actúan como fuente primaria de infección para otros individuos susceptibles; así también, como fuente de infección diseminada por contigüidad anatómica y como sitio de penetración de la mucosa para producir finalmente infección sistémica (35).

Se ha determinado que la edad, el sexo y la convivencia prolongada en espacios cerrados, constituyen factores epidemiológicos importantes en la diseminación de enfermedades respiratorias (22).

Es importante el estudio de la susceptibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos presentes en los portadores asintomáticos, ya que permite establecer medidas de control tendientes a prevenir la diseminación de cepas con alta resistencia a uno o múltiples antibióticos. Considerando que la condición de portador sano es un factor de riesgo que favorece la aparición de cepas resistentes a los antibióticos, este trabajo tiene como objetivo: evaluar los patrones de susceptibilidad y resistencia a los agentes antimicrobianos de bacterias potencialmente patógenas aisladas de portadores asintomáticos.

Materiales y Métodos

La población estudiada estuvo conformada por niños menores de 6 años, aparentemente sanos, provenientes de 4 instituciones preescolares ubicadas en la parroquia Caracciolo Parra Pérez del Municipio Mara-caibo, durante el año escolar 2000-2001.

Recolección de las muestras

Se estudió un total de 200 niños, a cada uno se le tomó un hisopado faríngeo y uno nasal, los cuales se colocaron en un medio de transporte con la finalidad de asegurar la viabilidad y el aislamiento de los microorganismos en estudio. Los especímenes recolectados se enviaron lo más pronto posible al laboratorio para su procesamiento bacteriológico.

Procesamiento de las muestras

Las muestras se inocularon en medios de cultivo enriquecidos: gelosa-chocolate (GC), y agar sangre de carnero (SC); y selectivos: agar sangre de carnero con kanamicina (SCK) y vancomicina, colimicina, nistatina (VCN). Las placas de GC y VCN se incubaron en condiciones de microaerofilia, el medio de SC en aerobiosis y SCK en anaerobiosis. Todos los medios de cultivo se colocaron a una temperatura de 35°C por 18 a 48 horas. Transcurrido el período de incubación se observó la morfología colonial y se procedió a la realización de un frotis coloreado por la técnica de Gram. De acuerdo con las características macroscópicas y microscópicas, se realizó la identificación bioquímica de los diferentes microorganismos.

Pruebas de susceptibilidad

Una vez identificado el microorganismo, se procedió a determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos siguiendo los li-

neamientos del NCCLS (42); para *S aureus* los antimicrobianos probados fueron: penicilina (PG), oxacilina (OX), vancomicina (VA), azitromicina (AZT), clindamicina (CC), trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), imipenem (IPM), gentamicina (GM), ampicilina-sulbactam (SAM), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) y cefalotina (CF) (21,39,47,51). En el caso de *H. influenzae*, se probaron los siguientes antimicrobianos: ampicilina (AM), SAM, AMC, cefaclor (CEC), ciprofloxacina (CIP), cloranfenicol (C), SXT, rifampicina (RA), tetraciclina (TE), AZT, imipenem (IPM) y aztreonam (ATM) (43).

A los aislamientos identificados como *S. pneumoniae* se les determinó la susceptibilidad a PG en agar Müller Hinton (MH) enriquecido con 5% de sangre de carnero (MHS), para lo cual se utilizó un disco de OX de 1 µg. A las cepas resistentes se les determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a PG, CRO y cefotaxima (CTX), mediante el método de E-test, utilizando los criterios de interpretación del NCCLS (42).

A las cepas de *Streptococcus* beta-hemolíticos aisladas se les determinó la susceptibilidad a PG en agar MHS. A las cepas que resultaron intermedias se les determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a PG, mediante el método de E-test. A los aislados identificados como *N. meningitidis*, se les realizó la prueba de susceptibilidad a PG utilizando el método de E-test, en MHS como lo recomienda el NCCLS (44).

Resultados

La Figura 1 muestra la distribución de la resistencia para cada antimicrobiano de las 52 cepas de *H. influenzae* aisladas a partir de pre-escolares asintomáticos. El porcentaje de resistencia más elevado se observa para TE (40,00%), seguido de ATM (25,00%), CEC

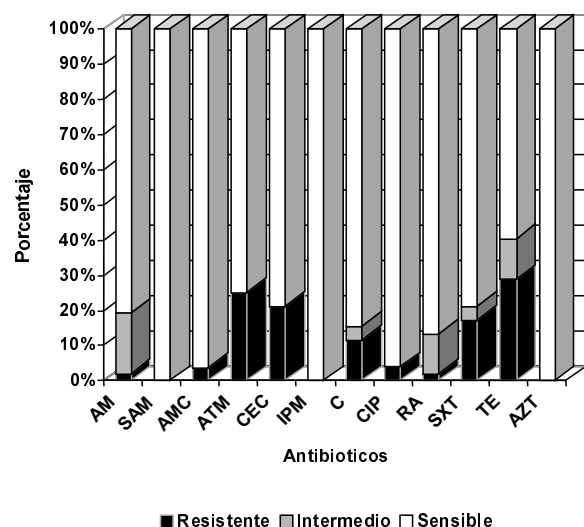


Figura 1. Cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de portadores asintomáticos menores de seis años distribución de la resistencia.

(21,15%), SXT (17,31%) y C (11,54%); mientras que para el resto de los Antimicrobianos, la resistencia se ubicó entre 1,92 y 3,85%, a excepción de IPM, SAM, AMC y AZT, para los cuales no se observó resistencia.

Las Figuras 2 y 3 muestran la distribución de la resistencia de las cepas de *H. influenzae* aisladas de muestras de exudado nasal y faríngeo, respectivamente. En los exudados nasales, el 41,18% de las cepas fueron resistentes a TE, seguidos de ATM (34,78%), CEC (30,44%), C (17,39%), SXT (17,39%) y RA (4,35%). Por otra parte, en las muestras de exudado faríngeo, el 33,33% fue resistente a TE, seguido por SXT y ATM con un 17,24% cada uno, CEC 13,79%, C 6,89% y 3,45% para CIP y AM, respectivamente; no se observó ninguna cepa resistente a IPM, SAM, AMC y AZT.

La Tabla 1 muestra la distribución de los diferentes patrones de resistencia encontrados en las cepas de *H. influenzae*, se puede observar que el 15,36% de las cepas fue resis-

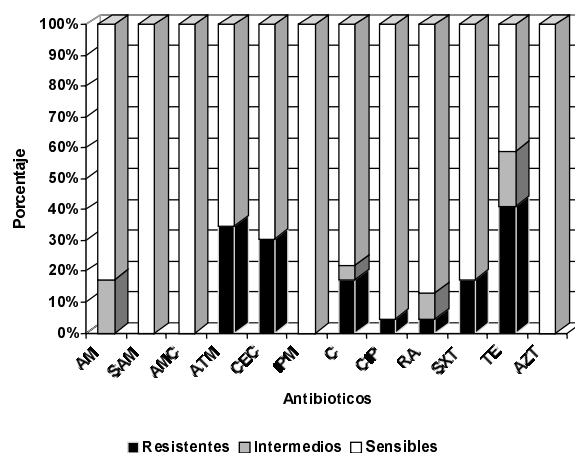


Figura 2. Distribución de la resistencia en cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas a partir de muestras de exudado nasal.

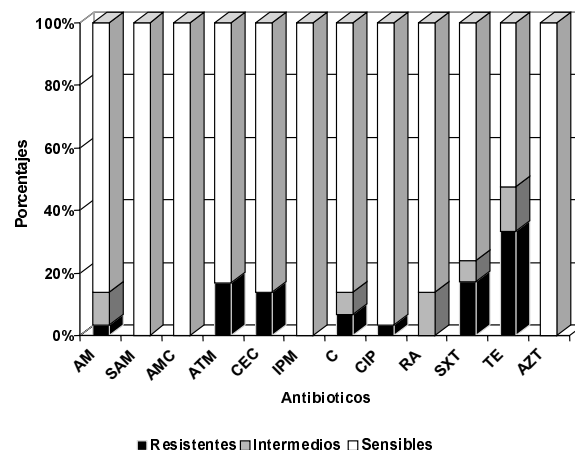


Figura 3. Distribución de la resistencia en cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas a partir de muestras de exudado faríngeo.

tente a un solo agente antimicrobiano, el 15,36% a dos antimicrobianos y el 19,21% a tres o más agentes antimicrobianos a la vez; mientras que el 50,07% de las cepas fue sensible a todos los antimicrobianos probados.

La Figura 4 muestra la distribución de la resistencia de las 100 cepas de *S. aureus* aisladas a partir de portadores asintomáticos;

Tabla 1. Patrones de resistencia en cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas a partir de niños menores de seis años.

Antibióticos	Resistentes	
	Nº	%
ATM	2	3,84
AM	1	1,92
C	1	1,92
TE	1	1,92
RA	1	1,92
SXT	2	3,84
SXT,TE	3	5,77
ATM,TE	1	1,92
CIP,SXT	1	1,92
ATM,CEC	1	1,92
ATM,TE	1	1,92
ATM,AM	1	1,92
C,CEC,TE	1	1,92
SXT,CEC,TE	1	1,92
ATM,CEC,TE	1	1,92
ATM,SXT,CEC	1	1,92
ATM,CEC,AMC,TE	1	1,92
ATM,CEC,C,TE	3	5,77
ATM,CIP,CEC,TE	1	1,92
ATM,SXT,C,CEC,TE	1	1,92

del total de cepas aisladas, sólo una se aisló a partir de exudado faríngeo en cultivo puro, el resto se aisló de exudados nasales; la cepa aislada de exudado faríngeo fue sensible a todos los antimicrobianos probados. En las 99 cepas aisladas de exudados nasales se observaron altos niveles de resistencia a PG (97,97%), seguido de eritromicina (26,19%), mientras que para C, CF, CIP, OX, RA y TE la resistencia se ubicó entre 1 y 5%, no se detectó resistencia para GM, IPM, SAM y VA.

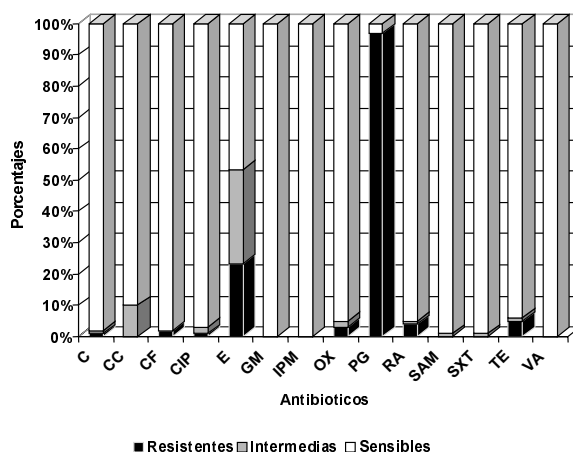


Figura 4. Distribución de la resistencia en cepas de *S. aureus* aisladas de niños menores de seis años.

La Tabla 2 muestra la distribución de los patrones de resistencia de las cepas de *S. aureus* aisladas a partir de muestras de exudado nasal. El 77,78% de las cepas fue resistente a un solo antibiótico (PG); el 15,15% a dos antibióticos a la vez, y el 5,05% a tres o más antibióticos.

Se aisló un total de 45 cepas de *Streptococcus* beta-hemolíticos, 43 de exudado faríngeo y sólo 2 de exudado nasal. La Figura 5 muestra la distribución de los diferentes serogrupos de *Streptococcus* beta-hemolíticos aislados. Todas las cepas de *Streptococcus* beta-hemolíticos de los grupos A, C, G y la cepa no agrupable, aisladas de exudado faríngeo, fueron sensibles a PG. Las cepas del grupo B presentaron un 26,3% de sensibilidad a este beta-lactámico, mientras que el 73,7% resultó intermedio. A estas cepas con susceptibilidad reducida a la penicilina se les determinó la CIM a PG, resultando todas susceptibles. Las cepas de *Streptococcus* beta hemolíticos grupo B aisladas de exudado nasal fueron sensibles a PG (datos no mostrados).

Tabla 2. Distribución de la Resistencia en cepas de *S. aureus* aisladas a partir de exudado nasal de niños menores de seis años.

Antibióticos	Resistentes	
	Nº	%
PG	79	77,78
PG, E	10	10,10
PG, RA	1	1,01
PG, TE	4	4,04
PG, RA, E	1	1,01
PG, RA, OX	1	1,01
PG, OX, CF	1	1,01
PG, RA, OX, C	1	1,01
PG, CIP, C, CF	1	1,01

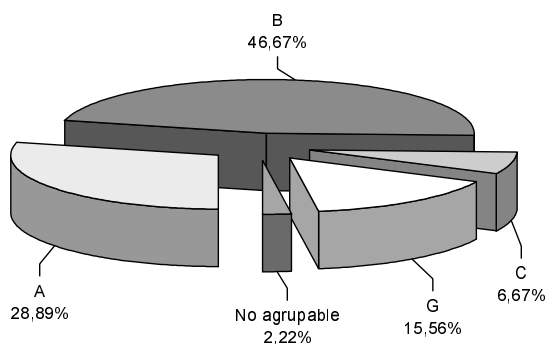


Figura 5. Distribución de los serogrupos de *Streptococcus* beta hemolíticos en muestras de exudado nasal y faríngeo.

Se aisló un total de 24 cepas de *S. pneumoniae*, (20 a partir de exudado nasal y 4 de exudado faríngeo). De estas, 19 (79,20%) resultaron sensibles a PG al utilizar la prueba de descarte con el disco de OX de 1 µg, las restantes 5 (20,8%) fueron resistentes con diámetros < 19 mm. Al determinar la CIM a CRO y CTX, el 100% de las cepas resultó sensible; mientras que para PG, 22 cepas (91,7%) fueron susceptibles y 2 (8,3%) intermedias.

Se aislaron 3 cepas de *N. meningitidis*, dos de exudado nasal y una de exudado faríngeo. Al determinarles la susceptibilidad a PG por el método de E-Test, todas resultaron sensibles.

Discusión

Al analizar los niveles de resistencia de las cepas de *H. influenzae* aisladas a partir de portadores nasofaríngeos asintomáticos, llama la atención el alto porcentaje de resistencia a TE (40%), AZT (25%), CEC (21,15%), SXT (17,30%), y C (11,54%), estos porcentajes son elevados tomando en cuenta que las cepas aisladas provienen de niños aparentemente sanos.

A nivel mundial, se han realizado estudios, tendentes a esclarecer los diferentes niveles de resistencia presentes en las cepas de *H. influenzae*; Doern y cols. (14) realizaron un estudio en Estados Unidos en el año 1986 y encontraron que el 2,3%; 0,7%, 0,5% y 0,3% de las cepas de *H. influenzae* aisladas fueron resistentes a TE, SXT, C y RA respectivamente. Otro estudio realizado en Canadá en el año 1990 (52) reporta porcentajes de resistencia bajos, de apenas 1,3% y 0,04% para TE y C respectivamente, y además indica porcentajes mayores de 3,8% para SXT y 1% para RA; Thornsberry y col. (50) muestran un porcentaje de resistencia a TE bajo, de apenas 0,8%, en el mismo estudio, el porcentaje de resistencia a SXT fue de 10,2%.

Por otra parte, un estudio realizado por Machka y col. en Europa (36), muestra tasas de resistencia superiores a las reportadas en Estados Unidos y Canadá, pero inferiores a las encontradas en nuestro estudio, el 5% de las cepas fueron resistentes a C y el 8% a TE. Otro estudio realizado en Europa (29) entre 1988 y 1989 también refiere tasas de resistencia significativamente altas en compara-

ción a las obtenidas en los estudios norteamericanos; sin embargo, un estudio realizado en el Reino Unido (47), indica porcentajes bajos de resistencia a C y TE ($\leq 3\%$), con un porcentaje elevado de resistencia a SXT (4,6%). Estudios realizados en Asia (41) reportan tasas de resistencia a C del 8,3% en Tailandia, 28% en Taiwán y 12% en Hong Kong.

Para los antibióticos beta-lactámicos, se observó una resistencia de 25% para ATM, 21,15% para CEC y 1,92% para AM; un estudio norteamericano (27) reporta tasas de resistencia muy bajas ($<0,2\%$) para AMC y cefalosporinas de espectro ampliado. Estudios asiáticos (33) muestran porcentajes de resistencia a AM de 7,2% para Pakistán, 3,6% para Tailandia, 2,4% para Filipinas y 1,3% para Papúa Nueva Guinea.

El estudio realizado por Thornsberry y cols. (50) muestra porcentajes de resistencia de 0,3% y 0,1% para AZT y AMC, respectivamente; mientras que, CEC y CIP no mostraron resistencia; en nuestro estudio, el porcentaje de resistencia a CIP se ubicó en 3,85%, mientras que, para IPM, AMC, SAM y AZT, el 100% de las cepas se mostró sensible.

En nuestro estudio se obtuvo un elevado porcentaje de resistencia a CEC, este contrasta con los obtenidos por diferentes investigadores a nivel mundial, pero concuerda con las estadísticas publicada por el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, donde se reporta un 33,33% de resistencia a CEC en las cepas de *H. influenzae* aisladas de población pediátrica en el período Julio-Diciembre de 2000 (8).

En general, investigaciones realizadas en diferentes regiones del mundo muestran porcentajes de resistencia menores a los encontrados en nuestro estudio; cabe destacar que en estos estudios se analizaron cepas de

H. influenzae en su mayoría del tipo "b", mientras que en este trabajo las cepas fueron no tipables en su totalidad. Diferentes investigaciones (14, 23, 27, 28, 47) han demostrado que la resistencia a TE, C y SXT es más alta entre las cepas no tipo "b" que entre las del tipo "b", esto podría explicar la disparidad de nuestros resultados con respecto a los reportes de otros investigadores.

Al analizar por separado los porcentajes de resistencia en exudado nasal y faríngeo se observa que las cepas de *H. influenzae* aisladas de muestras de exudado nasal, no presentan resistencia a SAM, AMC, IPM y AZT; el porcentaje de resistencia para ATM, C y CIP fue mayor en estas, que en las aisladas de exudado faríngeo; observándose además cepas con susceptibilidad intermedia a TE (17,64%), AM (17,39%), RA (6,89%) y C (4,35%). Por el contrario, en las muestras de exudado faríngeo, AM presentó niveles de resistencia mayor (3,45%) que los encontrados en las cepas aisladas de exudado nasal (0%), pero estas presentan un considerable porcentaje de cepas con susceptibilidad intermedia a estos antimicrobianos, 17,64%, 13,79%, 10,34% y 6,89% para TE, RA, AM, SXT y C respectivamente, lo que indica que el ambiente de la faringe posee cepas más resistentes o con mayor probabilidad de convertirse en resistentes que el nasal. Debido a esta alta variabilidad en los patrones de resistencia es necesario realizar estudios que permitan esclarecer las condiciones y los patrones de resistencia en estos dos ambientes; Jorgensen (28) propone conducir estudios en diferentes áreas geográficas con la finalidad de: a) monitorear cualquier incremento en la resistencia a los antibióticos tradicionales utilizados en el tratamiento de las infecciones por *H. influenzae* como AM, C y TE; y b) determinar si hay aparición de resistencia a los agentes antimicrobianos más nuevos que actualmente

aparentan ser uniformemente activos contra *H. influenzae*, tales como cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas.

Streptococcus pneumoniae encuentra su ecosistema en la nasofaringe, fijándose preferiblemente a las células faríngeas humanas; no se ha establecido claramente el presunto papel protector desempeñado por factores presentes en las secreciones nasales del hospedador, tales como la IgA secretoria, que podrían interferir sobre la fijación a las células nasales (32); afirmaciones que no concuerdan con los resultados de esta investigación, ya que se obtuvo mayor porcentaje de aislamientos en las muestras de exudado nasal (10%) que en los faríngeos (2%).

Desde que se inició el uso de los antibióticos para el control de las enfermedades infecciosas, las bacterias comenzaron a desarrollar mecanismos de resistencia. En los últimos 30 años, la resistencia a los antimicrobianos se ha incrementado, convirtiéndose en un problema de salud pública; algunas de las bacterias tradicionalmente sensibles a los esquemas terapéuticos convencionales se han tornado resistentes, entre ellas: *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* y *S. pneumoniae*; por lo que se realiza un gran número de investigaciones a nivel mundial para conocer la susceptibilidad de *S. pneumoniae* a los diferentes agentes antimicrobianos, especialmente a la PG, droga de elección utilizada durante muchos años.

De las 24 cepas de *S. pneumoniae* aisladas, 5 (20,8%) presentaron resistencia a PG (halo de inhibición ≤ 19 mm); investigaciones realizadas en nuestro país, muestran que para el año 1985 hubo un 12% de resistencia (19); otro estudio realizado en 1992 muestra un aumento de aproximadamente 50% en el porcentaje de resistencia, 21,90% (20); esta cifra es semejante a la obtenida en nuestro estudio.

Boken y cols. (7) reportan un 53% de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a PG. Por otra parte en Colombia, Castañeda y cols. (10) encontraron que de 409 cepas de *S. pneumoniae*, 15,6% poseía susceptibilidad reducida a PG, el 11,5% mostró un nivel de resistencia intermedio y 4,1% altos niveles de resistencia. Duchin y cols (15), reportan una prevalencia de 53% de cepas de *S. pneumoniae* no susceptibles a PG en niños de un área rural de la comunidad de Kentucky, de estas cepas, 33% presentó una resistencia alta a PG; por otra parte, Chen-Chia y cols. (11), presentan una tasa elevada (71%) de portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* con susceptibilidad reducida a PG.

El método del disco de oxacilina de 1 μ g es muy útil para el despistaje de cepas de *S. pneumoniae* resistentes o con susceptibilidad reducida a PG; el establecimiento por parte del NCCLS del valor de 19 mm (44) para la determinación de la resistencia a PG, permite la selección inicial de las cepas resistentes, las cuales se consideraban sensibles con la normativa anterior (42). De las cinco cepas originalmente resistentes a PG empleando el método del disco de OX de 1 μ g, sólo 2 fueron intermedias a PG al determinar la CIM por el método de E-Test, las otras 3 resultaron sensibles; es importante destacar que un estudio realizado por Dowson y cols. (16) reporta que cepas de *S. pneumoniae* sensibles a PG pueden mostrar susceptibilidad reducida a OX, resultando en la identificación errónea de estas cepas como resistentes a PG al utilizar el método del disco de OX de 1 μ g.

Es importante realizar la determinación de la CIM a PG, para de esta manera, determinar si las cepas con un halo de inhibición menor o igual a 19 mm poseen susceptibilidad disminuida a PG o son verdaderamente resistentes; además, permite diferenciar cepas resistentes a OX pero sensibles a PG.

Algunas de las cepas de *S. pneumoniae* aisladas en nuestro medio presentan una susceptibilidad disminuida a la PG con una CIM entre 0,12 y 1,00 µg/ml, estos resultados difieren a los reportados en investigaciones realizadas en Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda y España, donde se reportan altas tasas de resistencia a penicilina y la mayoría de las cepas poseen una CIM \geq 2,00 µg/ml (30).

El monitoreo de los portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* es importante; debido a su elevada prevalencia y a que una gran parte de estas cepas presentan resistencia a PG; ya que el estado de portador se ha correlacionado con la emergencia de enfermedad clínica (21-23, 41), las características de los aislados presentes en portadores podrían servir como indicador de la prevalencia de cepas resistentes en la comunidad (12, 17, 40, 53).

Desde la década de los cincuenta se ha observado un incremento de la resistencia en cepas de *S. aureus* (34); esta disminución de la sensibilidad ha sido asociada frecuentemente a falla terapéutica (37,13) y a brotes epidémicos producidos por cepas resistentes. En nuestro estudio, se observaron niveles de resistencia a PG del 97,97%; Amir en Kenya (1), refiere un 34% de portadores, de los cuales el 91% presenta una elevada resistencia a PG.

Por otra parte, Apicella (3) refiere que sólo un limitado porcentaje de cepas hospitalarias y no más de 20-30% de las cepas de la comunidad no producen beta lactamasas y son por lo tanto sensibles a PG. Estas cepas, usualmente, son sensibles también a compuestos beta-lactamasa estables; sin embargo, su CIM a estas drogas es usualmente elevada.

Nuestro estudio muestra bajos niveles de resistencia para OX (3,03%), en contraste, un estudio realizado por Serrano y col. (48)

encontró niveles de resistencia a RA 39,0%; E 31,0%; AMC 29,0%; OX de 22,0%; CC 19,0%; SXT 16,0%; GM 10,0% y CIP 8,0%. En cuanto a OX se observó un bajo nivel de resistencia (3,03%) y no de manera individual, sino acompañado de otros antimicrobianos; Texeira y cols. (51) reportan que el 70,0% de los *S. aureus* resistentes a meticilina aislados en su estudio fueron resistentes al menos a nueve agentes antimicrobianos, en nuestro estudio, no se observó este patrón, ya que no se detectaron altos niveles de resistencia. Es importante destacar que PG estuvo presente en todos los patrones encontrados de multi-resistencia a dos o más antibióticos.

Al determinar la susceptibilidad a PG a las cepas de *Streptococcus* beta hemolíticos aisladas, todas las pertenecientes a los grupos A, C y G; así como las cepas no agrupables, fueron uniformemente sensibles a esta droga. Las cepas de *Streptococcus* beta-hemolíticos del grupo B, aisladas a partir de exudado faringeo, mostraron un patrón de resistencia diferente, el 26,3% fue sensible a PG, mientras que el 73,7% resultó intermedia. Al determinar la CIM a PG por el método de E-test a todas las cepas de *Streptococcus* beta hemolíticos del grupo B con susceptibilidad intermedia, todas resultaron sensibles.

Conclusiones

Existe una gran variabilidad en relación a los patrones de resistencia a los antimicrobianos en las cepas de *H. influenzae*, esta variabilidad, al parecer, está influenciada por la ubicación geográfica, por lo que se deben realizar investigaciones que permitan conocer los patrones de resistencia de las cepas de *H. influenzae* de cada región.

Es importante realizar la determinación de la CIM a PG a las cepas de *S. pneumoniae*,

para de esta manera, determinar si las cepas con un halo de inhibición menor o igual a 19 mm poseen susceptibilidad disminuida o son verdaderamente resistentes.

Debido a la elevada prevalencia de portadores nasofaríngeos de cepas de *S. pneumoniae*, es importante el monitoreo de la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, para detectar oportunamente la aparición de resistencia.

Recomendaciones

Realizar investigaciones que permitan conocer, con exactitud, la presencia de patógenos potenciales en portadores asintomáticos en diferentes grupos poblacionales, así como determinar los patrones de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos de estos microorganismos a nivel regional.

En el caso de *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, se deben establecer programas de vigilancia que permitan monitorear el desarrollo de resistencia en portadores asintomáticos.

Bibliografía

- (1) Amir, M.; Paul, J.; Batchelor, B.; Kariuki, S.; Ojoo, J.; Waiyaki, P.; Gilks, C. Nasopharyngeal carriage of *Staphylococcus aureus* and carriage of antibiotic-resistance strains associated with HIV-seropositivity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1995; 14(1):34-40.
- (2) Anderson, V.; Turner, T. Histopathology of Childhood pneumonia in Developing Countries. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13(Sppl 6):S40-S46.
- (3) Apicella, M.; *Neisseria meningitidis*. En: Mandell, G.; Douglas, R.; Bennet, J.: *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. Tomo II. Argentina. 1991. pp 1691-1704.
- (4) Asahi, E.; Okada, K.; Ueda, K. Nasopharyngeal flora and carriage rate of *Haemophilus influenzae* type B of healthy infants. *Kansenshogaku Zasshi.* 1997; 71(3): 236-240.
- (5) Avila, Y.; Castellano, M.; Fuenmayor, A.; Galué, N.; Graterol, K.; Perozo, A.; Sandrea, L.; Valero, K. Portadores Nasales de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* en un Preescolar de Maracaibo. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología, Memorias de las XXV Jornadas Venezolanas de Microbiología "Dr. Gustavo Prieto"*. Puerto La Cruz, del 4 al 7 de Noviembre de 1998.
- (6) Berman, S. Epidemiology of Acute Respiratory Infection in Children of Developing Countries. *Rev. infect. Dis.* 1991; 13(sppl 6):S454-S462.
- (7) Boken, D.; Chartrand, S.; Goering, R.; Kruger, R.; Harrison, C.: Colonization with Penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in a child-care center. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1995; 14(10):879-884.
- (8) Pineda, M.; Bonilla, X.; Vargas, J.; Boletín sobre Etiología y Resistencia Bacteriana. Centro de Referencia Bacteriológica SAHUM. Cuarta Edición. Mayo 2001. Maracaibo. Venezuela.
- (9) Bongen, E.; Fitoussi, F.; Doit, C.; Cohen, R.; Tanna, A.; George, R.; Loukil, C.; Brahimi, N.; Le Thomas, I.; Deforche, D. Resistance to macrolides in *Streptococcus pyogenes* in France in pediatric patients. *Antimicrob. Agents. Chemoter.* 2000; 44:1453-1457.
- (10) Castañeda, E.; Peñuela, I.; Vela, M.; Tomasz, A.: Penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in Colombia: presence of international epidemic clones. Colombian pneumococcal study group. *Microb. Drug. Resist.* 1998; 4(3):233-239.
- (11) Chen-Chia, C.; Yung-Ching, L.; Tsi-Shu, H.: Extremely high prevalence of nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in Kaohsiung, Taiwán. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36(7):1933-1937.
- (12) Chesney, P.: The escalating problem of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 1992; 146:912-916.

- (13) Dagon, R.; Bar-David, Y. Double-blind study comparing erythromycin and mupirocin for treatment of impetigo in children: implications of a high prevalence of erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992; 36:287-290.
- (14) Doern, G.; Jorgense, J.; Thornsberry, C.; Tubert, C.; Redding, T.; Maher, L. National Collaborative Study of the prevalence of *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1988; 32:180-185.
- (15) Duchin, J.; Breiman, R.; Diamond, A.; Lipman, H.; Block, S.; Hedrick, J.; Finger, R.; Elliot, J. High Prevalence of Multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* and Children in a Rural Kentucky Community. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1995; 14(9):745-750.
- (16) Dowson, C.; Jonson, A.; Cercenado, E.; George, R.: Genetic of oxacillin resistance in clinical isolated of *Streptococcus pneumoniae* that are oxacillin resistant and penicillin susceptible. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1994; 38(1): 49-53.
- (17) Fairchok, M.; Ashton, W.; Fischer, G.: Carriage of penicillin resistant pneumococci in a military population in Washington D.C.: Risk factor and correlation with clinical isolated. *Clin. Infect. Dis.* 1996. 22:966-972.
- (18) Forbes, B.; Sahm, D.; Weissfeld, A. Bailey & Scott's. *Diagnostic Microbiology*. Tenth Edition. Mosay, INC. St. Louis, Missouri. USA, 1998.
- (19) Gómez, M.: Susceptibilidad del *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina y a otros agentes antimicrobianos. Trabajo de Ascenso. Cátedra de Microbiología. Escuela de Medicina "Luis Razetti". UCV. 1985.
- (20) Gómez, M.: Resistencia a los antimicrobianos y serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en cinco hospitales de Caracas. *Bol. Soc. Ven. Microbiol.* 1992; 12:5-10.
- (21) Gray, B.; Converse, G.; Dillon, H.: Epidemiologic study of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage and infection during the first 24 months of life. *J. Infect. Dis.* 1980; 42:923-933.
- (22) Homoe, P.; Prag, J.; Farholt, J.: High rate of nasopharyngeal carriage of potential pathogens among children in Greenland: Results of clinical survey of middle ear disease. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 23:1081-1090.
- (23) Howard, A.; Williams, H. The prevalence of antibiotics resistance in *Haemophilus influenzae* in Wales. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 21:251-260.
- (24) Huebner, R; Wasas, A; Nushi, A; Nazhani, L; Kiugman, K. Antimicrobial resistance in isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b in children under 5 years of age in Bostwana. *Int. J. Infect. Dis.* 1998; 3(1):18-25.
- (25) Institute of Medicine. *New Vaccine Development: Establishing Priorities*. Vol 2. Diseases of importance in developing countries. Washington DC. National Academy Press. 1986.
- (26) Johnston, R. Pathogenesis of pneumococcal pneumonia. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13(Sppl 6):S509-S517.
- (27) Jorgensen, J.; Doern, G.; Maher, L.; Howell, A.; Redding, J. Antimicrobial resistance among respiratory isolated of *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Antimicrobial. Agents. Chemother.* 1990; 34:2075-2080.
- (28) Jorgensen, J. Update on mechanisms and prevalence of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin. Infect. Dis.* 1992; 14:1119-1123.
- (29) Kayser, H.; Morenzoni, G.; Santanam, P. The second collaborative study on the frequency of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infects. Dis.* 1990; 9:810-817.
- (30) Klugman, K.: Pneumococcal Resistance to antibiotics. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 3(2):171-196.
- (31) Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P.; Winn, W. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott. Philadelphia. New York, 1997.
- (32) Kuroono, Y.; Shimamura, K.; Shigemi, H.: Inhibition of bacterial adherence by nasopharyngeal secretion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1991; 100:455-458.
- (33) Kumana, C. *Haemophilus influenzae* a worldwide pathogen. Hong-Kong; Science Press. 1987.

- (34) Lacey, R.; Keyworth, N.; Lincoln, C. Staphylococci in the UK a review. *J. Antimicrob. Chemother.* 1984; 14 (Supl D):19-25.
- (35) Leach, A.; Boswell, J.; Asche, V.; Nienhuys, T.; Mathews, J.: Bacterial colonization of nasopharynx predicts very early onset and persistence of otitis media in Australian aboriginal infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1994;13:983-989.
- (36) Machka, K.; Braveny, I.; Dabernat, H.: Distribution and Resistance Patterns of *Haemophilus influenzae*: a European cooperative Study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1988; 7:14-24.
- (37) Misko, M.; Terramicina, J.; Diven, D. The frequency of erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus* in impetiginized dermatoses. *Pediatr. Dermatol.* 1995; 12:12-15.
- (38) Moxon, R.; Wilson, R. The Role of *Haemophilus influenzae* in the Pathogenesis of Pneumonia. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13(Sppl 6):S518-S527.
- (39) Murray, P.; Baron, L.; Tenover, E.; Tenover, R. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. ASM Press. Washington, DC. USA. 1999.
- (40) Mugdasy, M.; Camou, T.; Falardo, C.; Hortal, M.: Colonizing and invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* in Uruguayan children: type distribution and patterns of antibiotic resistance. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1992; 11:648-652.
- (41) Musher, D.; Groove, J.; Reichler, M.; et al.: Emergence of antibody to capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae* during outbreaks of pneumonia: association with nasopharyngeal colonization. *Clin. Infect. Dis.* 1997;24:441-446.
- (42) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standards M2-A2 S2: Performance standards of antimicrobial disk susceptibility testing. Villanova, Pa. 1979.
- (43) NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighth Informational Supplement. NCCLS Document M100-S8. Vol 18, N° 1. USA. January 1998.
- (44) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards of antimicrobial susceptibility testing. Ninth Informational Supplement. Document M100-59; Vol 19(1). 1999.
- (45) Oyeidi, C.; Osinusi, K. Acute Respiratory Tract Infection on Children in Idikan Community. Ibadan. Nigeria: Seventy, Risk factors and Frequency of Occurrence. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12(8):S1042-S1046.
- (46) Perozo, A.; Valero, K.; Fuenmayor, A.; Graterol, K.; Sandrea, L.; Avila, Y.; Castellano, M.; Galué, N. *Streptococcus pneumoniae* en exudados nasales de Preescolares: Susceptibilidad a los antimicrobianos. Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología. Memorias de las XXV Jornadas Venezolanas de Microbiología "Dr. Gustavo Prieto".
- (47) Powell, M.; Koutsia-Carouzou, C.; Voutsinas, D.; Seymour, A.; Williams, J. Resistance of clinical isolated of *Haemophilus influenzae* in United Kingdom. 1986. *BMJ.* 1987; 295:176-179.
- (48) Serrano, N.; Carvajal, Z.; Salaverría, C.; García, E, Urrestarazu, M. Resistencia a los antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* aislados de lesiones de piel. Memorias de las XXVI Jornadas Venezolanas de Microbiología Dr. José Esparza "Infecciones Emergentes".
- (49) Suwanjutha, T.; Chantarojanasir, T. A study of nonbacterial agents of acute lower respiratory tract infections in Thai children. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 12(sppl8): s923-s928.
- (50) Thornsberry, C.; Ogilvie, P.; Holley, H.; Sahm, D. Survey of Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated to 26 antimicrobial agents: a prospective U.S. study. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1999; 43:2612-2623.
- (51) Texeira, L.; Resende, C.; Ormonde, L.; Rosebaum, R.; Figueiredo, A.; Lencastre, H.; Tomasz, A. Geographic Spread of epidemic mutirresistant *Staphylococcus aureus* clone in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:2400-2404.
- (52) Tremblay, L.; L'Ecuyer, J.; Provencher, P.; Bergeron, M. Canadian Study Group. Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to an-

- timicrobial Agents Used in Canada. Can. Med. Assoc. J. 1990; 143:895-901.
- (53) Zenni, N.; Cheatman, S.; Thompson, J.; Reed, G.; Batson, A.; Palmer, P.; Holland, K.; Edward, K. *Streptococcus pneumoniae* colonization in the young child: association with otitis media and resistance to penicillin. J. Pediatr. 1995; 127(4):533-537.