

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN
MICROBIOLOGIA CLÍNICA Y APLICADA**

**PREVALENCIA DE *Streptococcus pneumoniae* EN NIÑOS QUE ACUDEN A
CENTROS INFANTILES Y HOSPITALARIOS DE LA CIUDAD DE QUITO, EN
EL PERIODO JULIO- SEPTIEMBRE DEL 2010.**

EVELYN GABRIELA PAVÓN MERA

DIRECTORA: DRA. JOSEFINA EGAS BENAVIDES

QUITO, 2011

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a las personas más importantes en mi corazón por haberme acompañado a lo largo de mi vida y de mi carrera.

A mi adorado hijo Nicolás, por ser mi motor, quien desde el primer momento que lo tuve en mis brazos iluminó mi vida, y por siempre brindarme una sonrisa que me impulsa a luchar por un futuro próspero para los dos. Te amo mi angelito, cada minuto junto a ti es una bendición.

A mi madre Mariana, por levantarme en cada caída y perdonar mis errores, por no abandonarme aún cuando no lo merecía, y siempre brindarme su apoyo. Madre, sin ti, no estaría aquí; gracias por haber creído en mi, espero que ahora puedas sentirte orgullosa.

A mis sobrinos Mikaela, Samuel, Ariana y Marcos, quienes con sus locuras y risas han dado sentido hasta a los días más complicados. Mis pequeños angelitos los amo con todo mi corazón, es un orgullo y una gran felicidad ser su tía.

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora de Tesis, Dra Josefina Egas por confiar en mí y darme todo su apoyo profesional durante la elaboración de este trabajo y durante toda mi carrera.

A mi mejor amiga María Belén quien ha estado conmigo desde pequeñas, siempre pensó que podría lograr todo lo que me proponga, y a pesar que el destino nos separó jamás me abandono, siempre creyó en mí dándome palabras de aliento y su apoyo para continuar en mi carrera y en mi vida.

A una persona importante en mi vida, quien a pesar de la distancia que nos separa logró con su inmenso amor siempre estar conmigo y jamás me negó una palabra de aliento; por ser mi luz en la oscuridad y el más maravilloso cielo azul. “Esto que siento por ti, es como el aire para respirar”.

INDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	ii
Índice de contenidos.....	iii
Resumen.....	x
Abstract.....	xii
Introducción.....	1
Justificación.....	1
Planeamiento del problema.....	2
Objetivos.....	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos.....	5

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
1.1.1 Generalidades.....	6
1.1.2 Características.....	6
1.1.3 Factores de virulencia.....	8
1.1.4 Reservorio.....	10
1.1.5 Transmisión.....	10
1.1.6 Patología.....	10

1.1.7 Portadores.....	13
1.1.8 Factores de Riesgo.....	14
1.1.9 Métodos de diagnóstico.....	14

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOLOGÍA

2.1 Participantes.....	19
2.1.1 Instituciones.....	19
2.1.2 Personas cooperantes.....	19
2.2 Zona de estudio.....	19
2.2.1 Trabajo de campo.....	19
2.2.2 Trabajo de laboratorio.....	20
2.3 Tipo de estudio.....	20
2.4 Población.....	20
2.4.1 Selección de pacientes.....	20
2.4.2 Ética.....	21
2.4.3 Limitaciones del estudio.....	21
2.5 Protocolo de trabajo.....	22
2.5.1 Preparación del área de trabajo y material.....	22
2.5.2.Toma de muestras nasofaríngeas y transporte.....	22
2.5.3 Cultivo bacteriano.....	23
2.5.4 Morfología de colonias y Prueba de hemólisis.....	25
2.5.5 Tinción Gram.....	26

2.5.6 Prueba de Optoquina.....	26
--------------------------------	----

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Control de Cepa.....	28
3.2 Diagnóstico microbiológico.....	28
3.2.1 Parámetros demográficos.....	30
3.2.1 Edad.....	30
3.2.2 Sexo.....	32
CONCLUSIONES.....	34
RECOMENDACIONES.....	36
BIBLIOGRAFÍA.....	37

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1

Consentimiento informado.....42

Anexo 2

Tinción GRAM.....45

Anexo 3

Registro y Procesamiento de muestras..... 46

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.

Aspecto de *S. pneumoniae* con tinción Gram..... 7

Figura 2.

Material para toma de muestra nasofaríngea..... 23

Figura 3.

Toma de muestra nasofaríngea..... 23

Figura 4.

Siembra por estrías..... 25

Figura 5.

Crecimiento microbiológico de *S. pneumoniae* (α hemólisis)..... 26

Figura 6.

Prueba de Optoquina positiva para *Streptococcus pneumoniae*..... 27

Figura 7.

Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* en centros infantiles y centro hospitalario..... 29

Figura 8.

Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según la edad..... 31

Figura 9.

Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según el género..... 32

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1

Identificación de *Streptococcus pneumoniae* 28

Tabla N° 2

Resultados de la prevalencia total de *Streptococcus pneumoniae* en centros infantiles y centro hospitalario..... 29

Tabla N° 3

Resultados de la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según la edad en meses..... 31

Tabla N° 4

Resultados de la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según el género..... 32

RESUMEN

Streptococcus pneumoniae es uno de los principales agentes causales de una gran variedad de cuadros clínicos, infecciones benignas como otitis media y sinusitis agudas, e infecciones severas como septicemia, meningitis y neumonía.

La neumonía neumocócica es la principal causa de mortalidad entre los menores de cinco años. Esta patología se puede presentar debido a una previa infección vírica del tracto respiratorio superior en la que hubo daño suficiente de pulmones para permitir que los neumococos infecten la zona. Puede presentarse neumonía en individuos que han sido colonizados por *Streptococcus pneumoniae*, luego de la aparición de un factor de riesgo, produciendo una infección esporádica.

Streptococcus pneumoniae es parte de la flora normal del tracto respiratorio superior; colonizando a niños de hasta 5 años de edad, constituyendo a este grupo de individuos en un reservorio natural de este microorganismo. *Streptococcus pneumoniae* se transmite desde una persona colonizada o infectada a otra susceptible a por vía aérea.

Debido a su diseminación por vía respiratoria y a las infecciones que provoca, son un problema pediátrico de mucha importancia.

Determinar la prevalencia *Streptococcus pneumoniae* en niños de 0 a 5 años, que acuden a centros infantiles y centro hospitalario; utilizando el cultivo microbiológico de hisopados nasofaríngeos en un grupo de 400 niños en total. Aislar e identificar *Streptococcus pneumoniae* en las muestras nasofaríngeas, especificar la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* en la población estudiada de acuerdo a edad y sexo y comparar el porcentaje de *Streptococcus pneumoniae* en niños que presentan dificultades respiratorias con aquellos sin síntomas respiratorios.

A través de un estudio de tipo descriptivo transversal y observacional, se muestreo a niños menores de 5 años que acuden a Centros infantiles y Centro Hospitalario de la ciudad de Quito para determinar la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* mediante cultivo microbiológico de muestras nasofaríngeas.

En el estudio se incluyeron 400 niños, de los cuales 196 niños resultaron positivos, encontrándose una prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* de 75.6% en niños que acuden a centros infantiles y una prevalencia de 23.2% en niños que acuden a centros hospitalarios de la ciudad de Quito.

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae is one of the main causal agents of a variety of clinical diseases , benign infections as otitis media and sinusitis acute and severe infections such as sepsis, meningitis, and pneumonia.

Pneumococcal pneumonia is the leading cause of mortality among children under five years. This pathology can occur due to a previous viral infection of the upper respiratory tract in which there was sufficient damage to lungs to allow *S. pneumoniae* from infecting the area. In turn pneumonia can occur in individuals who have been colonized by *Streptococcus pneumoniae*, where the appearance of a risk factor for infection would be sporadically.

Streptococcus pneumoniae is part of the normal flora of the upper respiratory tract; colonize children up to 5 years of age, being in this group of individuals in a natural reservoir of the organism. *Streptococcus pneumoniae* is transmitted from a person colonized or infected to another susceptible to by air.

Due to its spread through the respiratory tract and infections that causes are pediatric problems of great importance.

To determine the prevalence *Streptococcus pneumoniae* in children from 0 to 5 years, who have come to children's centers and hospital; using the microbiological culture of nasopharyngeal swabs in a group of 400 children in total. Isolate and identify *Streptococcus pneumoniae* in the nasopharyngeal specimens, specify the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* in the studied population according to age and sex and compare the percentage of *Streptococcus pneumoniae* in children who present with respiratory difficulties with those without respiratory symptoms.

Through a cross-sectional study and observational, was sampled for children younger than 5 years attending children's centers and Hospital Center of the city of Quito to determine

the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* by microbiological culture of nasopharyngeal specimens.

The study included 400 children, of which 196 children were positive, while the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* from 75.6 % in children attending early childhood centers and a prevalence of 23.2 % in children who go to hospitals in the city of Quito.

INTRODUCCIÓN

JUSTIFICACIÓN

En los países en desarrollo como es el caso del Ecuador, la infección respiratoria aguda (IRA) es otra de las principales causas directas de muerte en niños menores de 5 años. Además de su importancia como causa de mortalidad, las IRA son la principal causa de enfermedad infantil, con una incidencia de entre 4 y 6 episodios anuales en las zonas urbanas y entre 5 y 8 en las zonas rurales. ¹(CEPAR-2004).

La neumonía es la principal causa de mortalidad entre los menores de cinco años. Se estima que la incidencia en ese grupo de edad es de 0,29 episodios por niño y año en los países en desarrollo y de 0,05 episodios por niño y año en los países desarrollados. ²(RUDAN I. et al 2008).

De acuerdo con las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud 1.6 millones de personas mueren cada año por causa de enfermedades neumocócicas; la mitad de ellas corresponden a niños menores de 5 años de edad. ³(OMS 2003) El 90% de esos fallecimientos se registran en países en desarrollo y comunidades desfavorecidas. ⁴(FABRE G. 2011)

Se han considerado varios factores como responsables de un aumento en el riesgo de IRA en los niños de los países en desarrollo, incluyéndose: el bajo peso al nacer, la ausencia de lactancia, la desnutrición, los factores socioeconómicos como la baja renta familiar, el bajo

¹ Centro de Estudios de Población y Desarrollo Social. (2004). **Salud del Niño; Prevalencia y Tratamiento de las infecciones respiratorias**. http://www.cepar.org.ec/endemain_04/nuevo05/informe/s_ninio/ninio1.htm

² RUDÁN I. et al. (2008). **Boletín de la Organización Mundial de la Salud. Epidemiología y etiología de la neumonía en la niñez**. <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/5/07-048769-ab/es/>

³ Organización Mundial de la Salud. (2003). **Agentes Bacterianos de la Neumonía y la Meningitis**. http://www.whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_part1_spa.pdf

⁴ FABRE G. (2011). **Neumonía, el asesino olvidado de los niños a nivel mundial**. www.bienestarholistico.blogspot.com/2010/09/neumonia-el-asesino-olvidado-de-los.html

nivel de escolaridad de los padres y las prácticas inadecuadas en el cuidado de los niños.
⁵(FONSECAL W.- s/f)

Varios estudios demuestran que el *Streptococcus pneumoniae*, conocido comúnmente como neumococo, es la bacteria que más frecuentemente causa neumonía en todas las edades, siendo responsable de dos terceras partes de todos los casos de neumonía bacteriana.
⁴(FABRE G. 2011)

En ocasiones, es necesario realizar estudios de prevalencia en portadores sanos con fines de salud pública. 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. Para estas investigaciones, las muestras deben obtenerse por hisopado nasofaríngeo, ya que las cepas de *S. pneumoniae* frecuentemente se encuentran en la garganta sin causar enfermedad.

PROBLEMA

Streptococcus pneumoniae es una de las bacterias que conforman la flora normal de la nasofaringe en la edad pediátrica, junto con *S. aureus*, *M. catharralis*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. alfa hemolíticos* y *beta hemolíticos*. ⁶(Días A.-2010). El pico de estado de portador se alcanza durante los dos primeros años de vida y va disminuyendo de forma gradual a partir de ese momento, el estado de portador sano será más habitual en los niños pequeños cuidados fuera de casa o que tienen hermanos mayores que acuden a guarderías o colegio.

⁵ FONSECAL W. et al. (s/f). **Factores de riesgo para la neumonía en niños menores de dos años en Fortaleza, Brasil: estudio de casos y controles.** www.ops-oms.org/Spanish/AD/DPC/CD/aiepi-2-7-wf.pdf

⁶ DÍAS A. (2010). **Colonización nasofaríngea y enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae* en niños menores de 5 años.** http://www.tesisexarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0114111-122149//ADC_TESIS.pdf

Los niños menores de dos años presentan una alta incidencia de colonización por esta bacteria, y se los considera un grupo de riesgo, ya que su sistema inmune no se ha desarrollado completamente. ⁷(OPS s/f)

Streptococcus pneumoniae es responsable de elevada morbilidad y letalidad ya que es uno de los principales agentes causales de una gran variedad de cuadros clínicos, infecciones benignas como otitis media y sinusitis agudas, e infecciones severas como septicemia, meningitis y neumonía. La neumonía, como síndrome es responsable de la muerte de aproximadamente 4 millones de niños bajo 5 años de edad, la mayoría de estas muertes son atribuibles a *S. pneumoniae* como agente único o asociado a virus respiratorios ⁸(Moscoso M. et al)

S. pneumoniae coloniza con frecuencia la nasofaringe de las personas y se puede aislar del 50%-60% de la población, dependiendo de la edad y la época del año. Los portadores de este microorganismo constituyen un reservorio natural de Infección Respiratoria Aguda. La neumonía constituye una de las principales causas de muerte en niños de hasta 5 años de edad en nuestro país. Según la OMS (Organización Mundial de la Salud) es responsable del 10.4% de morbilidad infantil y de alrededor de 6000 egresos a hospitales.

La neumonía puede propagarse por diversas vías. Los virus y bacterias presentes comúnmente en la nariz o garganta de los niños, pueden infectar los pulmones al inhalarse. También pueden propagarse por vía aérea, en gotículas producidas en tosidos o estornudos. Además, la neumonía puede propagarse por medio de la sangre, sobre todo en el parto y en el período inmediatamente posterior. ⁹(Mindy J.s/f)

⁷ Organización panamericana de salud. (s/f) **Programa de vigilancia de Serotipos y resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.**

<http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/LABS-manual-vigilancia-serotipos.pdf>

⁸ MOSCOSO Miriam, García Ernesto, López Rubens. (s/f). **Infeción Neumocócica y Biofilmes.**<http://www.oldearth.wordpress.com/microbios-en-accion/infeccion-neumococica-y-biofilmes-2/>

⁹ MINDY J. Perilla, MPH. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. http://www.hqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_spa.pdf

La infección por este microorganismo suele presentarse de forma esporádica en el portador por algún factor pre existente, como por ejemplo, disminución del sistema inmunitario. El neumococo se transmite desde una persona colonizada o infectada a otra susceptible a por vía aérea. Debido a la diseminación por vía respiratoria de *S. pneumoniae* y a las infecciones que provoca, son un problema pediátrico de mucha importancia.¹⁰(FORTINO 2005)¹¹(CEPAR 2004)

Entre las técnicas de diagnóstico está el aislamiento de este microorganismo en cultivo microbiológico el aislamiento de *S. pneumoniae* en cultivo de sangre es conocido como el “gold estándar”. Empleando para esto muestras nasofaríngeas y confirmando el aislamiento de dicha bacterias con pruebas de Optoquina, solubilidad en bilis y tinción Gram. Esto es un método clásico de diagnóstico de dicho microorganismo que nos indicara la presencia de esta bacteria en vías respiratorias superiores.

Ya que las infecciones producidas por *Streptococcus pneumoniae* representan una de las principales causas de enfermedad bacteriana grave en la infancia en todo el mundo, es importante conocer;

¿Cuál es la frecuencia de *Streptococcus pneumoniae* en niños que acuden a centros infantiles y hospitalario de la ciudad de Quito, en el período Julio-Septiembre 2010, mediante cultivo microbiológico?

¹⁰ FORTINO Solórzano-Santos.(2005). **Serotipos prevalentes de *Streptococcus pneumoniae* colonizadores de nasofaringe en niños del distrito federal.** [http:// www.medigraphic.com/pdfs/salpubmex/sal-2005/sal054d.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/salpubmex/sal-2005/sal054d.pdf).

¹¹ Centro de Estudios de Población y Desarrollo Social. (2004). **Salud del Niño; Prevalencia y Tratamiento de las infecciones respiratorias.** http://www.cepar.org.ec/endemain_04/nuevo05/informe/s_ninio/ninio1.htm

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* en niños que acuden a centros infantiles y de aquellos hospitalizados en un centro médico de la ciudad de Quito, mediante cultivo microbiológico de muestras nasofaríngeas en el periodo Julio-Septiembre 2010.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Aislar e identificar *Streptococcus pneumoniae* de muestras nasofaríngeas obtenidas de niños de centros infantiles y hospitalario de la ciudad de Quito.
- ✓ Especificar la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* en la población estudiada de acuerdo a edad y sexo.
- ✓ Comparar el porcentaje de *Streptococcus pneumoniae* en niños que presentan dificultades respiratorias con aquellos sin síntomas respiratorios.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 *Streptococcus pneumoniae*

1.1.1 GENERALIDADES

Streptococcus pneumoniae pertenece al género *Streptococcus* de la familia *Streptococcaceae*. Es un microorganismo patógeno capaz de causar en humanos particularmente en ancianos, niños y personas inmunodeprimidas; diversas infecciones como neumonía, sinusitis, peritonitis, etc; y procesos invasivos como meningitis, septicemia, entre otras.

S. pneumoniae forma parte de la flora bacteriana normal de la mucosa nasal y faríngea, siendo su hábitat preferencial la nasofaringe posterior. Esta colonización se inicia en la etapa de lactancia y la proporción de portadores disminuye en forma inversamente proporcional a la edad.

Las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* son la primera causa de muerte por en niños menores de 5 años, causando alrededor de un millón de fallecimientos anuales en la infancia, lo que representa la mitad de la mortalidad en todas las edades, de acuerdo con estimaciones de la Organización Mundial de la Salud.

La vía de transmisión del *Streptococcus pneumoniae* es aérea, se realizará a través de gotitas de saliva de personas portadoras o enfermos. Es un organismo sensible al calor, al frío y a la desecación, por lo tanto la transmisión requiere de un contacto estrecho de persona a persona.

1.1.2 CARACTERÍSTICAS

S. pneumoniae es una bacteria cocácea Gram positiva, capsulada. Las células bacterianas tienen una forma lanceolada, miden 0,5 a 2 mm de diámetro y se disponen en pares o

diplos, están rodeadas por hemólisis alfa, se distingue del resto del genero por ser sensible frente al disco diferencial de 5 ug de optoquina ¹²(Egas J. - 2007). **Fig. 1**

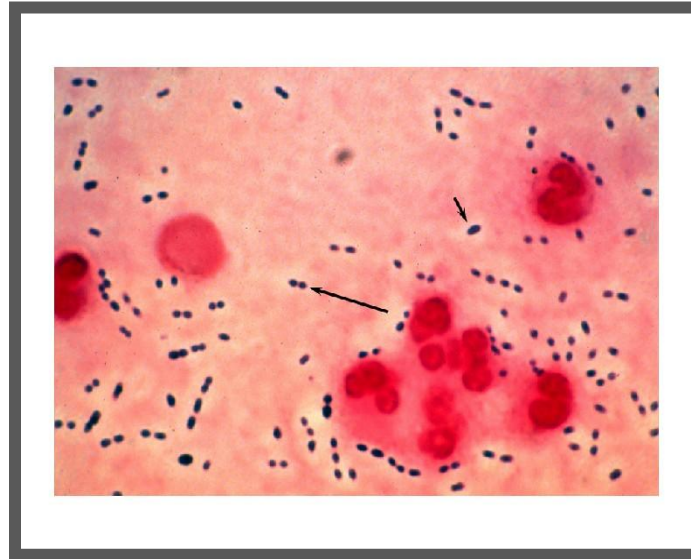


Figura 1. Aspecto *S. pneumoniae* con tinción Gram
Fuente: www.msefans.com/cnsinfections/s-pneumoniae.jpg

Son anaerobias facultativas. Para su crecimiento y multiplicación tienen requerimientos específicos, como aportes de proteínas y suplementos hematológicos. Tiene la capacidad de fermentar ciertos carbohidratos, en medios con alto contenido de glucosa, crece pobremente porque alcanzan niveles tóxicos de ácido láctico. Este microorganismo no tiene catalasa, por lo que necesita una fuente exógena de esta; como puede ser la sangre; tiene un pobre crecimiento en agar chocolate ya que en este medio la catalasa se desnaturaliza. ¹³(PREADO V.2001).

Entre su fisiología y estructura, principalmente se encuentra:

¹² EGAS Josefina. (2007) **Manual de Bacteriología**. 5to nivel de Licenciatura de Microbiología.

¹³ PREADO Valeria. (2001) **Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae***.
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182001000000002&script=sci_arttext

Cápsula:

S. pneumoniae posee una cápsula externa a la pared celular, de naturaleza polisacárida compleja. Es la piedra angular de la patogénesis de las infecciones neumocócicas. La composición antigénica de la cápsula es variable en diferentes cepas y permite agrupar a *S. pneumoniae* en más de 90 diferentes serotipos capsulares y aproximadamente 45 serogrupos.

Pared:

La pared celular de *S. pneumoniae* tiene la estructura general de las cocáceas Gram positivas, con una capa importante de peptidoglicano constituida por subunidades alternadas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetil murámico enlazadas por puentes peptídicos. Un componente importante de esta pared es el ácido teicoico, rico en galactosamina, fosfato y en colina; esta última sustancia es exclusiva de esta bacteria y cumple una función reguladora importante en la hidrólisis de la pared. El ácido teicoico se dispone de dos formas en la pared celular, una expuesta en la superficie celular y otra forma unida en forma covalente a los lípidos de la membrana citoplasmática.

1.1.3 FACTORES DE VIRULENCIA

A. Adherencia:

La capacidad de adherirse en forma eficiente a células blanco es un elemento crucial en la etapa inicial de la infección. *S. pneumoniae* establece una íntima interacción con el mucus del tracto respiratorio, se adhiere a la superficie de las células epiteliales y posteriormente es capaz de invadirlas.¹⁴(PREADO V. 2001)

¹⁴ PREADO Valeria (2001). **Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae***.
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182001000000002&script=sci_arttext

B. Cápsula polisacárida:

Las cepas capsuladas son capaces de eludir la acción fagocitaria en ausencia de anticuerpos específicos. También inhibe la activación del complemento por la vía alterna y degrada el fragmento C3b unido a la superficie bacteriana.¹⁵(PREADO V. 2001)

C. Neumolisina

Desde el punto de vista fisiológico puede considerarse una toxina, ya que destruye la membrana de los glóbulos rojos y es la responsable de la α hemólisis que se observa cuando se cultiva *S. pneumoniae* en medios con sangre y en ambiente de anaerobiosis. La neumolisina se relaciona inmunológicamente con la estreptolisina O producida por los *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo A.¹⁵(PREADO V. 2001)

D. Neuraminidasa

Es una enzima capaz de hidrolizar las glucoproteínas y los glucolípidos celulares; disminuye la viscosidad del mucus que reviste el epitelio respiratorio y altera la estructura de los oligosacáridos, exponiendo los receptores y facilitando la colonización.¹⁵(PREADO V. 2001)

E. Autolisina

Enzima que hidroliza la capa de peptidoglicano en un sitio específico: entre el ácido N-acetil murámico y el residuo alanina del puente peptídico. La actividad de la autolisina depende de la presencia de fosfato de colina en el ácido teicoico de la pared celular. La actividad de esta permite la división celular.¹⁵(PREADO V. 2001)

¹⁵ PREADO Valeria. (2001). **Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae***. http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182001000000002&script=sci_arttext

F. Proteasa para IgA

Las cepas de *S. pneumoniae* producen una proteasa que hidroliza e inactiva la inmunoglobulina A1 presente en las mucosas, lo que facilitaría su adherencia y colonización inicial.

1.1.4 RESERVORIO

El único reservorio del neumococo es el ser humano. Este microorganismo forma parte de la flora habitual de la rinofaringe de los individuos sanos, sobre todo durante el invierno y el principio de la primavera. Los niños de edad preescolar están colonizados entre un 30 y 60%, los escolares el 20- 30% y los niños mayores un 15-20%. Los adultos que conviven con niños preescolares están colonizados más frecuentemente que los que no lo hacen.

¹⁶(LONGO D. s/f)

1.1.5 TRANSMISIÓN

La vía de transmisión del neumococo es aérea, a través de gotas de saliva de portadores o de enfermos. Es un organismo sensible al calor, al frío y a la desecación, por lo tanto la transmisión requiere de un contacto estrecho de persona a persona.

1.1.6 PATOLOGÍA

S. pneumoniae coloniza nasofaringe y en situaciones específicas es capaz de diseminarse a los pulmones, senos para nasales, oído medio y sangre, y a través de esta última a otras localizaciones (meninges, articulaciones, celular subcutáneo).

¹⁶LONGO Daniel. (s/f). **Enfermedad neumococica.** Disponible en línea: <http://www.portalneumo.com/neumo/monografias/neumococica/>

Desde la nasofaringe, el neumococo puede infectar las vías respiratorias superiores, originando cuadros de otitis media y sinusitis. También infecta las vías respiratorias inferiores por microaspiración desde la orofaringe, pudiendo alcanzar la cavidad pleural y el corazón. Si las defensas pulmonares no son capaces de detener la infección, esta puede llegar hasta los ganglios linfáticos y, desde estos, puede invadir el torrente sanguíneo.¹⁷(LONGO D. s/f)

Es causante de varias enfermedades, como son:

Neumonía

La neumonía es la inflamación aguda del tejido pulmonar causada por una infección microbiana o por inhalación, cuyas manifestaciones más habituales son fiebre, dolor en el lado afectado al respirar, tos acompañada de expectoración y de dificultad respiratoria. Es la principal causa individual de mortalidad infantil en todo el mundo.

La neumonía neumocócica comienza generalmente después de que una infección vírica del tracto respiratorio superior (un resfriado, una inflamación de garganta o una gripe) haya dañado los pulmones lo suficiente como para permitir que los neumococos infecten la zona. Tras los temblores y los escalofríos, aparecen fiebre, tos con esputo, ahogo y dolores en el tórax al respirar (en el lado del pulmón afectado). También son corrientes las náuseas, vómitos, cansancio y dolores musculares. El esputo a menudo es de aspecto oxidado debido a la sangre que contiene.¹⁸(MSD. 2010)

Se formarán anticuerpos anticapsulares, los cuales tienen que neutralizarse con los polisacáridos capsulares libres y solubles en el exudado y torrente circulatorio. Si la

¹⁷ LONGO Daniel. (s/f). **Enfermedad neumocócica.** Disponible en línea: <http://www.portalneumo.com/neumo/monografias/neumococica/>

¹⁸ MANUAL MERCK (s/f). **Trastornos del Aparato Respiratorio;** Neumonía, Capítulo 41. http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_04/seccion_04_041.html

producción de anticuerpos es suficiente *S. pneumoniae* será fagocitado y destruido.
¹⁹(EGAS J. 2008)

La mayoría de los niños sanos pueden combatir la infección mediante sus defensas naturales, pero los niños inmunodeprimidos presentan un mayor riesgo de contraer neumonía. El sistema inmunitario del niño puede debilitarse por malnutrición o desnutrición, sobre todo en lactantes no alimentados exclusivamente con leche materna.

La presencia previa de enfermedades como sarampión o infecciones de VIH asintomáticas también aumentan el riesgo de que un niño contraiga neumonía.

Los factores ambientales siguientes también aumentan la susceptibilidad de los niños a la neumonía:

- La contaminación del aire interior ocasionada por el uso de biomasa (como leña o excrementos) como combustible para cocinar o calentar el hogar
- Vivir en hogares hacinados
- El consumo de tabaco por los padres.

Meningitis Neumocócica

La meningitis puede definirse como una inflamación de las leptomeninges (piamadre y aracnoides) con afectación del LCR. Puede ocurrir después de una infección pneumocócica en otro sitio del cuerpo, después de un trauma en la cabeza o también sin ningún antecedente. ¹⁵(EGAS J.-2008) La presentación de la meningitis neumocócica suele ser aguda, su progresión es rápida y la afectación neurológica es en general más grave que la observada en las meningitis de otras etiologías. ²⁰(LONGO D. s/f)

¹⁹ EGAS Josefina. (2008). **Manual de Bacteriología**. 6to nivel de Licenciatura de Microbiología.

²⁰ LONGO Daniel. (s/f). **Enfermedad neumocócica**. Disponible en línea: <http://www.portalneumo.com/neumo/monografias/neumococica/>

Otitis Media

La otitis media aguda es la infección viral o bacteriana del oído medio, caracterizada por la presencia de líquido en dicha cavidad y generalmente secundaria a una infección de las vías respiratorias superiores. Los síntomas se caracterizan por la presencia de un dolor fuerte en el oído, fiebre, vómitos, diarrea y pérdida provisoria de la audición.

Streptococcus pneumoniae también está implicado en endocarditis. Artritis, peritonitis y en asociación con bacteremias. ²¹(EGAS J. 2008)

1.1.7 PORTADORES

La colonización inicia en la etapa de lactancia y la proporción de portadores disminuye en forma inversamente proporcional a la edad; se encuentra en un 40% en menores de cinco años, 40% en niños de 5 a 9 años y 20% en niños de 9 a 14 años. ²²(MINDY J. 2009)

No todas las personas se enferman por *S. pneumoniae*, pero cualquiera de ellas en quien la bacteria haya colonizado se convierte en portador y puede infectar, así la colonización nasofaríngea en ausencia de enfermedad invasiva proporciona a *S. pneumoniae* un ambiente estable, además desde el cual podría propagarse a otros huéspedes vía aerosoles e intercambio mucoso.

Los portadores pueden albergar diferentes serotipos al mismo tiempo o en tiempos diferentes, de modo continuo o intermitente. La distribución de los serotipos en pacientes y portadores sanos menores de 2 años, es diferente a la de los adultos.

²¹ EGAS Josefina. (2008). **Manual de Bacteriología**. 6to nivel de Licenciatura de Microbiología.

²² MINDY J. Perilla, MPH. **Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo**. [http:// www.hqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_spa.pdf](http://www.hqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_spa.pdf)

1.1.8 FACTORES DE RIESGO

Entre los factores de riesgo se encuentran:

- Nuevas cepas de *Streptococcus pneumoniae*.
- Alteración de la flora.
- Estado inmune.
- Intervalo entre colonización y comienzo de la enfermedad.
- Daño de epitelio bronquial por el cigarrillo o polución del aire.
- Clima (invierno).
- Antecedentes de enfermedades respiratorias.
- Entorno: guarderías, escuelas, universidades, centros militares, etc.
- Edad: más común en niños.
- Uso descontrolado de antibióticos.

1.1.9 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de *Streptococcus pneumoniae* se puede realizar mediante: métodos directos y métodos indirectos.

MÉTODOS DIRECTOS

A. Método Microbiológico

1. Tinción Gram

La coloración gram permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: Las Gram positivas que retienen el primer colorante: Cristal Violeta, porque su pared es menos permeable y las Gram negativas que tiene una pared celular más permeable y se tiñen con el segundo colorante: Safranina.²³(EGAS J. 2007)

²³ EGAS Josefina. (2007) **Manual de Bacteriología**. 5to nivel de Licenciatura de Microbiología.

2. Cultivo bacteriano

Un medio de cultivo es cualquier sustancia líquida o sólida que puede utilizarse en el laboratorio para que crezcan los microorganismos.

El éxito al cultivar microorganismos artificialmente está en reproducir las condiciones naturales en las que los microorganismos viven.²⁴(EGAS J. 2007). Entre estas condiciones están: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuado, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante.

Para el crecimiento de *S. pneumoniae* se utilizará Agar con sangre de cordero al 5%, Agar chocolate que se incuba en atmósfera con CO₂. Las muestras deben ser sembradas por el método de siembra en agotamiento para poder obtener colonias aisladas, se incuba a 35° C por 24 horas.²⁵(GARCÍA P. 1999)

3. Prueba de Hemólisis

Algunas bacterias tienen la característica de lisar los eritrocitos en el agar sangre de cordero al 5%. Cuando una bacteria produce una hemólisis clara, transparente se le llama Hemólisis Beta (β), en el caso de una bacteria que produce una hemólisis de color verde o hemólisis incompleta a esta se le llama Hemólisis Alfa (α). *Streptococcus pneumoniae* tiene la característica de producir una Hemólisis α .

²⁴ EGAS Josefina. (2007) **Manual de Bacteriología**. 5to nivel de Licenciatura de Microbiología.

²⁵ GARCÍA Patricia. (1999) **Diagnostico etiológico de nuemonias adquiridas en la comunidad**.

<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/neumonia/Neumonia04.html>

4. Prueba de Optoquina

Se basa en la inhibición del crecimiento de *Streptococcus pneumoniae* por la presencia de Optoquina (Clorhidrato de etilhidrocupreína) en bajas concentraciones, menores o iguales a 5 ug.²⁶(EGAS J. 2007)

La prueba se realiza inoculando sobre una placa de Agar Sangre de cordero al 5% la bacteria en estudio; la cual debe estar pura y fresca; se coloca sobre la placa un disco de optoquina 5ug y se incuba de 18 a 24 hrs a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂. También se puede emplear Agar chocolate para esta prueba siempre y cuando el cultivo sea puro y fresco.

Se interpretara como sensible si existe una zona de inhibición por lo menos de 14mm de diámetro, lo cual señalaría la identificación de *S. pneumoniae*¹⁷(EGAS J.2007)

5. Prueba de Solubilidad en bilis

Las sales biliares, especialmente el deoxicolato y el taurocolato de sodio, tienen la capacidad de lisar a *S. pneumoniae* esto debido a la producción de enzimas autolíticas por este microorganismo, que se observan en cultivos viejos por la morfología de las colonias. La adición de sales biliares acelera la lisis del microorganismo.

Consiste en transferir 0.5 ml de un cultivo de 18 a 24 hrs de un caldo Todd-Hewitt a dos tubos limpios, se agrega una gota de rojo de fenol a cada uno de los tubos, se ajusta el pH a 7.0 con NaOH 0.1 N. y luego se le agrega 0.5 ml de deoxicolato de sodio al 10% a uno de los tubos, se agrega 0.5 ml de solución salina al otro tubo y se agitan suavemente y se incuban a 37 °C durante 2 horas. Luego se observa la desaparición de la turbidez en el tubo que se le agrego deoxicolato mientras que en el otro continúa turbio, con esta prueba se confirma la presencia de *S. pneumoniae*.

²⁶ EGAS Josefina. (2007) **Manual de Bacteriología**. 5to nivel de Licenciatura de Microbiología.

B. Técnicas Moleculares

Reacción en Cadena de La Polimerasa (PCR)

La PCR es una técnica de biología molecular altamente específica, rápida, sensible, versátil para detectar cantidades mínimas de ADN (Ácido Desoxirribonucleico) específico, posibilitando su fácil identificación.²⁷(RODRIGUEZ I. 2004)

La PCR se desarrolla en tres pasos:

1. Separación de las dos cadenas que forman la molécula de ADN que se quiere amplificar, para lo cual se debe calentar el ADN a altas temperaturas que pueden ser próximas a la ebullición. Cada una de estas cadenas actuará como molde para fabricar su complementaria.
2. Se baja la temperatura para conseguir que cada cebador se una a su región específica dentro de la cadena de ADN.
3. Generación de la cadena de ADN complementaria por acción de la ADN polimerasa.

MÉTODOS INDIRECTOS

Las pruebas inmunológicas permiten acortar el tiempo requerido para el diagnóstico. No recuperan el agente etiológico, solamente detectan su presencia.²⁸(ALVARADO L. 2008). Estas pruebas detectan un tipo particular de antígenos o anticuerpos permitiendo el diagnóstico de una infección en curso, o pasada; o una enfermedad autoinmunitaria.²⁹(INGRAHAM J. 1998).

²⁷ RODRIGUEZ Iram (2004). **La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención.** <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/402/40270307.pdf>

²⁸ ALVARADO Luis (s/f). **Pruebas rápidas para la detección de antígenos microbianos.** <http://www.socpemi.org/Doc/pruebasrapidas>.

²⁹ INGRAHAM Jhon. (1998). **Introducción a la microbiología** Capitulo 19 el diagnóstico inmunológico pagina 458-459. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/es/>

Las pruebas serológicas cualitativas sirven para poner en manifiesto la presencia o ausencia de un antígeno o anticuerpo determinado. Las pruebas serológicas cuantitativas permiten el seguimiento de la evolución de la enfermedad.³⁰(INGRAHAM. 1998). Las más utilizadas son: aglutinación directa, inmunofluorescencia y enzimoimmunoanálisis.

³⁰ Jhon L ingraham (1998). **Introducción a la microbiología** Capitulo 19 el diagnostico inmunológico pagina 458-459. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/es/>

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOLÓGÍA

2.1 PARTICIPANTES

2.1.1 Instituciones

Las instituciones que participaron en este estudio fueron las siguientes:

- Hospital de niños Baca Ortiz
- Guardería “Mamá Yoly Cóndor Mirador”
- Guardería “Semillitas de Dios”
- Laboratorio de Docencia de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

2.1.2 Personas cooperantes

- Dra. Josefina Egas
- Srta. Gabriela Miranda
- Grupo de docentes de las guarderías “Mamá Yoly” y “Semillitas de Dios”.
- Grupo de enfermeras del Hospital Baca Ortiz

2.2 ZONA DE ESTUDIO

2.2.1 Trabajo de Campo

Las muestras fueron recolectadas en:

- El hospital de niños Baca Ortiz ubicado Av. 6 de diciembre y Av. Cristóbal Colon.
- Guardería “Mamá Yoly Cóndor Mirador” ubicada en el barrio Atucucho al noroccidente de la ciudad de Quito.
- Guardería “Semillitas de Dios” ubicada en el barrio Atucucho al noroccidente de la ciudad de Quito.

2.2.2 Trabajo de laboratorio

Las muestras fueron procesadas y analizadas en el laboratorio de Docencia de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador ubicado en la Av. 12 de Octubre y Roca de la ciudad de Quito, Pichincha-Ecuador.

2.3 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo Descriptivo transversal y observacional, para determinar la prevalencia de *S. pneumoniae* en niños de centros infantiles y centro hospitalario de la ciudad de Quito, aplicando cultivo microbiológico de muestras nasofaríngeas.

2.4 POBLACIÓN

2.4.1 Selección de pacientes

Se estudiaron 200 niños menores de 5 años que ingresaron al Hospital Baca Ortiz durante los meses de Julio a septiembre del año 2010 y 200 niños menores de 5 años de los centros infantiles “Mamá Yoly” y “Semillitas de Dios” durante el mismo periodo. Se aceptaron los niños que cumplían con los siguientes criterios:

En el Hospital Baca Ortiz:

Criterios de inclusión:

- ✓ Niños mayores de 2 meses.
- ✓ Niños menores de 5 años.
- ✓ Niños con dificultad respiratoria leve

Criterios de exclusión:

- ✓ Niños con patologías severas

- ✓ Niños que presentaron algún grado de deshidratación.
- ✓ Niños que presentaron algún tipo de malformación congénita.

En la comunidad:

Criterios de inclusión:

- ✓ Niños mayores de 2 meses.
- ✓ Niños menores de 5 años.

Criterios de exclusión:

- ✓ Niños presentaron algún tipo de síndromes cromosómicos.
- ✓ Niños que presentaron alguna malformación congénita.

2.4.2 Ética (consentimiento informado)

En vista de que el trabajo fue realizado con un grupo vulnerable de la población, para realizar la investigación se solicitó un consentimiento informado a los padres de familia de los niños que formaron parte del estudio. **Ver anexo 2.** Los padres fueron informados sobre los objetivos, alcances, riesgos y beneficios de la investigación.

2.4.3 Limitación del estudio

Entre las limitaciones del estudio fue el número de muestras y el muestro ya que sólo se tomaron muestras en dos sitios de la ciudad de Quito, debido a que otras instituciones como es el caso de centros hospitalarios no quisieron participar en el estudio; y en el caso de los centros infantiles, los padres no aprobaron los consentimientos informados; por lo que se delimitó el número de muestras.

Además no se pudo trabajar con un número de muestras mayor, ya que no se disponía de un presupuesto suficiente para material y reactivos necesarios para el análisis microbiológico de todas las muestras que serían parte del estudio.

2.5 PROTOCOLO DE TRABAJO

2.5.1 Preparación del área de trabajo y material

- Se utilizó un mechero de alcohol encendido con la finalidad de lograr un área estéril de trabajo, es decir disminuir en lo posible la cantidad de microorganismos ambientales que puedan contaminar la muestra.
- Se usó un sistema de rotulación, asignando un código al paciente, además se escribió la fecha y hora de la toma de muestra en los medios de cultivo y en los medios de transporte M4REMEL. **Fig. 2**

2.5.2 Toma de muestras nasofaríngeas y transporte

- Se colocó la cabeza del paciente en un ángulo de 70° con la ayuda de la enfermera o en algunos casos de la madre del niño.
- Se introdujo el hisopo pediátrico de alginato de calcio en la fosa nasal, deslizándolo por la mucosa de la fosa nasal hasta tocar la pared posterior de la faringe, se hace girar el hisopo, obteniendo de esta manera la muestra, se tomaron dos muestras por paciente, una por cada fosa nasal. **Fig 3**
- Se realizó el inóculo en los medios de cultivo Agar Sangre de Cordero al 5% y Agar Chocolate.
- Posteriormente se colocó el medio de cultivo inoculado en un envase de transporte, los hisopos se introdujeron en el medio de transporte M4 REMEL y fueron colocados en un cooler hasta la llegada de las muestras al laboratorio de Diagnóstico Molecular y Citogenética. Las muestras inoculadas en el medio de cultivo se llevaron al Laboratorio de Docencia de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.



Figura 2. Material para toma de muestra nasofaríngea
Fuente: Evelyn Pavón



Figura 3. Toma de muestra nasofaríngea
Fuente: Evelyn Pavón

2.5.3 Cultivo bacteriano

Las muestras nasofaríngeas en caja Petri que fueron inoculadas en el momento de la toma de muestra fueron llevadas al Laboratorio de Docencia de la PUCE, en donde se ordenaron

de acuerdo a los códigos con los que se rotularon al momento de la toma de muestra, se realizó control de muestras, es decir cada paciente tendría dos inóculos; uno en medio agar chocolate y otro en el agar sangre de cordero al 5%. Una vez realizada la identificación de las cajas, se realizó el siguiente procedimiento:

- Se desinfectó la superficie del área de trabajo con hipoclorito de sodio al 10%.
- Se utilizó un mechero de Bunsen encendido para esterilizar el asa de acuerdo a los procedimientos bacteriológicos de siembra de colonias en caja de agar.
- Luego de enfriar el asa en el borde de la caja Petri sobre el agar que no contiene el inóculo se llevó a cabo el estriamiento del inóculo por agotamiento. **Fig 4.**
- Posteriormente se incuban las muestras en una campana con 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas.

Para las muestras que se encontraban en el medio de transporte M4 REMEL con los hisopos de alginato de calcio, se realizó lo siguiente:

- Se dejó a temperatura ambiente hasta que estos se descongelen.
- Se extrajeron los hisopos del frasco y se colocaron en medio BHI (Brain Heart Infusion), en este paso fue necesario mezclar bien, ya que había una cantidad representativa que se quedaba tanto en las paredes del frasco como en el hisopo.
- Se incubó en una campana con 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas.
- Los hisopos fueron regresados a los medios de transporte y colocados a -80°C para mantener las muestras estables y libres de contaminación.

A los Medios BHI positivos, es decir que presentaron turbidez, signo de crecimiento bacteriano; se procedió a:

- Se inóculo en los medios agar chocolate y agar Sangre de Cordero al 5%.
- Se realizó siembra por agotamiento. **Fig 4.**
- Se incubó en una campana con 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas.



Figura 4. Siembra por estrías

Fuente: www.unad.edu.co/.../imagenes/siembra4.jpg

2.5.6 Morfología de las colonias y Prueba de Hemólisis

A las 24 horas de incubación, se procedió a extraer de la incubadora la campana de CO₂ que contenía las muestras y a estas se las colocó en orden.

Se revisó cada una de las cajas de medio agar chocolate y agar sangre de cordero al 5%, se consideraba como positivo aquellas que contengan un crecimiento de colonias con las siguientes características y se registraba en una hoja de datos. **Ver Anexo 3 y Fig 5**

- ✓ Tamaño: Pequeñas 0.5 a 2mm
- ✓ Color: Banquecinas
- ✓ Forma: Redondas y convexas.
- ✓ Alrededor de estas colonias la presencia de α hemolisis.

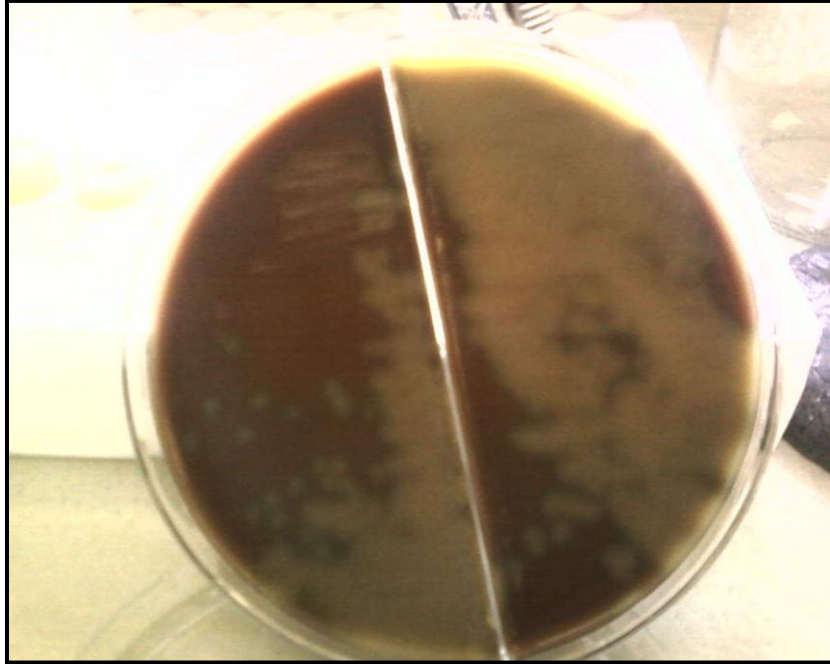


Figura 5. Crecimiento de *S. pneumoniae* (α -hemolisis)
Fuente: Evelyn Pavón

2.5.7 Tinción GRAM

De las colonias que se consideraron como positivas por sus características morfológicas, se procedió a realizar una coloración GRAM. **Ver Anexo 1.**

Se consideraban como positivas las colonias que al microscopio se observaron como diplococos lanceolados Gram Positivos, característicos de *Streptococcus pneumoniae*. Se registraba las postivas en una hoja de datos. **Ver Anexo 3**

2.5.8 Prueba de Optoquina

Se realizó esta prueba a todas las muestras que se consideraron como positivas tanto en la características morfológicas, la α hemolisis y que al microscopio se observaron como diplococos lanceolados gram positivos.

Esta prueba consistió en los siguientes pasos:

- 1) Se realizó un inóculo de dichas colonias en un medio agar chocolate, se realizó un estriamiento y se incubó en una campana con 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas, con el fin de obtener un cultivo puro.
- 2) De estas colonias puras y aisladas se realizó un cultivo masivo en agar chocolate, se colocó un disco de optoquina 5ug y se incubó con 5% de CO₂ a 37°C/24horas.

Se consideraron positivas a la prueba de optoquina las colonias que presentaron un halo de inhibición que al medirlo tenía una dimensión de 14 mm (milímetros) o más. **Fig 6.** Se registraba los positivos en una hoja de datos. **Ver Anexo 3**

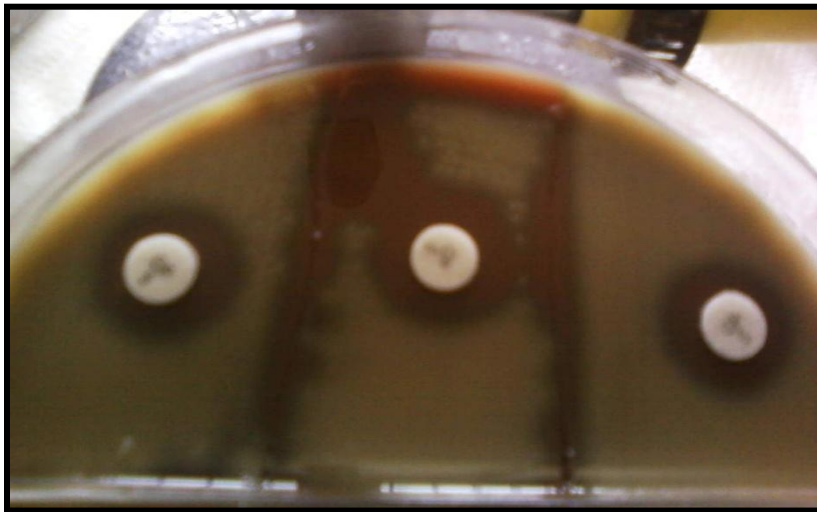


Figura 6. Prueba de Optoquina positiva para *S. pneumoniae*
Fuente: Evelyn Pavón

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CEPA CONTROL

A partir de la siembra en los medios agar chocolate y agar sangre de cordero al 5%, se realizó una identificación macroscópica de las colonias obtenidas, se comprobó las características de cada una de ellas en cada medio y adicionalmente una tinción Gram (**Ver Anexo 2**) y prueba de optoquina donde se observó que el cultivo era puro. **Ver Tabla N°1**

TABLA N° 1 Identificación de *Streptococcus pneumoniae*

Bacteria	Identificación Macroscópica de la Colonia	Gram	Optoquina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Color blanquecinas, redondas, bordes regulares, convexas, 0.5 -2mm de diámetro.	Diplococos +	Sensible

3.2 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

- A continuación se presenta los resultados de la prevalencia total de *Streptococcus pneumoniae* encontrada en los 400 niños del estudio. **Ver Tabla N°2 y Fig 7.**

TABLA N° 2 Resultados de la prevalencia total de *Streptococcus pneumoniae* en centros infantiles y centro hospitalario.

Centros	Cantidad	Cantidad Positivos	Prevalencia
Infantil	200	150	75.6%
Hospitalario	200	46	23.2%

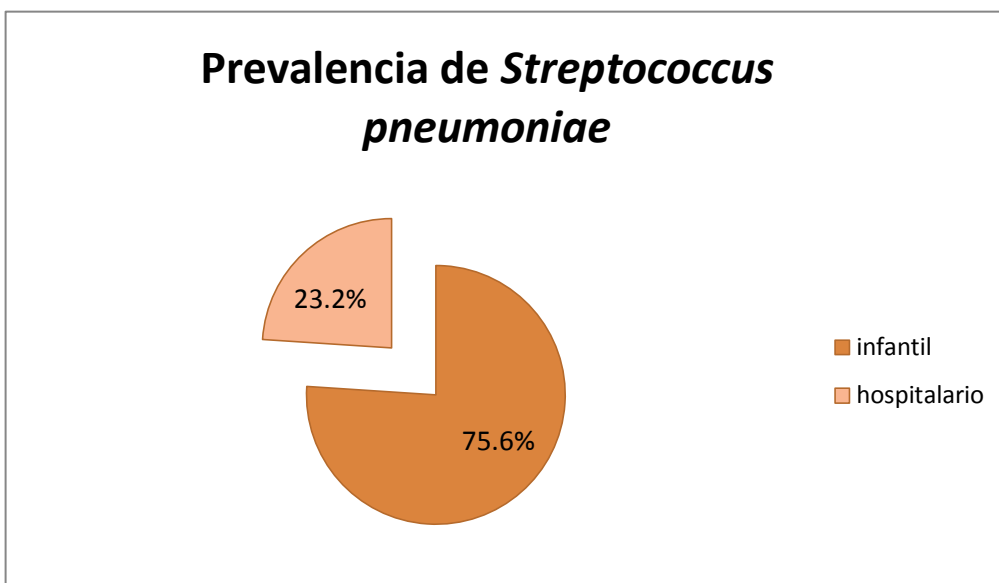


Figura 7. Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* en centros infantiles y centro hospitalario.

★ Al analizar las 400 muestras nasofaríngeas por cultivo microbiológico, los resultados obtenidos son:

- Centro hospitalario: 46 positivos para *Streptococcus pneumoniae*, resultando una prevalencia de 23.2% en 200 muestras analizadas.
- Centros infantiles: 150 positivos para *Streptococcus pneumonaie*, resultando una prevalencia de 75.6% en 200 muestras analizadas.

- Resultando una prevalencia total de 49.5% en 196 muestras positivas para *Streptococcus pneumoniae* mediante cultivo microbiológico nasofaríngeo.

- ★ En el caso del centro hospitalario que presentó una prevalencia baja, indica que a pesar de que todos los niños presentan signos o síntomas para un diagnóstico presuntivo de neumonía, solo 46 de ellos resultaron positivos para *Streptococcus pneumoniae* en muestra faríngeas; lo que indica que si presentan la enfermedad.

- ★ En el caso de los centros infantiles que presentó una prevalencia alta, indica que de los 200 niños, 150 están siendo colonizados por *Streptococcus pneumoniae* sin presentar signos o síntomas presuntivos de neumonía.

3.2.1 PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS

Para este estudio se consideró la edad y el sexo como parámetros demográficos de los dos centros del estudio; Centro Hospitalario y Centros Infantiles.

3.2.1.1 Edad

Se dividió a los pacientes en grupos de acuerdo a su edad en meses: (**Ver Tabla N° 3 y Fig. 8**)

- 1) 0 a 12 meses
- 2) 13 a 24 meses
- 3) 25 a 36 meses
- 4) 37 a 48 meses
- 5) 49 a 60 meses

TABLA N° 3 Resultados de la Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según la edad en meses.

Grupos	Cantidad Positivos	Prevalencia
0 a 12 meses	23	23.2%
13 a 24 meses	40	45.5%
25 a 36 meses	47	68.1%
37 a 48 meses	36	83.7%
49 a 60 meses	50	57.5%

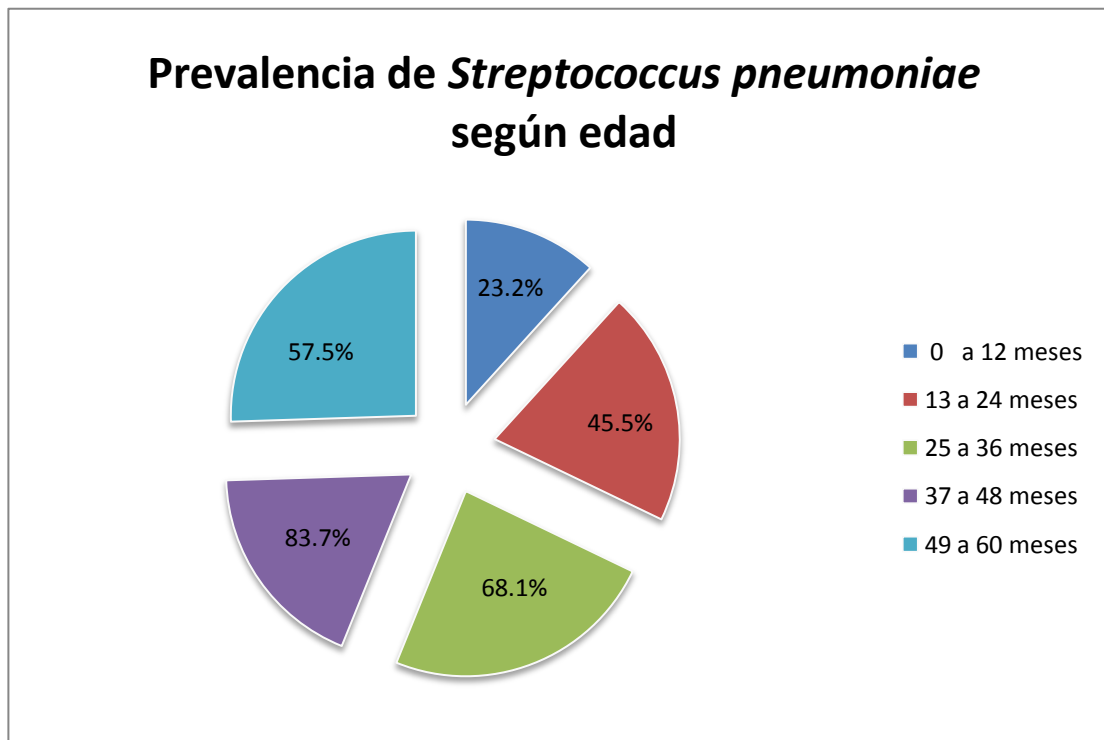


Figura 8. Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según edad

★ Al analizar las 400 muestras nasofaríngeas, se dividió en grupos de acuerdo a las edades en meses de los niños participantes del estudio, dando como resultados:

➤ Prevalencia del 23.2% en niños de 0 a 12 meses.

- Prevalencia del 45.5% en niños de 13 a 24 meses.
- Prevalencia del 68.1% en niños de 25 a 36 meses.
- Prevalencia del 83.7% en niños de 37 a 48 meses.
- Prevalencia del 57.5% en niños de 49 a 60 meses.

★ Se encontró una alta prevalencia en los niños que tienen 37 a 48 meses de edad, en comparación con los otros grupos de edad.

3.2.1.2 Sexo

Se dividió a los pacientes en dos grupos de acuerdo a su género: masculino y femenino. (Ver Tabla N° 4 y Fig. 10)

TABLA N° 4 Resultados de la prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según el género

Sexo	Cantidad Positivos	Prevalencia
Femenino	88	52.4%
Masculino	108	47.9%

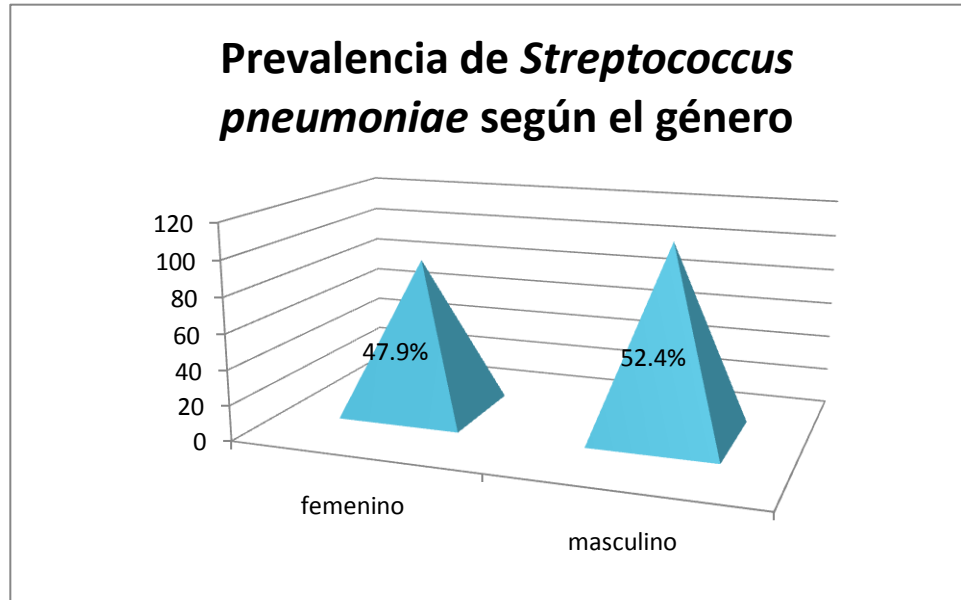


Figura 9. Prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* según el género

- ★ Al analizar las 400 muestras nasofaríngeas, se dividió a los niños según su género en masculino y femenino, obteniendo los siguientes resultados:
 - Prevalencia del 47.9% en el género masculino.
 - Prevalencia del 52.4% en el género femenino.

- ★ Se encontró una prevalencia de *Streptococcus pneumoniae* más alta en el género femenino, en comparación con el género masculino.

CONCLUSIONES

- Comparando los porcentajes obtenidos en niños que presentan dificultad respiratoria que son los niños que acuden al centro hospitalario, en comparación con aquellos que no presentan signos o síntomas que serían los niños que acuden a los centros infantiles; en el centro hospitalario hay menor porcentaje de niños colonizados y enfermos por *Streptococcus pneumoniae*.
- Los resultados obtenidos nos demuestran que hay una prevalencia más alta de *Streptococcus pneumoniae* en los centros infantiles, lo cual indicaría que la asistencia a estos centros es un factor de riesgo importante.
- Al presentar colonización en la nasofaringe y ausencia de signos o síntomas, estos niños son considerados portadores sanos de *Streptococcus pneumoniae*, siendo así un potencial foco de infección.
- Los niños que acuden a los centros infantiles, que con los resultados obtenidos son considerados portadores sanos de *Streptococcus pneumoniae*, tienen un sistema inmune adecuado que no permite que se desarrolle enfermedad por parte de este microorganismo.
- Hay mayor colonización de *Streptococcus pneumoniae* en niños de 37 a 48 meses de edad, encontrándose más frecuencia de casos por este microorganismo en niños que tengan esta edad.
- La prevalencia obtenida en el género femenino, al ser más alta, nos indica que este género es más susceptible de presentar colonización por *Streptococcus pneumoniae*.

- Los niños que están colonizados y no manifiestan patología pueden tener anticuerpos frente a *Streptococcus pneumoniae* por lo que la capacidad de virulencia de este microorganismo no es efectiva y por lo tanto no causa daño en el huésped.
- Los niños que acuden a los centros infantiles que están siendo colonizados pero no presentan la enfermedad, se debe a que la cepa de *Streptococcus pneumoniae* que esta colonizando es una cepa no encapsulada, siendo así la capsula un factor de virulencia importante.

RECOMENDACIONES

- Al ser *Streptococcus pneumoniae* parte de la flora normal de nasofaringe, se recomienda realizar estudios más implícitos en las edades en las que hay mayor casos de colonización, como lo observado en este estudio con el grupo de 37 a 48 meses de edad, y así se podrá controlar la transmisión de este microorganismo.
- Siendo *Streptococcus pneumoniae* responsable de varias patologías entre ellas neumonía en niños menores de cinco años, se recomienda realizar estudios en poblaciones más grandes, para de esa forma obtener resultados con valor epidemiológico los mismos que ayudarían a la implementación de programas de prevención y control de neumonía.
- Se conoce que la cápsula de *Streptococcus pneumoniae* constituye el principal factor de virulencia de este microorganismo, por lo que sería adecuado investigar los diferentes polisacáridos capsulares de las cepas con mayor incidencia en la población ecuatoriana, lo cual será útil para elaborar vacunas más específicas; para esto se preservó las cepas positivas de este estudio a -80°C .

BIBLIOGRAFÍA

1. ÁLVARO Luis (s/f). Pruebas rápidas para la detección de antígenos microbianos. Disponible en línea en:
<http://www.socpemi.org/Doc/pruebasrapidas>.
2. AVALOS Carlos (2009). Neumonía infantil. Disponible en línea en:
<http://www.generacion.com/magazine/858/neumona-infantil>
3. Centro de Estudios de Población y Desarrollo Social. (2004). Salud del Niño; Prevalencia y Tratamiento de las infecciones respiratorias. Disponible en línea en:
http://www.cepar.org.ec/endemain_04/nuevo05/informe/s_ninio/ninio1.htm
4. CÉSPEDES A. (2010). Streptococcus pneumoniae. Disponible en línea en:
<http://uftmed.org/2/microbiologia/s2/17Streptococcus%20pneumoniae.pdf>
5. LONGO Daniel. (s/f). Enfermedad neumocócica. Disponible en línea en:
<http://www.portalneumo.com/neumo/monografias/neumococica/>
6. EGAS Josefina. (2007) Manual de Bacteriología. 5to nivel de Licenciatura de Microbiología.
7. EGAS Josefina. (2008). Manual de Bacteriología. 6to nivel de Licenciatura de Microbiología.
8. GARCÍA Patricia. (1999) Diagnostico etiológico de neumonías adquiridas en la comunidad. Disponible en línea en:

<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/neumonia/Neumonia04.html>

9. FABRE Gina. (2011). Neumonía, el asesino olvidado de los niños a nivel mundial. Disponible en línea en:
<http://bienestarholistico.blogspot.com/2010/09/neumonia-el-asesino-olvidado-de-los.html>

10. FERRIS Jesús, Fernández Josefina (s/f). Portadores sanos de *Streptococcus pneumoniae*. Disponible en línea en:
<http://www.bvsdo.intec.edu.do:8080/revistas/adp/2002/38/01/ADP-2002-38-01-16-20.pdf>.PDF

11. FERRO Lucia y Ferrezin Eitan. (s/f). Colonización de las vías respiratorias por el *S.pneumoniae*. Disponible línea en:
<http://www.iapo.org.br/manuals/36-5.pdf>

12. FONSECAL Walter et al. (s/f). Factores de riesgo para la neumonía en niños menores de dos años en Fortaleza, Brasil: estudio de casos y controles. Disponible en línea en:
<http://www.ops-oms.org/Spanish/AD/DPC/CD/aiepi-2-7-wf.pdf>

13. FORTINO Solórzano-Santos.(2005). Serotipos prevalentes de *Streptococcus pneumoniae* colonizadores de nasofaringe en niños del distrito federal. Disponible en línea en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/salpubmex/sal-2005/sal054d.pdf>.

14. HENRY John. El Laboratorio en el Diagnostico Clínico. Editorial Marbán, edición 2007. Pág. 410

15. INGRAHAM John L. (1998). Introducción a la microbiología, Capitulo 19 el diagnostico inmunológico pagina 458-459. Disponible en línea en:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/es/>

16. LABORATORIOS Britania. (s/f). *Streptococcus pneumoniae*. Disponible en línea en:
http://www.britanialab.com.ar/esp/informacion_cientifica/apuntes/a2_10.htm.

17. Manual de colección y transporte de muestras microbiológicas. Disponible en:
www.monografias.com/trabajos5/mumicro/mumicro.shtml#nasof.

18. MANUAL Merck (s/f). Trastornos del Aparato Respiratorio; Neumonía, Capitulo 41. Disponible en línea en:
http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_04/seccion_04_041.html

19. MARTÍNEZ Motas Isabel y Villasusa Isabel (2006). Portadores asintomáticos de *Streptococcus pneumoniae* en niños de un círculo infantil de ciudad de La Habana. Disponible en línea en:
http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=38615&id_seccion=2491&id_ejemplar=3981&id_revista=153

20. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2008) Indicadores Básicos de la Salud. Disponible en línea en: <http://www.opsecu.org.ec>.

21. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social; Laboratorio nacional de salud. (2002) Manual de Procedimientos Infecciones Respiratorias Agudas. Disponible en línea en: <http://www.paho.org/spanish/hsp/hse/HSE07/manual-iras.pdf>
22. MOSCOSO Miriam, García Ernesto, López Rubens. (s/f). Infección Neumocócica y Biofilmes. Disponible en línea en: <http://www.oldearth.wordpress.com/microbios-en-accion/infeccion-neumococica-y-biofilmes-2/>
23. Organización Mundial de la Salud (2010). Neumonía. Disponible en línea en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/es/>
24. Organización Mundial de la Salud. (2003). Agentes Bacterianos de la Neumonía y la Meningitis. Disponible en línea en: http://www.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_part1_spa.pdf
25. Organización Panamericana de Salud. (2009). Programa de vigilancia de Serotipos y resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Disponible en línea en: <http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/LABS-manual-vigilancia-serotipos.pdf>
26. PREADO Valeria. (2001) **Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*.** Disponible en línea en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182001000000002&script=sci_arttext
27. PERILLA Mindy J. (2003). Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Disponible en Línea en : http://www.hqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_spa.pdf.

28. RODRIGUEZ Iram (2004). La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. Disponible en línea en:
<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/402/40270307.pdf>
29. RUDÁN I. et al.(2008). Boletín de la Organización Mundial de la Salud. Epidemiología y etiología de la neumonía en la niñez. Disponible en línea en:
<http://www.who.int/bulletin/volumes/86/5/07-048769-ab/es/>
30. ZEYLA Hernaldo. (s/f). Frecuencia de portadores Nasales de *S. Pneumoniae* en niños menores de 6 años de la comunidad y de las Salas de Pediatría del Hospital Escuela Dr. Oscar Danilo Rosales Arguello. Disponible en línea en:
http://www.minsa.gob.ni/bns/monografias/Full_text/Pediatria/frecuencia.pdf.

Anexo N° 1

Consentimiento Informado

“Determinación del *Streptococcus pneumoniae*, mediante cultivo tradicional y PCR convencional en niños saludables de la comunidad y niños hospitalizados con neumonía de la ciudad de Quito: Portador nasofaríngeo vs. Bacteriemia”

Antecedentes.

Muchos niños parece que se enferman de neumonía (enfermedad de los pulmones) por que tienen en el cuerpo (en la sangre o la nariz) un microorganismo o germen llamado neumococo, que en algún momento o en determinadas condiciones, provoca la enfermedad.

Objetivo

Este estudio trata de buscar el germen neumococo en una pequeña muestra de sangre y una muestra de la secreción (mucosidad) de la nariz de los niños de 2 meses a 5 años de edad. En la muestra de sangre también se conocerá si el niño (a) tiene o no tiene anemia.

Qué se hará primero:

Primero, un miembro del equipo, le preguntará la edad del niño (a), luego le pesará y le medirá la talla. También le tomará la temperatura axilar, para lo cual le colocará un termómetro debajo de la axila, durante 5 minutos. Luego un médico (a) le examinará la garganta con un baja lenguas y una pequeña linterna y le oirá los pulmones al niño (a) con un fonendoscopio

Cómo se tomarán las muestras.

Todas las muestras serán tomadas solo por personal profesional: médico y/o enfermera.

Las muestras de la secreción o mucosidad nasal se tomarán de la nariz del niño (a) usando un aplicador (o hisopo)

Las muestras de sangre se tomarán con una fina aguja, preferentemente del pliegue del codo.

Riesgos.

El ligero pinchazo que recibe el niño (a) para la toma de la muestra de sangre, produce algún dolor y en pocos casos un pequeño moretón que desaparece en pocos días.

El aplicador en la nariz puede producir molestias como estornudos

Beneficios.

Al terminar el procesamiento de las muestras, usted podrá conocer si su niño tiene o no tiene anemia. Aquellos niños que presenten anemia recibirán el tratamiento (jarabe de hierro con vitaminas del complejo B), durante una semana Usted no recibirá un beneficio directo de los otros resultados, pero la participación de su niño (a) ayudará a comprender mejor los mecanismos de la producción de la enfermedad infecciosa de los pulmones.

Costos y pagos.

Estos exámenes no tienen costo para usted. Tampoco existirá ningún pago en dinero efectivo por la participación en el estudio, este tiene exclusivamente propósitos académicos y de investigación.

Qué se hará con las muestras de moco y sangre.

Una vez terminada la presente investigación, las muestras se conservarán en un banco de muestras biológicas debidamente resguardado en los laboratorios DiserLab de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Si estas muestras fueran a utilizarse en otras investigaciones se volverá a pedir su Consentimiento Informado.

Derecho para no autorizar la toma de muestras

La participación de su niño(a) en este estudio es voluntaria y usted tiene el derecho a no autorizar su participación. Esto no afectará que su niño sea tomado en cuenta en cualquier programa de salud, ni perderá ninguno de sus derechos.

El investigador o un miembro del equipo de investigadores tratará de responder a todas sus preguntas. Si usted tiene preguntas o inquietudes en cualquier momento, o si necesita reportar alguna lesión mientras su niño /a está participando en la investigación contacte a la Dra. Bertha Estrella durante el día a los teléfonos 2557673 y 2520638 o después de estas horas al 095066792.

Firmar este formulario de consentimiento indica que usted lo ha leído (o ha sido leído a usted), que sus preguntas han sido respondidas con satisfacción y que usted voluntariamente está de acuerdo con participar en esta selección.

Al firmar este formulario, usted confirma su deseo voluntario de que su niño(a) participe en el estudio y que ha sido informado de su contenido.

Nombre y firma del padre/madre o responsable:-----

Nombre del niño/a:-----

Nombre y firma del investigador:-----

Fecha:-----

Nota: El presente proyecto de investigación y el consentimiento informado, fueron aprobados por el Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en febrero 2010

Anexo N° 2

TINCIÓN GRAM

- 1) Colocar Cristal Violeta por 1 minuto.
- 2) Lavar con agua.
- 3) Colocar Yodo Gram por 1 minuto.
- 4) Lavar con agua.
- 5) Colocar por 15 segundos Alcohol Acetona.
- 6) Lavar con agua.
- 7) Colocar Safranina por 1 minuto.
- 8) Lavar con agua.
- 9) Dejar secar y observar al microscopio con lente de inmersión 100x.

