

11278  
5  
28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS AL AISLAMIENTO FARÍNGEO DE  
*Haemophilus influenzae* Y *Streptococcus pneumoniae* EN NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE  
EDAD DEL DISTRITO FEDERAL.

T E S I S

Que para obtener el Grado Académico de  
MAESTRÍA EN CIENCIAS SOCIOMÉDICAS  
CON ÉNFASIS EN EPIDEMIOLOGÍA

Presenta

Q.F.B. LAURA ALICIA ORTIZ OCAMPO

TUTOR ACADÉMICO: Dr. Héctor Guiscafré Gallardo.

COTUTORES: Dra. María Lourdes Guerrero Almeida.

Dr. Gonzalo Gutiérrez Trujillo.

México, D.F. Agosto 1998.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

265870



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	5
ANTECEDENTES.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	12
OBJETIVOS.....	13
HIPÓTESIS.....	14
METODOLOGÍA.....	15
RESULTADOS.....	33
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	65
LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	67
RECOMENDACIONES.....	68
BIBLIOGRAFÍA.....	70
ANEXOS.....	74

**DIOS:**

Gracias te doy por que has guiado mis pasos, iluminado mi entendimiento y concedido la oportunidad de poder ver realizado uno más de los objetivos que me he trazado en la vida.

**A MIS PADRES:**

Por haberme dado el maravilloso don de la vida, y quienes con su ejemplo, cariño y constancia han sido la fuente de mi inspiración y dedicación.

Los Amo, Gracias...

**A MIS HERMANOS Y HERMANAS, ESPECIALMENTE A  
GUADALUPE Y MARCO ANTONIO:**

Por el inmenso cariño y apoyo que me han brindado siempre y en todo momento.

Los quiero mucho...

**AL DR. HÉCTOR GUISCAFRÉ:**

Por ser el guía profesional y espiritual, por su siempre paciente y tenaz constancia y por sus sabios consejos...

Por eso y más, Gracias.

**A LA DRA. MARÍA LOURDES GUERRERO:**

Por ser algo más que mi profesora, por su cariño y el apoyo con que supo inculcarme fascinación por la investigación y por su siempre alentadora sonrisa...

Mil Gracias.

**A LA DRA. HORTENSIA REYES:**

Por su paciencia, dedicación, amabilidad y valiosa aportación que me brindo para llegar a concluir la tarea encomendada.

Muchas Gracias.

Dedico mi tesis a una persona excepcional quien con amor, comprensión, ternura y apoyo incondicional ha sabido llenar mi vida y me alienta cada momento para seguir adelante...

Con todo mi amor. Gracias.

**A mis amigas: Silvia Teresita y María Esther:**

Quienes con su singular simpatía llenaron los momentos de arduo trabajo, haciendo mi tarea ligera y agradable...

Con Cariño, Gracias.

Agradezco también a: Dra. Elsa Sarti, Dr. Fortino Solórzano, M. en C. Gabriela Echániz y la T.L.C. Blanca Leños, por su colaboración en la realización de este trabajo.

Muchas gracias.

Agradezco A: Dr. Miguel Ángel Lezana, Dr. Juan Calva Mercado, Dra. Hortensia Reyes, Dr. Héctor Guiscafré y Dra. María Lourdes Guerrero, quienes participaron como jurado, y dedicaron parte de su tiempo en la revisión cautelosa de este trabajo, cuyos afinados comentarios, me permitieron enriquecerlo.

Mil Gracias.

Agradezco a CONACYT la beca de manutención otorgada durante el transcurso y desarrollo del plan de estudios de la Maestría, sin la cual hubiese sido imposible llevarla a cabo.

## RESUMEN.

**INTRODUCCIÓN:** *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* son causantes de una gran variedad de enfermedades, entre las que sobresalen por su gravedad y frecuencia la meningocefalitis purulenta y las infecciones respiratorias agudas (IRA). Ante la dificultad del aislamiento de estas cepas en el material clínico, se ha considerado que el aislamiento de cepas de exudado faríngeo pueden reflejar las diferentes características de estos microorganismos.

**OBJETIVO:** 1.- Determinar la prevalencia, biotipos, serotipos y sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* aisladas de exudado faríngeo en niños de 2 meses a 5 años de edad del Distrito Federal.

2.- Identificar los factores asociados a una mayor prevalencia de aislamiento.

**METODOLOGÍA:** Se diseñó un estudio transversal comparativo, cuya población de estudio fueron niños de 2 meses a 5 años del Distrito Federal, seleccionados a través del Marco Muestral Maestro mediante un muestreo probabilístico multietápico.

El tamaño de muestra se calculó según la fórmula para una proporción simple (**n=604**).

Se aplicó simultáneamente un cuestionario diseñado particularmente para dicho estudio. Se tomaron muestras de exudado faríngeo con hisopo estéril. La identificación de *H. influenzae* y *S. pneumoniae* se llevó a cabo mediante observación morfológica, tinción de Gram, serotipificación con antisueros específicos y pruebas bioquímicas. La determinación del patrón de sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de dilución seriada en placa de acuerdo a las normas establecidas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Se utilizó estadística descriptiva para conocer las características de la muestra estudiada y se identificaron los factores asociados mediante análisis univariado y regresión logística.

**RESULTADOS:** Se estudiaron un total de **573** niños con las siguientes características: el 35% fueron menores de 2 años de edad, el 52% del sexo femenino, el 95% con un

estado nutricional adecuado (talla/edad), el 79.6% con un esquema de vacunación completo para su edad. Asistían a guardería o escuela el 56% y de ellos el 46% tuvieron un compañero con IRA en el mismo grupo escolar. El 35% de los niños cursaban con episodio de IRA en el momento del estudio.

La prevalencia de aislamiento de *Haemophilus influenzae* en exudado faríngeo fue de **15.4%** (serotipo "b" 1.2%, a,c-f 0.5% y no tipificable 13.6%) y para *Streptococcus pneumoniae* fue de **21.4%**.

Los biotipos de *Haemophilus influenzae* más frecuentemente encontrados fueron: II (13.7%) y VIII (76.1%). Los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados con mayor frecuencia fueron el **35** (34.4%), el **23F** (14.9%), el **19F** (13.1%) y el **11A** (9.9%).

Las cepas de *Haemophilus influenzae* serotipo a,c-f y no tipificable fueron sensibles a todos los antibióticos probados; sin embargo, el serotipo "b" presentó un **14.3%** de resistencia a eritromicina. Las cepas de *Streptococcus pneumoniae* presentaron resistencia a: penicilina (**3.3%**), amoxicilina-clavulanato (**12.3%**), eritromicina (**36%**) y TMP/SMZ (**40.9%**).

Los factores de riesgo asociados a una mayor prevalencia de *Haemophilus influenzae* no tipificable y serotipo a,c-f fueron: presencia de un niño enfermo en el mismo grupo escolar (Razón de Momios 4.0), nivel socioeconómico alto (R.M. 3.2) y asistencia a guardería o escuela (R.M. 2.6). El modelo de regresión con estas 3 variables tuvo un valor predictivo de 84.53%

Para *Haemophilus influenzae* serotipo "b" los factores asociados a mayor prevalencia de aislamiento fueron: presencia de IRA al momento de tomar la muestra (R.M. 3.8), nivel socioeconómico alto (R.M. 2.8) y presencia de un niño enfermo de IRA en el mismo grupo escolar (R.M. 1.9), teniendo el modelo de regresión un valor predictivo del 98.49%.



Para *Streptococcus pneumoniae* los factores asociados fueron: asistencia a guardería o escuela (R.M. 3.3.), presencia de niño enfermo en el mismo grupo escolar (R.M. 2.9), nivel socioeconómico bajo (R.M. 2.7) , ocupación materna fuera del hogar ( R.M. 2.3) presencia de IRA al momento de tomar la muestra (R.M. 2.1), y edad materna  $\leq 25$  años(R.M. 2.0). Dichas variables tienen un valor predictivo de 79.92%.

**CONCLUSIONES:** 1.- La prevalencia encontrada tanto para *Haemophilus influenzae* como para *Streptococcus pneumoniae* fue similar a las reportadas en otros países en desarrollo.

2.- Los biotipos y serotipos de *Haemophilus influenzae* y de *Streptococcus pneumoniae* son similares a los reportados en investigaciones previas, con la excepción del serotipo 35 de *Streptococcus pneumoniae* del cual hasta ahora no se tienen reportes en nuestro país, y se ha encontrado en una baja prevalencia en otros países.

3.- No se encontró resistencia de *Haemophilus influenzae* no tipificable (HiNT) y serotipo a,c-f a los antimicrobianos probados y *Haemophilus influenzae* serotipo "b" (Hib) solo mostró resistencia a eritromicina, lo que contrasta con la alta resistencia de este microorganismo a los beta-lactámicos que en general que se ha encontrado en otros países. Para *S. pneumoniae* la resistencia a penicilina es todavía baja, por lo que este antimicrobiano se puede seguir utilizando como antibiótico de primera elección. En cambio, la elevada resistencia a TMP/SMZ hace necesario realizar estudios clínicos para confirmar este hallazgo que implicaría no utilizar dicho antimicrobiano como el antibióticos de primera elección para el tratamiento de la neumonía ambulatoria como actualmente lo recomienda la Organización Mundial de la Salud.

4.- Tanto para *H. influenzae* como para *S. pneumoniae* la presencia de IRA en el momento de tomar la muestra o el contacto con un niño enfermo mostraron asociarse en forma significativa a una mayor prevalencia de aislamiento de dichos microorganismos en faringe, el nivel socioeconómico bajo, se asoció significativamente con mayor

frecuencia de aislamiento de *S. pneumoniae*; mientras que para *H. influenzae* la mayor prevalencia se asoció con un nivel socioeconómico alto.

Este hallazgo implica la necesidad de realizar otros estudios que lo corroboren y permitan encontrar la explicación fisiopatogénica del fenómeno.

## INTRODUCCIÓN.

### Panorama Epidemiológico de las Infecciones Respiratorias Agudas.

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son una de las principales causas de morbi-mortalidad en los países en desarrollo; anualmente mueren en el mundo 15 millones de niños menores de 5 años, de los cuales aproximadamente 5 millones están relacionados con infección respiratoria aguda, principalmente **neumonía**. Las defunciones son especialmente frecuentes en los menores de un año con bajo peso al nacer y niños desnutridos, así como en aquellos que viven en malas condiciones sanitarias con hacinamiento<sup>1-2</sup>.

Diversos estudios epidemiológicos han señalado que el número de episodios respiratorios agudos que un niño puede sufrir durante un año oscila entre 2 y 6<sup>3-4</sup>.

En México en 1996, la neumonía ocupó el 7º lugar como causa de mortalidad general y el 3º como causa de mortalidad infantil con una tasa de incidencia de 213.1/ 100,000 nacidos vivos registrados; de igual manera las infecciones respiratorias agudas siguieron encontrándose dentro de las 10 principales causas de muerte en la población infantil. Entre los principales agentes etiológicos responsables de dichas patologías están: *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*, en aproximadamente el 60% de los casos clínicos<sup>5-8</sup>.

En nuestro país estos dos microorganismos tienen especial trascendencia, ya que son de los agentes frecuentemente involucrados en las enfermedades infecciosas agudas del aparato respiratorio, que en conjunto provocan una elevada morbilidad que afecta principalmente a la población infantil.

## ANTECEDENTES.

*Haemophilus influenzae* es una bacteria de importancia clínica por ser el patógeno responsable de infecciones graves principalmente en pacientes pediátricos, en los cuales puede causar meningitis, septicemia, bronconeumonía y otitis media. Las cepas capsuladas especialmente las del tipo "b", son causantes del 54% de las meningitis bacterianas en niños de 2 meses a 5 años de edad, del 14% de las neumonías en niños de 1 año, del 11% de los casos de bacteremia y celulitis facial, del 10% de los casos de epiglotitis y de 30-66% de las infecciones del oído medio en menores de 5 años<sup>1-3</sup>.

Entre 1990 y 1993 en los Estados Unidos de América, las infecciones por *Haemophilus influenzae* tipo "b" (Hib), tales como meningitis, artritis, neumonía, celulitis, osteomielitis y epiglotitis, afectaron a cerca de 25,000 pacientes/año, siendo las principales causas de morbi-mortalidad en menores de 5 años<sup>1,2</sup>.

En niños con diagnóstico clínico de infección articular piógena, ha logrado aislarse algún agente bacteriano en 64 a 90% del total de casos, de los cuales Hib se recuperó en 46%, observando una mayor frecuencia en niños de 2 meses a 2 años de edad<sup>9</sup>. Así mismo, se ha aislado en forma significativa en niños con amígdalas hipertróficas o infecciones respiratorias recurrentes<sup>10</sup>.

Sin embargo, actualmente la incidencia de enfermedad sistémica por Hib en algunos países desarrollados ha descendido prácticamente a cero, en relación al uso rutinario de vacunas conjugadas contra dicho patógeno aplicadas a partir de los dos primeros meses de vida<sup>11-13</sup>. Algunos estudios reportan que *Haemophilus influenzae* presenta antígenos similares a los de *Escherichia coli* la cual se transporta en el intestino, por lo que se puede inducir la formación de anticuerpos, a través de reacciones cruzadas, dado que una infección causada por *Escherichia coli* que tiene poca o ninguna patogenicidad, es suficiente para inducir la producción de anticuerpos que pueden reaccionar cruzadamente contra *Haemophilus* y, en

consecuencia defenderlos de la infección provocada por dicho germen; razón que lleva a pensar que los niños de nivel socioeconómico bajo que frecuentemente presentan infecciones por *Escherichia coli* puedan estar protegidos contra infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*<sup>14</sup>.

Se ha reportado que la tasa de portadores nasofaríngeos de *Haemophilus influenzae* serotipo "b" (Hib) y no tipificable (HiNT) en la infancia oscila entre 3-10% y 15-85% respectivamente<sup>15-16</sup>.

La flora nasofaríngea es establecida gradualmente durante el primer año de vida, y es el mejor nicho ecológico para bacterias tales como *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. Cuando algunas bacterias llegan a sitios adyacentes a la nasofaringe, tales como los senos paranasales que normalmente son estériles, causan infecciones por lo que la nasofaringe es estudiada como un reservorio de patógenos, que se mantienen como comensales, sin causar daño aparente al portador, pero éste, a su vez, es una fuente potencial de transmisión hacia otros individuos que pueden ser susceptibles a la infección y desarrollar cuadros infecciosos graves<sup>17-18</sup>.

Existen publicaciones que refieren haber encontrado semejanza en los patrones de sensibilidad antimicrobiana entre las cepas aisladas de especímenes clínicos de niños enfermos tales como: pus, sangre, LCR, etc., y los obtenidos de vías respiratorias superiores de niños aparentemente sanos, particularmente con *Haemophilus influenzae* tipo "b" y no tipificable, razón por la cual se considera que mediante muestras de exudado faríngeo puede llevarse a cabo una vigilancia sobre los patrones de sensibilidad antimicrobiana de dicho microorganismo<sup>15-16</sup>.

*Streptococcus pneumoniae* (neumococo) se encuentra comúnmente habitando las vías respiratorias, estudios epidemiológicos señalan que de 5 a 25% de los niños sanos son portadores del microorganismo<sup>1,17</sup>.

El neumococo es el agente etiológico más frecuente de neumonías adquiridas en la comunidad, aproximadamente un 30 a 40% de todas ellas son causadas por este

germen con una letalidad de más o menos 5%<sup>19</sup>. Se ha encontrado como responsable en el 15% de todos los empiemas y en aproximadamente el 50% de todos los casos de otitis media aguda en niños; se calcula que aproximadamente una tercera parte del total de niños del mundo padecen un episodio de otitis media aguda neumocócica durante los 2 primeros años de vida, la cual puede causar infección de los senos paranasales que puede extenderse hacia las meninges provocando una meningitis bacteriana<sup>7,19-20</sup>.

En la mayoría de los estudios realizados en niños en edad pediátrica los serotipos frecuentemente encontrados han sido 6,13,19 y 23<sup>21-22</sup>.

Dichos microorganismos adquieren cada día mayor relevancia por la frecuencia con que se aíslan, los problemas terapéuticos que presentan y la repercusión en la aparición de cepas resistentes a los antibióticos considerados de primera elección tales como penicilina, ampicilina y cloranfenicol<sup>23-26</sup>.

Actualmente en México, la información con que se cuenta sobre *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en cuanto a frecuencia, caracterización del microorganismo y patrones de resistencia antimicrobiana es escasa y no puede ser generalizada, ya que dichos estudios han sido realizados en poblaciones muy específicas y delimitadas, como el de Guiscafrecé y col<sup>27</sup>, realizado en 1979 con el objeto de establecer la frecuencia de *Haemophilus influenzae* resistente a ampicilina y de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina en portadores sanos y en el cual se tomaron 800 muestras de exudado faríngeo de niños sanos de guarderías privadas y del IMSS; en este reporte se encontró una prevalencia de Hib del 9% y HiNT del 6%, identificando un 14% de cepas de Hib resistentes a ampicilina, sin encontrar cepas resistentes a cloranfenicol. Para *Streptococcus pneumoniae* la prevalencia de aislamiento fue del 37%, no se encontraron cepas resistentes a la penicilina, pero el porcentaje de ellas con sensibilidad disminuida fue de 74.5%.

En un estudio de Trejo y col<sup>28</sup>, cuyo objetivo fue evaluar la sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Haemophilus influenzae* a ampicilina y cloranfenicol, se analizaron 127 cepas de las cuales 101 fueron aisladas de exudado faríngeo de

niños sanos y 26 de niños con meningoencefalitis. Se identificó un 14% de las cepas tipo "b" resistentes a ampicilina, y no se encontraron cepas resistentes al cloranfenicol.

Otro estudio es el realizado por Moreno y col<sup>29</sup>. en 1992, donde se estudió un total de 149 muestras de exudado faríngeo y nasofaríngeo de niños sanos de guardería; dicha muestra incluye al personal de la guardería (11 adultos). *Haemophilus influenzae* se encontró en 23% del total de las muestras, reportando una prevalencia de portadores de **Hib** del 18% en la población estudiada, no se aisló ninguna cepa en los adultos. Dicho estudio reportó resistencia antimicrobiana a ampicilina en 40%.

En un estudio realizado por Villaseñor y col<sup>30</sup> en 1992 llevado a cabo en una muestra representativa de 639 niños asintomáticos de Cd. Netzahualcóyotl con edades de 1 hasta 15 años, se reportó un porcentaje de aislamiento de *H. influenzae* del 21%, del cual el 4% fueron **Hib**, 92% **HiNT** y 4% serotipos a-c,f. Se aisló más frecuentemente en los menores de 5 años. En este estudio no se realizó sensibilidad antimicrobiana.

En 1995 Miranda y col<sup>31</sup>. publicó un estudio de caracterización y resistencia antimicrobiana de cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de portadores sanos en edad pediátrica; para dicho estudio se tomaron 252 muestras obtenidas de faringe y nasofaringe, aislando *Haemophilus* en el 30% del total de muestras, de las cuales el 75% fueron **HiNT**, 16% serotipo a-c,f y 9% **Hib**, siendo los biotipos más frecuentes : **I, IV y V**. Con respecto al patrón de sensibilidad antimicrobiana. el 25% de las cepas aisladas tanto **Hib** como **HiNT** fueron resistentes a ampicilina, penicilina y amoxicilina. Se probaron cefalosporinas de tercera generación y cloranfenicol, reportándose una resistencia del 0%, tanto en cepas de **Hib** como **HiNT**.

Aprovechando la reciente organización de un grupo para la Tipificación Serológica de *Streptococcus pneumoniae* se realizó en 1992 un estudio por Calderón y col<sup>32</sup>. para establecer la sensibilidad antimicrobiana in vitro a diferentes fármacos, así como la serotipificación de la bacteria en 83 cepas aisladas de niños sanos de guardería y niños hospitalizados con procesos infecciosos de diferente gravedad. En dicho

estudio la resistencia global a la penicilina (2 microgramos/ml) fue de 29%, con resistencia elevada en el 22% de ellas. Todas las cepas resistentes a penicilina tuvieron resistencia simultánea a 2 o más fármacos, siendo cloranfenicol el antibiótico que presentó mayor resistencia (38.5%) seguido por las tetraciclinas (29%). Los serotipos encontrados con mayor frecuencia en las cepas multirresistentes fueron 6, 23, 14 y 19.

Cabe mencionar que en algunas ciudades de E.U.A. y de América Latina se han realizado estudios epidemiológicos a través de la Academia Nacional de Ciencias y el Consejo de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Internacional (BOSTID) para establecer factores de riesgo asociados a las infecciones respiratorias causadas por los microorganismos antes mencionados; y así podemos mencionar el de Berman<sup>1</sup> cuyo estudio enfatiza que en los países en vías de desarrollo cada 7 segundos muere un niño menor de 5 años, a consecuencia de infección respiratoria aguda, principalmente neumonía, reportando como factores de riesgo asociados, un nivel socioeconómico bajo, tamaño de la familia y hacinamiento; así como factores ambientales que promueven la transmisión de patógenos, entre los que prevalecen *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. Otro estudio importante es el realizado por Victora<sup>34</sup> que realizó un estudio de casos y controles en el área metropolitana de Porto Alegre y Pelotas, en el sur de Brasil y cuyos resultados muestran que existe un mayor número de muertes en los menores de 5 años, durante el otoño y el invierno, destacando como factores de riesgo asociados a dicha mortalidad un nivel socioeconómico bajo, baja escolaridad materna, hacinamiento y bajo peso al nacer, entre los más importantes y significativos. Dichos estudios han mostrado que la influencia de patrones estacionales y factores como edad materna, hacinamiento, tamaño de la familia, número de hermanos, y bajo nivel socioeconómico, hacen que se incremente tanto la incidencia como la prevalencia del padecimiento<sup>31-34</sup>.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Porque *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* son dos de los principales microorganismos involucrados en infecciones graves y frecuentes en los menores de 5 años, y ante la dificultad de aislar estos microorganismos de productos clínicos se ha considerado útil estudiar las cepas aisladas de exudado faríngeo en niños.

Los estudios hasta ahora realizados han sido hechos en poblaciones no representativas de lo que puede ocurrir en la ciudad de México.

El conocer la verdadera prevalencia del aislamiento, los biotipos y serotipos más frecuentes; así como la sensibilidad antimicrobiana y los factores relacionados con un mayor aislamiento permitirán establecer la magnitud del problema, las adecuaciones necesarias al esquema de vacunación, los esquemas adecuados de tratamiento y el intentar modificar los factores de riesgo para estos microorganismos.

1.- ¿Cuál es la prevalencia de aislamiento faríngeo de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en la población de 2 meses y hasta 5 años de edad, en el Distrito Federal?

2.- ¿Cuáles son los biotipos y serotipos más frecuentemente encontrados en la población arriba mencionada?

3.- ¿Cuáles son los patrones de sensibilidad antimicrobiana que presentan las cepas aisladas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*?

4.- ¿Cuáles son los factores asociados a la frecuencia de aislamiento de *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae* en dicha población?

## JUSTIFICACIÓN:

La falta de estudios con **representatividad** adecuada justifica el realizar esta investigación en una muestra que justamente sea representativa de los menores de 5 años del Distrito Federal, a través de dicha investigación podremos conocer la verdadera prevalencia del estado de portador de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en dicho grupo de edad.

En el caso de *Haemophilus influenzae* serotipo "b" es ya conocido que existen vacunas cuyo uso rutinario ha tenido éxito en la prevención de enfermedades infecciosas; sin embargo y dado que éstas son costosas y por ello difíciles de aplicar en forma masiva; la identificación de los factores asociados al estado de portador puede permitir seleccionar poblaciones con mayor riesgo.

Por lo que conocer la prevalencia de aislamiento de dicho microorganismo, así como sus serotipos y biotipos, será de utilidad, ya que dicha información nos brindará la posibilidad de implementar estrategias de vacunación a grupos susceptibles y quizá en un futuro no muy lejano la creación de vacunas específicas para los serotipos diferentes al "b".

En el caso de *Streptococcus pneumoniae*, será muy útil conocer los serotipos prevalentes, ya que las vacunas que se están investigando no pueden conjugarse con un gran número de antígenos, lo que hace necesario conocer a los más frecuentes para orientarnos hacia una vacuna más eficaz.

Cabe mencionar que existen controversias importantes en la elección de los esquemas terapéuticos más adecuados en el manejo de infecciones causadas por estos microorganismos, y la información que se obtenga dará pauta para desarrollar esquemas más apropiados que permitan tratar adecuadamente dichas infecciones.

Finalmente, en nuestro país, no se han realizado estudios que permitan identificar los factores asociados a la frecuencia de aislamiento de los microorganismos antes mencionados, cuyos resultados permitan desarrollar intervenciones dirigidas a grupos de riesgo, con la finalidad de controlar la transmisión y diseminación de gérmenes.

## OBJETIVO GENERAL:

Determinar la prevalencia y factores asociados al aislamiento faríngeo de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en niños de 2 meses y hasta 5 años de edad del Distrito Federal. Caracterizar y obtener el patrón de sensibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1.- Determinar la prevalencia de aislamiento de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en faringe, en una muestra representativa de niños de 2 meses a 5 años de edad del Distrito Federal.
- 2.- Identificar los biotipos y serotipos de las cepas aisladas en la población estudiada.
- 3.- Determinar el patrón de sensibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.
- 4.- Identificar los factores asociados al aislamiento faríngeo de *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae* en dicha población.

## HIPÓTESIS.

1.- Cuando menos un 15% de los niños estudiados son portadores de *Haemophilus influenzae* no tipificable, y menos del 10% portador del tipo "b", mientras que para *Streptococcus pneumoniae* un 30% es portador.

2.- Para *Haemophilus influenzae* al menos un 60% es biotipo VIII y sólo un 5% biotipo II, y para *Streptococcus pneumoniae* que al menos el 50% de la muestra incluye los serotipos: 6,14,19 y 23.

3.- Las cepas de *H. influenzae* y *S. pneumoniae* aisladas de faringe de niños menores de 5 años del Distrito Federal tienen una sensibilidad antimicrobiana mayor a 95% para los antimicrobianos considerados de primera elección tales como ampicilina, penicilina y cloranfenicol, utilizados en el tratamiento de las infecciones respiratorias.

4.- Los factores asociados a una mayor prevalencia de portadores de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* son: niños con nivel socioeconómico bajo, desnutrición y presencia de IRA en el momento de la toma de la muestra.

## **METODOLOGÍA.**

**I.- DISEÑO DEL ESTUDIO:** corresponde a un estudio epidemiológico de tipo **transversal comparativo (analítico)**.

**II.- POBLACIÓN DE ESTUDIO:** Niños de 2 meses a 5 años del Distrito Federal.

**III.- PERIODO DE ESTUDIO:** Febrero de 1996 a Enero 1997.

## **IV.- CRITERIOS DE SELECCIÓN.**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

- \* Niños con edad entre 2 meses y 5 años, que habitaran en las viviendas seleccionadas.
- \* Que la madre o persona encargada del cuidado del niño diera su consentimiento y aceptara que se tomara una muestra de exudado faríngeo a su hijo y respondiera el cuestionario.

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- \* Niños con una o más dosis de vacuna contra *Haemophilus influenzae* serotipo "b".

### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:**

- \* Se eliminaron aquellos niños en quienes no se completó el cuestionario.
- \* Quienes no permitieron que se tomara la muestra de exudado faríngeo a sus hijos.
- \* Muestras cuyo procesamiento no fue correcto.

**V.- TAMAÑO DE LA MUESTRA:** El tamaño de la muestra para determinar prevalencias se calculó según el método para una proporción simple<sup>35</sup>, se consideró como N la población total de niños de 0 a 5 años del Distrito Federal (1,003,314), bajo los siguientes supuestos:

- prevalencia del evento en estudio del 13%,
- error aceptable: 10%
- nivel de confianza de 95%,
- tasa de no respuesta de 25%,

Se obtuvo un tamaño de muestra de 604 niños. Considerando que existen 0.4633 niños por vivienda, se calculó:  $604/0.4633 = 1304$  viviendas a visitar para encontrar el total de niños requeridos.

**Fórmula:** Tamaño de la muestra =  $n/1-(n/N)$

en donde  $n = Z^2 (P(1-P))/d^2$

por lo que  $n = \frac{Z^2(P(1-P))}{d^2}$

Para evaluar factores asociados el cálculo se hizo a través del método estimación de diferencia entre dos proporciones<sup>36</sup> tomando en cuenta los siguientes supuestos:

- nivel alfa = 0.05 (valor de tablas de Z para una prueba de dos colas = 1.96)
- frecuencia del evento en el grupo expuesto: 13%
- frecuencia del evento en el grupo no expuesto: 5%
- error aceptable: 5%

obteniendo una muestra de 247 niños, por cada grupo.

**Fórmula:**  $n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)\}}{d^2}$

**VI .- SELECCIÓN DE LA MUESTRA:** La selección de la muestra (selección de las viviendas) se llevo a cabo a través del Marco Muestral Maestro del Distrito Federal, mediante un muestreo probabilístico multietápico.

#### **ASIGNACIÓN PROPORCIONAL DE LA MUESTRA REQUERIDA POR DELEGACIÓN.**

1.- Para obtener el número de niños necesarios por delegación, se divide el # de niños de cada delegación / el total de niños en las 16 delegaciones y el resultado se multiplica por 610 que es el tamaño de muestra que se necesita para realizar el estudio.

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco:  
 $(54431/1003314) \times 610 = 33$  niños.

2.- El número de viviendas que se deberían visitar para encontrar el número de niños necesario se obtuvo dividiendo el # de niños necesario / 0.4633 que es el dato reportado de menores de 5 años existentes por vivienda según CONAPO.

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco:  
 $33 / 0.4633 = 71$  viviendas a visitar.

3.- Finalmente el número de conglomerados de viviendas necesario en cada delegación se obtiene dividiendo el # de viviendas a visitar entre 5 que es el número de viviendas que conforman cada conglomerado.

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco:  
 $71 / 5 = 14.2$  redondeando la cifra nos da 14 conglomerados.

## ETAPAS DE SELECCION DE LA MUESTRA.

### PRIMERA ETAPA:

Para seleccionar las delegaciones políticas, no fue necesario llevar a cabo ningún tipo de muestreo, ya que en el estudio fueron incluidas todas ellas. Dado que en el Marco Muestral Maestro todas y cada una de las 16 delegaciones están divididas en estratos, el primer paso fue seleccionar aleatoriamente un ESTRATO por cada delegación política. A dicha selección se le denomina  $P_1$  que significa la probabilidad de selección de un estrato del Marco Muestral Maestro o selección de la Unidad Primaria de Muestreo (UPM).

### SEGUNDA ETAPA:

Una vez que se tuvo seleccionado el estrato y dado que éste a su vez está dividido en AGEB's (ÁREAS GEOESTADÍSTICAS BÁSICAS), el segundo paso fue seleccionar aleatoriamente un AGEB de dicho estrato, a dicha selección se le denominó  $P_2$  que significa la probabilidad de selección de un AGEB de la UPM.

### TERCERA ETAPA:

Para llevar a cabo dicha etapa es importante mencionar que cada AGEB está constituido por conglomerados los cuales están formados por bloques de 5 viviendas cada uno.

*Por lo que una vez que se tenía seleccionada la UPM (estrato) y el AGEB correspondiente a dicha unidad, los conglomerados de viviendas fueron seleccionados aleatoriamente, siendo esta la última etapa del muestreo en la cual todos y cada uno de los niños de las viviendas seleccionadas formaron la unidad de análisis, y denominamos a dicha etapa  $P_3$  que significa la probabilidad de selección de viviendas del Área Geoestadística Básica de la Unidad Primaria de Muestreo.*

Esto quiere decir que en cada AGEB se seleccionaron al azar un número diferente de viviendas para visitar. El número de conglomerados de viviendas a muestrear en cada AGEB de cada delegación, se determinó en forma proporcional según el número total de viviendas y niños por delegación.

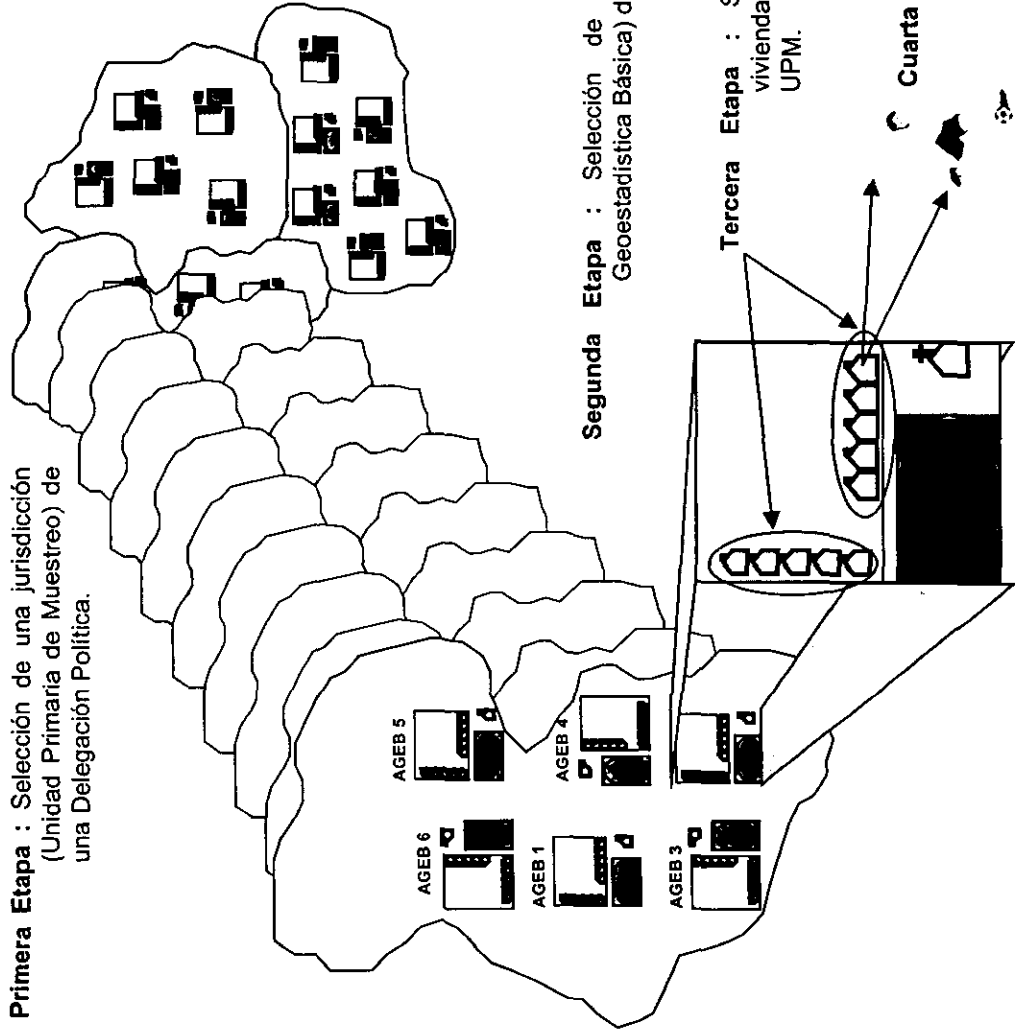


RELACIÓN DE LA POBLACIÓN DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD REQUERIDA POR DELEGACIÓN POLÍTICA.

DELEGACIÓN	DATOS POR DELEGACIÓN SEGUN CENSO 1990.		REQUERIMIENTOS POR DELEGACIÓN SEGÚN TAMAÑO DE MUESTRA CALCULADO.		
	# DE NIÑOS	# DE VIVIENDAS	# DE NIÑOS	# DE VIVIENDAS	# DE CONGLOMERADOS. DE VIVIENDAS.
AZCAPOTZALCO	54431	117507	33	71	14
COYOACAN	69458	152100	43	93	19
CUAJIMALPA	17520	37815	11	24	05
G.A. MADERO	154314	333075	93	201	40
IZTACALCO	54009	116574	32	69	14
IZTAPALAPA	208001	448955	126	272	54
M. CONTRERAS	24878	54539	15	32	07
MILPA ALTA	8926	19266	08	17	03
A. OBREGÓN	80245	173203	49	106	21
TLÁHUAC	29904	64545	18	39	08
TLALPAN	61674	133118	37	80	16
XOCHIMILCO	36796	79421	22	48	09
BENITO JUÁREZ	36833	79522	22	48	09
CUAUHTÉMOC	64544	139313	39	84	17
M. HIDALGO	40633	87703	25	54	11
V. CARRANZA	61148	131983	37	80	16
<b>TOTALES</b>	<b>1,003,314</b>	<b>2,168,639</b>	<b>610</b>	<b>1317</b>	<b>263</b>

# REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS ETAPAS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

**Primera Etapa :** Selección de una jurisdicción (Unidad Primaria de Muestreo) de una Delegación Política.



**Segunda Etapa :** Selección de un AGEB (Area Geostatística Básica) de la UPM.

**Tercera Etapa :** Selección de conglomerados de viviendas del AGEB pertenecientes a la UPM.

**Cuarta Etapa:** Selección de un niño dentro de un conglomerado de viviendas del AGEB de la UPM

## PROCESO DE PONDERACIÓN DE MUESTRA DE MENORES DE 5 AÑOS DEL DISTRITO FEDERAL.

Posterior al proceso de selección de la muestra; se llevo a cabo una ponderación de la misma, para lo cual fue necesario realizar una serie de cálculos basados en probabilidades de selección de cada una de las etapas de muestreo. En forma breve se menciona como se llevo a cabo dicha ponderación.

1.- Para la **PRIMERA ETAPA**: Se calculó la probabilidad de selección de un estrato (**UNIDAD PRIMARIA DE MUESTREO**) por cada una de las delegaciones políticas. por lo que para calcular la probabilidad de selección se debe dividir el número necesario de estratos entre el total de ellos por delegación, denominando a dicha probabilidad  $P_1$

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco :

$$P_1 = \frac{1 \text{ que es el número de estratos necesario en esa delegación}}{14 \text{ que es el número de estratos en la delegación.}}$$

$$P_1 = 0.0714285$$

2.- El siguiente paso es calcular la probabilidad de selección de una **AGEB (ÁREA GEOESTADÍSTICA BÁSICA)** de la **UPM** anteriormente seleccionada, a dicha probabilidad de selección la denominaremos  $P_2$  y que se calcula dividiendo el # de **AGEB's** que se requiere seleccionar entre el total de **AGEB's** que forman todo el estrato seleccionado.

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco:

$$P_2 = \frac{1 \text{ AGEN que era el necesario}}{84 \text{ AGEN's que componen el estrato seleccionado.}}$$

$$P_2 = 0.0119047$$

3.- Posteriormente se calcula la probabilidad de selección de los **conglomerados de viviendas del AGEB de la UPM** seleccionados anteriormente, llamando a dicha selección  $P_3$ , la cual se obtiene dividiendo el:

$$P_3 = \frac{\text{\# de conglomerados de viviendas requerido.}}{\text{\# total de conglomerados del AGEB seleccionado.}}$$

Ejemplo: Delegación Azcapotzalco:

$$P_3 = \frac{14}{212}$$

$$P_3 = 0.0660377$$

4.- Finalmente se calcula la probabilidad que un niño tiene de ser seleccionado en un conglomerado de viviendas, denominando a dicha probabilidad  $P_4$ , que se obtiene de la siguiente manera:

Ejemplo Delegación Azcapotzalco:

$$P_4 = \frac{\text{\# de niños requeridos por delegación}}{\text{\# total de conglomerados de viviendas que forman el AGEB seleccionado.}}$$

$$P_4 = \frac{33}{212} = 0.1556603$$

Entonces la Probabilidad de seleccionar un niño en un conglomerado de viviendas de un AGEB de una UPM es (**P**) que es el resultado de multiplicar  $P_1 \times P_2 \times P_3 \times P_4$ .

$$P = P_1 \times P_2 \times P_3 \times P_4$$

Y el ponderador de muestreo denominado  $\pi$  se obtiene dividiendo **1/P**.

Una vez calculadas las probabilidades de selección de cada etapa del muestreo se procedió a calcular los **ponderadores por individuo y por vivienda** para cada delegación.

Para tal efecto, se consideran la **tasa de respuesta ( $a_1$ )** obtenida en el estudio, la cual en este caso fue de **98% (0.98)**, así como el valor proporcionado por CONAPO del número de menores de 5 años que se sabe existen por cada vivienda (**0.4633**) denominado ( **$a_2$** ).

Obteniendo finalmente los **ponderadores por individuo y por vivienda** para cada delegación mediante la aplicación de las siguientes fórmulas:

**PONDERADOR DE MUESTREO ( $\pi$ ) = 1/p**

**PONDERADOR DE VIVIENDA ( $\pi_{vivienda}$ ) = 1/P x 1/ $a_1$**

**PONDERADOR DE INDIVIDUO ( $\pi_{individuo}$ ) = {1/P x 1/ $a_1$ } x  $a_2$**

Los cuales se interpretan como el número de niños y viviendas que en cada delegación son representados por el tamaño de muestra calculado.

**PROBABILIDADES DE SELECCIÓN DE CADA ETAPA DE MUESTREO Y PONDERADORES POR INDIVIDUO Y VIVIENDA  
PARA CADA DELEGACIÓN POLÍTICA.**

DELEGACIÓN	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P	1/P	# DE NIÑOS	POND. INDIVIDUO	POND. VIVIENDA	# DE VIVIENDAS
AZCAPOTZALCO	0.0714285	0.0119047	0.066038	0.1556603	0.0000087	114942.52	33	54339.65	117288.27	71
COYOACAN	0.0526315	0.0091743	0.078512	0.1776859	0.0000067	149253.73	43	71560.45	152299.71	93
CUAJIMALPA	0.25	0.0416666	0.034483	0.075882	0.0000272	36784	11	17380.70	37515.002	24
G.A. MADERO	0.0333333	0.0040322	0.10101	0.2348484	0.0000031	322580.64	93	152501.63	329163.89	201
IZTACALCO	0.0526315	0.0103092	0.084337	0.192771	0.0000088	113638.36	32	53722.164	115955.46	69
IZTAPALAPA	0.0277777	0.0042194	0.092308	0.2153846	0.000023	434782.6	126	205545.67	443655.68	271
M. CONTRERAS	0.1666666	0.0238095	0.04698	0.1006711	0.0000187	53475.935	15	25281.019	54567.277	32
MILPA ALTA	0.0333333	0.1666666	0.018987	0.0506329	0.0000534	18726.591	8	8893.09	19108.765	17
A. OBREGÓN	0.0526135	0.006993	0.083004	0.1936758	0.0000059	168491.52	49	80127.971	172980.51	106
TLAHUAC	0.125	0.0175438	0.056738	0.1276595	0.0000158	63291.139	18	29921.206	64582.79	39
TALPAN	0.05	0.0079365	0.091954	0.2126436	0.0000077	129870.12	37	61396.756	132520.52	80
XOCHIMILCO	0.1	0.016129	0.057325	0.1401273	0.0000129	77519.379	22	36647.679	79101.402	48
B. JUÁREZ	0.0588235	0.0098039	0.085745	0.2340425	0.0000129	77519.379	22	36647.679	79101.402	48
CUAUHTÉMOC	0.04	0.0086225	0.109677	0.2516129	0.0000073	136986.3	39	64760.968	138781.93	84
M. HIDALGO	0.0526135	0.0086206	0.106796	0.2427164	0.0000117	85470.085	25	40406.416	87214.367	54
V. CARRANZA	0.0416666	0.0070921	0.106667	0.2466666	0.0000077	129870.12	37	61396.756	132520.52	80
<b>TOTALES</b>						<b>13364180.1</b>	<b>610</b>	<b>1000529.80</b>	<b>2157327.49</b>	<b>1317</b>

P<sub>1</sub> = Prob. de selección de jurisdicción (UPM).

P<sub>2</sub> = Prob. de selección de un AGEB.

P<sub>3</sub> = Prob. de selección de un conglomerado de viviendas.

P<sub>4</sub> = Prob. de selección de un niño en un conglomerado de viviendas.

P = resultado de multiplicar las 4 probabilidades.

1/p = Ponderador de muestreo.

Pond. individuo = # de individuos que representa el tamaño de muestra calculado.

Pond. vivienda = # de viviendas representadas por la muestra calculada.

NOTA: La muestra obtenida representa al 99.7% del total de niños menores de 5 años establecido por el censo de 1990.

## DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES.

a) Para el análisis de factores asociados al estado de portador las variables fueron:

**DEPENDIENTE: PORTADOR:** todo niño de cuya faringe se logró aislar *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae*.

Escala de medición: NOMINAL. Negativo = no riesgo                      Positivo = riesgo

### INDEPENDIENTES:

**SEXO:** Sexo biológico de los niños que ingresen al estudio.

Escala de medición: NOMINAL. masculino, femenino

**EDAD:** Edad del niño en el momento de la entrevista.

Escala de Medición: CONTINUA. (meses) 2 a 11 meses = no riesgo  
demás edades = riesgo

**ESTADO NUTRICIONAL:** Se valoró de acuerdo a los siguientes aspectos:

Crecimiento físico de los niños: tamaño alcanzado por los niños en términos de peso y longitud. Se usaron los patrones de referencia del (NCHS<sup>37</sup>) National Center for Health Statistics y se clasificó el estado nutricional por medio de los índices peso/edad, peso/talla y talla/edad a través de la puntuación "Z", y de la medición de la distancia de cada registro por niño del valor de la mediana de la población de referencia (desviación estándar).

Escala de medición: ORDINAL. Normal = no riesgo

Bajo peso o sobrepeso = riesgo

**OCUPACIÓN DE LA MADRE:** Se consideró el empleo habitual de la madre.

Escala de medición: NOMINAL. Dentro del hogar = no riesgo

Fuera del hogar = riesgo

**ESCOLARIDAD DE LOS PADRES:** Se tomó en base a los años escolares aprobados.

Escala de Medición: DISCONTINUA. (años). 7 y + años = no riesgo

6 años o menos = riesgo

**ASISTENCIA DEL NIÑO A GUARDERÍA O ESCUELA:** Asistencia del niño a la guardería.

Escala de medición: NOMINAL. No asistencia = no riesgo Asistencia = riesgo

**PRESENCIA DE UN NIÑO ENFERMO EN EL GRUPO ESCOLAR:** Se indagó con la madre si estaba enterada de la presencia de un niño enfermo de IRA en el grupo escolar de su hijo.

ESCALA DE MEDICIÓN: NOMINAL. Presencia = riesgo No presencia = no riesgo

**MEDICAMENTOS PREVIOS:** Toma de antibióticos en los 15 días previos a la toma de la muestra.

Escala de medición: NOMINAL. Si tomo = no riesgo No tomo = riesgo

**ESQUEMA DE VACUNACIÓN:** De acuerdo al registro de dosis vacúnales aplicadas, cotejado por la cartilla de vacunación.

Escala de medición: NOMINAL. Completo = no riesgo Incompleto = riesgo



**EPISODIO DE INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA:** Se consideró como tal la presencia de catarro, tos, dolor de garganta o dolor de oído presentes al momento de tomar la muestra.

Escala de Medición: **NOMINAL.** Presencia = riesgo No presencia = no riesgo

**ÍNDICE DE NIVEL SOCIOECONÓMICO:** Para clasificar el nivel socioeconómico de la población estudiada se construyeron 3 indicadores en base a la metodología descrita por Mario Bronfman<sup>38</sup> clasificándolo como: **Bueno (B), regular (R) y malo (M).**

Los indicadores fueron: **a) Índice de Condiciones de Vivienda (INCOVI)** formado por las variables: material del piso, disponibilidad de agua potable, eliminación de excretas y nivel de hacinamiento. **b) Escolaridad del jefe de familia, y c) Posesión de bienes.**

#### **CONDICIONES DE LA VIVIENDA:**

Escala de medición: **ORDINAL.**

**Material del piso :** B = recubrimiento (loseta, madera, etc). R = cemento M=tierra.

**Disponibilidad Agua Potable:** B = intradomiciliaria R = dentro del vecindario  
M = hidrante público.

**Eliminación de excretas:** B = drenaje M = otros (letrina, fecalismo, etc)

**NIVEL DE HACINAMIENTO:** número de personas por cuarto, que no sea baño y cocina.

Escala de medición: **ORDINAL.** B = no hacinado R = semihacinado M= hacinado.

Para dicho indicador se consideró como **No riesgo** a la categoría Bueno, y como **Riesgo** a las categorías regular y malo.

**ESCOLARIDAD DEL JEFE DE FAMILIA:** se tomó en base a los años escolares aprobados.

Escala de medición: **ORDINAL.** 7 años y más = no riesgo 6 años o menos = riesgo

**POSESIÓN DE BIENES:** se consideró como tal la posesión de: automóvil, refrigerador y trabajadora doméstica.

Escala de medición: **ORDINAL.** 2 o 3 de ellas = no riesgo 1 o ninguna = riesgo.

El **INCOVI** se categorizó como:

**BUENO:** para las combinaciones en las que aparecieran por lo menos dos variables con "bueno" y una con regular.

**MALO:** para las combinaciones en las que aparecieran, por lo menos dos variables con "malo" y una con regular.

Quedando el resto de las posibles combinaciones ubicado en la categoría de **REGULAR.**

Para establecer el **INSE** se combino el **INCOVI** con el nivel de escolaridad del jefe de familia y la posesión de bienes, y siguiendo el mismo criterio de clasificación se consideró:

**BUENO:** a aquellas combinaciones en las que hubiera por lo menos dos variables con "bueno" y una con "regular".

**MALO:** a aquellas en las que hubiera por lo menos dos variables con "malo" y una con "regular."

Clasificando al resto de las posibles combinaciones dentro de la categoría **REGULAR.**

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

**OBJETIVO # 1.** La prevalencia de aislamiento, se expresó en porcentajes; así como la descripción de las características de la muestra en estudio.

**OBJETIVO # 2.** Se elaboraron tablas de frecuencia y gráficas para describir las características de biotipificación y serotipificación de las cepas aisladas.

**OBJETIVO # 3.** Se obtuvieron tablas de frecuencia para los patrones de sensibilidad antimicrobiana para cada microorganismo, obteniendo las CMI 50 y la CMI 90.

**OBJETIVO # 4.** Se realizó análisis univariado con la finalidad de identificar los factores asociados al estado de portador. Se evaluó la existencia de asociación entre los factores estudiados y la variable dependiente, estimando la magnitud de la asociación mediante la obtención de Razón de Momios e Intervalos de Confianza y prueba de  $\chi^2$  cuadrada. Posteriormente se llevó a cabo un análisis multivariado mediante regresión logística, que nos permitió estudiar la asociación exposición-enfermedad ajustando por múltiples factores en forma simultánea.

La estrategia a seguir para realizar dicho análisis fue:

- conformar el modelo multivariado completo con todas las variables cuya significancia en el análisis univariado tuviera un valor de "p" ( $p \leq 0.05$ ), un intervalo de confianza diferente a uno, y cuya razón de momios fuese mayor a uno, conjuntamente se ingresaron al modelo las variables reconocidas como biológicamente importantes aún cuando no fueran significativas.

- Para evaluar dicho modelo multivariado se utilizó la técnica estadística "backward stepwise" en la que se parte del modelo denominado completo y en el cual se van eliminando las variables en base a los criterios de significancia previamente establecidos.
  
- Posteriormente se evaluó el papel de aquellas posibles variables confusoras; así como aquellas variables que pudieran ser modificadoras de efecto, en cuyo caso la posible variable de interacción se modeló como el producto cruzado de dicha variable con cada una de las variables incluidas en el modelo, pero finalmente se eliminó por no resultar estadísticamente significativa.
  
- Finalmente se realizó una nueva prueba de máxima verosimilitud , para las variables contenidas en nuestro modelo reducido, producto de los pasos anteriores, con las cuales quedo conformado nuestro modelo llamado "modelo final o mejor modelo". <es importante enfatizar que el análisis estadístico, se llevo a cabo en forma separada para cada microorganismo.

## **ASPECTOS ÉTICOS.**

De acuerdo a la Ley General de Salud y debido a que la muestra requerida para el estudio (muestra de exudado faríngeo) no representa ningún riesgo para los niños; solamente se pidió el consentimiento verbal de la madre, o persona encargada de su cuidado, explicándole la finalidad de las mismas, acordando entregar el resultado al finalizar el procesamiento de dichas muestras.

## DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE TOMA Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Se tomaron muestras de faringe de todos los niños con edad entre 2 meses y 5 años de edad que hubiesen sido seleccionados. Las muestras se tomaron con hisopo de algodón estéril y se transportaron en medio de Cary-Blair hasta su llegada al Laboratorio Clínico, sección de Microbiología del Hospital de pediatría de CMN Siglo XXI, donde se sembró en gelosa chocolate enriquecida y se incubó en atmósfera parcial de CO<sub>2</sub> (5-10%) a 35°C, durante 18-24 horas.

Se aplicó un cuestionario para obtener la información pertinente a los aspectos relacionados con episodios de infección respiratoria aguda que permitiera investigar la presencia de factores asociados al estado de portador.

La identificación de *Haemophilus influenzae* se realizó mediante observación de la morfología de las colonias, determinación de sus requerimientos nutricionales (factor X y V), tinción de Gram y serotipificación con antiseros específicos. Se consideraron como no tipificables las cepas que solo aglutinaron con antisuero polivalente o con dos o más antiseros específicos a la vez.

Las cepas que no aglutinaron con ningún antisuero se resembraron dos veces en gelosa chocolate suplementados con factores X y V para facilitar la formación de polisacárido capsular e incrementar con ello su serotipificación.(anexo 1).

Se realizó la biotipificación mediante las pruebas bioquímicas de producción de indol, ureasa y ornitina descarboxilasa.(anexo 2).

La identificación de *Streptococcus pneumoniae* se hizo mediante la morfología de las colonias, observación de hemólisis parcial y solubilidad en bilis, tinción de Gram y sensibilidad a la optoquina. (anexo 1). La serotipificación se llevó a cabo con antiseros comerciales específicos. Las cepas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* se almacenaron en caldo BHI con glicerol al 15% a -40°C hasta la realización del patrón de sensibilidad antimicrobiana.

## RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio que comprendió de **Febrero de 1996 a Enero de 1997**, se visitaron **1315** viviendas en las 16 delegaciones políticas del Distrito Federal para localizar a **604 niños** de 2 meses a 5 años de edad, **27** niños fueron excluidos del estudio por tener una o más dosis de vacuna contra *Haemophilus influenzae*, **10** fueron eliminados ya que la madre contestó el cuestionario pero no permitió que se tomara la muestra de exudado faríngeo a su hijo.

Las características más relevantes de los 573 niños incluidos en el estudio se pueden apreciar en el **(CUADRO 1)**.

El 35% de los niños fueron menores de 2 años de edad, siendo el 52% del sexo femenino.

Los indicadores para evaluar el estado nutricional de los niños muestran que el 96% tenía un peso adecuado para su edad, el 95% una talla adecuada para su edad y finalmente el 91% tuvo un peso adecuado para su talla, es importante mencionar que del 9% restante 5% correspondió a bajo peso y el 4% a sobrepeso; el 79.6% tenía un esquema de vacunación completo para su edad y solamente el 55.8% asistía a la guardería o escuela, de ellos el 45.6% tenía un compañero enfermo de IRA en el mismo grupo escolar. Sólo el 22% de todos los niños había recibido tratamiento antimicrobiano 15 días previos a la toma de muestra y el 35.4% cursaba con infección respiratoria aguda al momento de tomarles la muestra.

En lo que respecta a las características de las madres de los 573 niños se observó que el 59.2% tenía una edad menor o igual a los 25 años, el 41.7% había aprobado 6 o menos años escolares y el 59.5% de ellas tenía una ocupación fuera del hogar. **(CUADRO 2)**.

Las características socioeconómicas más relevantes fueron: hacinamiento 36%, semihacinamiento 52% y no hacinamiento 12%, el 65% de las viviendas tenían piso de cemento, 21% piso de otro recubrimiento y solamente 14% tenía piso de tierra. El 64% refirió tener agua intradomiciliaria entubada, y el 79% contaba con drenaje. El nivel socioeconómico fue **BUENO** en el 20.9%, **REGULAR** en 46.4% y **MALO** en el 32.6%. **(CUADRO 3)**.

Se aislaron 122 cepas de *Streptococcus pneumoniae* y 88 de *Haemophilus influenzae*. El porcentaje de aislamiento para *Streptococcus pneumoniae* fue de 16.4%, y el de *Haemophilus influenzae* fue 10.5% y ambos gérmenes se aislaron en 4.9%, por lo que la prevalencia **global** de aislamiento fue: 21.4% y 15.4% respectivamente.

En cuanto a los serotipos de *Haemophilus influenzae*, el serotipo "b" se identificó en el 1.2% de las muestras analizadas, el serotipo a,c-f en el 0.5% y las cepas fueron **no tipificables** en 13.6%. **(GRAFICA 1)**.

La prevalencia de aislamiento cruda y ponderada obtenida por delegación política se presenta el **(CUADRO 4)** en el cual puede observarse que la diferencia entre ambas es mínima.

Al evaluar la prevalencia de aislamiento en función de la presencia de infección respiratoria aguda al momento de tomar la muestra, se encontró



diferencia estadísticamente significativa en *Haemophilus influenzae* serotipo “b” y *Streptococcus pneumoniae*. (CUADRO 5).

El análisis de los grupos de edad en función del porcentaje de aislamiento de *Haemophilus influenzae* muestra que el grupo de 36-47 meses tiene una frecuencia significativamente mayor; respecto al serotipo “b” no hubo diferencia estadística entre los grupos. De igual manera ningún grupo de edad mostró diferencia estadísticamente significativa para el aislamiento de *Streptococcus pneumoniae*. (CUADROS 6, 7 y 8).

Los biotipos de *Haemophilus influenzae* identificados más frecuentemente en las cepas aisladas fueron: el biotipo VIII (76.1%) y el II (13.7%), no se encontraron los biotipos III y IV. Al analizar la distribución de los biotipos identificados en función de su serotipo se observó que para el serotipo “b” los biotipos más frecuentes fueron el VIII y el II, que para el serotipo a,c-f fue el biotipo VIII, y para las cepas no tipificables los biotipos VIII, II y V. Cabe mencionar que los biotipos VIII y II mostraron una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con los biotipos restantes. (CUADRO 9).

En relación a la serotipificación de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* los serotipos más frecuentemente identificados fueron el 35 (34.4%), seguido de los serotipos: 23F (14.9%), 19F (13.1%) y 11A (9.9%). (GRAFICA 2).

En lo referente al patrón de sensibilidad antimicrobiana de las cepas de *Haemophilus influenzae* con serotipo a-c,f y no tipificables (n = 81) ninguna de ellas presentó resistencia a ninguno de los antibióticos probados, es decir que dichas cepas fueron 100% sensibles. (CUADRO 10).

Por lo que respecta al patrón de sensibilidad antimicrobiana de *Haemophilus influenzae* serotipo "b" (n = 7) sólo se encontró 1 cepa que mostró resistencia a la eritromicina lo que representa un 14.3% del total de dichas cepas; siendo las demás cepas 100% sensibles al resto de los antibióticos probados. **(CUADRO 11).**

Por su parte las cepas de *Streptococcus pneumoniae* (n = 122) mostraron un variado patrón de sensibilidad antimicrobiana dentro del cual se identificó en un 9% de ellas (n = 11) una sensibilidad disminuida a la penicilina, pero solamente el 3.3% de dichas cepas (n = 4) mostró una verdadera resistencia al antibiótico mencionado; un 12.3% (n = 15) fueron resistentes a amoxicilina-clavulanato, mientras que los antibióticos que mostraron una elevada resistencia fueron eritromicina 36% (n = 44) y trimetoprim-sulfametoxazol 40.9% (n = 50). **(CUADRO 12).**

Para evaluar los factores asociados a una mayor prevalencia de aislamiento de los microorganismos antes mencionados, todas las variables fueron sometidas a análisis univariado con la finalidad de evaluar su asociación. Cabe mencionar que dicho análisis se hizo por separado para cada uno de los microorganismos. Se encontró para *Haemophilus influenzae* no tipificable y a,c-f 5 variables que resultaron estadísticamente significativas. Y para el serotipo "b" la única variable que mostró significancia estadística fue la presencia de IRA al momento de tomar la muestra. **(CUADRO 13).**

Para *Streptococcus pneumoniae* el análisis univariado mostró 7 variables con significancia estadística. **(CUADRO 14).**

Las variables que para *Haemophilus influenzae* quedaron integradas en el “mejor modelo” mostrando un intervalo de confianza mayor a 1 y un valor de p significativo fueron: presencia de niño enfermo de IRA en el mismo grupo escolar (R.M. 4.0, I.C. 2.4-7.0), nivel socioeconómico alto (R.M. 3.2, I.C. 1.8-5.2), asistencia del niño a la guardería o escuela (R.M. 2.6, I.C. 1.3-4.3). **(CUADRO 15).**

Es importante mencionar que al analizar en forma separada los casos de *Haemophilus influenzae* serotipo “b”, las variables que representan el mejor modelo son: presencia de infección respiratoria aguda al momento de tomar la muestra, nivel socioeconómico alto y presencia de un niño enfermo de IRA en el mismo grupo escolar. **(CUADRO 15A).**

En el caso de *Streptococcus pneumoniae* el “mejor modelo” quedó integrado por las variables: asistencia del niño a guardería o escuela (R.M. 3.3, I.C. 2.0-5.5), presencia de niño enfermo de IRA en el mismo grupo escolar y presencia de infección respiratoria aguda al momento de toma de muestra (R.M. 2.9, I.C. 1.8-4.4), nivel socioeconómico bajo (R.M. 2.7, I.C. 1.3-5.6), ocupación materna fuera del hogar (R.M. 2.3, I.C. 1.3-3.9), y edad materna  $\leq 25$  años, ambas con (R.M. 2.0, I.C. 1.2-3.3). **(CUADRO 16).**

**CUADRO # 1. CARACTERÍSTICAS MAS RELEVANTES DE LOS NIÑOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.**

CARACTERÍSTICA		N = 573	
EDAD (meses)	n	%	
2-11	77	13.5	
12-23	124	21.6	
24-35	87	15.2	
36-47	114	19.9	
48-60	171	29.8	
<b>SEXO</b>			
MASCULINO	274	47.8	
FEMENINO	299	52.2	
<b>ESTADO NUTRICIONAL ADECUADO*</b>			
PESO/EDAD	550	96.0	
TALLA/EDAD	485	95.0	
PESO/TALLA	489	91.0	
<b>ESQUEMA DE VACUNACIÓN</b>			
COMPLETO	447	79.6	
INCOMPLETO	126	22.0	
<b>ASISTENCIA A GUARDERÍA O ESCUELA.</b>			
SI	320	55.8	
NO	253	44.2	
<b>PRESENCIA NIÑO ENFERMO EN MISMO GRUPO (n=320)</b>			
SI	146	45.6	
NO	174	54.4	
<b>TOMAR MEDICAMENTOS 15 DÍAS PREVIOS A TOMA DE MUESTRA</b>			
SI	127	22.2	
NO	446	77.8	
<b>EPISODIO DE IRA AL MOMENTO DE TOMA DE MUESTRA</b>			
PRESENTE	201	35.4	
AUSENTE	372	64.6	

\* Indicadores con puntuación "Z" (-1.99 a +1.99 DE = adecuado), de acuerdo a valores de referencia del National Center for Health Statistics.

NOTA: Se excluyeron los niños que contaban con alguna dosis de vacuna contra *H. influenzae*.

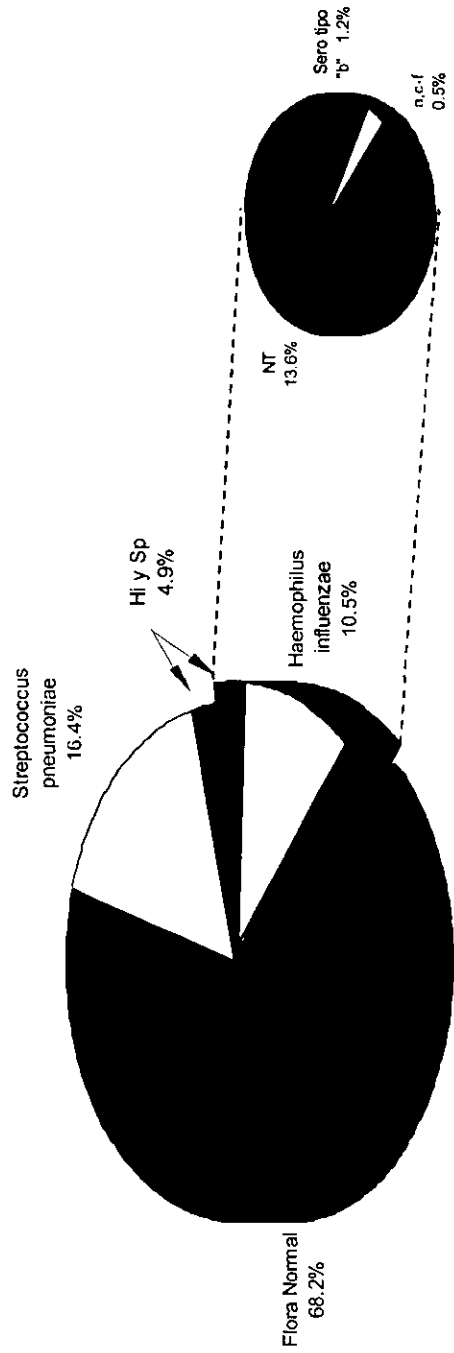
**CUADRO # 2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS MADRES  
ENCUESTADAS.**

<b>CARACTERÍSTICA</b>		
	<b>N = 573</b>	
<b>EDAD (años)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
≤ 25	339	59.2
26-30	139	24.3
31-40	89	15.5
41-50	6	1.0
 <b>ESCOLARIDAD (años)</b>		
≤ 6	227	39.6
7-9	178	31.1
10 y más	168	29.3
 <b>OCUPACIÓN DE LA MADRE</b>		
HOGAR	232	40.5
FUERA DEL HOGAR	341	59.5

**CUADRO # 3. ÍNDICE DE NIVEL SOCIOECONÓMICO DE LAS FAMILIAS ESTUDIADAS E INDICADORES DESGLOSADOS.**

INDICADOR	N = 573	
	n	%
<b>INCOVI</b>		
<b>MATERIAL DEL PISO DE LA VIVIENDA</b>		
cemento	373	65
otro recubrimiento	120	21
tierra	80	14
<b>DISPONIBILIDAD DE AGUA POTABLE.</b>		
intradomiciliaria	367	64
dentro del vecindario	149	26
hidrante público	57	10
<b>ELIMINACIÓN DE EXCRETAS</b>		
drenaje	453	79
letrina, fecalismo, etc.	120	21
<b>NIVEL DE HACINAMIENTO</b>		
hacinado	206	36
semihacinado	298	52
no hacinado	69	12
<b>ESCOLARIDAD DEL JEFE DE FAMILIA.</b>		
7 años y más	183	32
4 a 6 años	327	57
menos de 3 años	63	11
<b>POSESIÓN DE BIENES.</b>		
tener 2 o 3 de ellos	338	59
tener 1 solo	178	31
ninguno	57	10
<b>INSE</b>		
BUENO	120	20.9
REGULAR	266	46.4
MALO	187	32.6

**GRÁFICA 1.** Prevalencia de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* aislados de faringe de niños de 2 meses a 5 años de edad del Distrito Federal.



CUADRO # 4. PREVALENCIA DE *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* AISLADOS DE FARINGE DE NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL DISTRITO FEDERAL.

DELEGACIÓN	# NIÑOS ESTUDIADOS	# DE NIÑOS REPRESENTADOS POR LA MUESTRA	PREVALENCIA CRUDA %				*PREVALENCIA PONDERADA %					
			FN	HiNT	Hib	Hi a,c-f	S.p.	FN	HiNT	Hib	Hi, a,c-f	S.p.
AZCAPOTZALCO	29	54339.65	2.98	1.04	0	0	1.57	2.96	1.04	0	0	1.57
COYOACAN	40	71560.45	4.88	1.39	0.34	0.17	0.89	4.73	1.35	0.33	0.18	0.87
CUAJIMALPA	11	17380.70	1.39	0.34	0	0	0.52	1.40	0.34	0	0	0.52
G.A.MADERO	90	152501.63	11.69	0.87	0	0.17	3.31	11.82	0.88	0	0.17	3.35
IZTACALCO	29	53722.164	3.49	1.22	0.34	0	0.17	3.50	1.22	0.34	0	0.17
IZTAPALAPA	123	205545.67	15.30	1.22	0	0	5.68	15.48	1.23	0	0	5.84
M.CONTRERAS	15	25281.019	0.52	1.39	0	0	1.04	0.51	1.37	0	0	1.02
MILPA ALTA	6	8893.09	0.87	0.17	0	0	0.17	0.87	0.17	0	0	0.17
A.OBREGÓN	48	80127.971	4.53	1.04	0.17	0	2.44	4.53	1.04	0.17	0	2.44
TLÁHUAC	15	29921.206	1.04	0.52	0	0	1.57	1.04	0.52	0	0	1.57
TLALPAN	34	61398.758	3.83	0.87	0.34	0	1.22	3.85	0.87	0.34	0	1.22
XOCHIMILCO	20	36647.879	0.87	1.39	0	0	1.91	0.87	1.39	0	0	1.92
B. JUÁREZ	22	36647.879	2.81	0.69	0	0.17	0.34	2.62	0.69	0	0.17	0.34
CUAUHTÉMOC	35	64760.968	5.41	0.34	0	0	0.34	5.39	0.34	0	0	0.34
M. HIDALGO	23	40406.416	3.14	0.52	0	0	0.34	3.16	0.52	0	0	0.34
V. CARRANZA	35	61396.756	5.58	0.52	0	0	0	5.55	0.52	0	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>573</b>	<b>1,0005,29.804</b>	<b>68.3</b>	<b>13.6</b>	<b>1.2</b>	<b>0.5</b>	<b>21.4</b>	<b>68.4</b>	<b>13.5</b>	<b>1.2</b>	<b>0.5</b>	<b>21.4</b>

\*La prevalencia ponderada se calculó mediante la siguiente fórmula: prevalencia cruda X # de niños totales en la delegación / # de niños representados por la muestra.



**CUADRO # 5. PREVALENCIA DE *Haemophilus influenzae* Y *Streptococcus pneumoniae* AISLADOS DE FARINGE EN NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA.**

MICROORGANISMO AISLADO	PREVALENCIA EN PRESENCIA DE IRA				
	PRESENTE n=201		AUSENTE n=372		p
	n	%	n	%	
<i>Haemophilus influenzae</i>	39	19.4	49	13.2	N.S.
tipo "b"	5	2.5	2	1.0	0.05
tipo a,c-f	2	1.0	1	0.5	N.S.
no tipificable	32	16.0	46	12.4	N.S.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	57	28.3	65	17.5	0.003

**CUADRO # 6. FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Haemophilus influenzae* Y SU DISTRIBUCIÓN POR GRUPO DE EDAD.**

GRUPO DE EDAD (meses) N =573	<i>Haemophilus influenzae</i>	
	n	%
02-11 (n = 77)	9	(12.0)
12-23 (n = 124)	11	(8.9)
24-35 (n = 87)	14	(16.1)
*36-47 (n = 114)	25	(22.0)
48-60 (n = 171)	29	(17.0)

\* p <0.05

**CUADRO # 7. FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Haemophilus influenzae* tipo "b" Y SU DISTRIBUCIÓN POR GRUPO DE EDAD.**

<b>GRUPO DE EDAD (meses) N =573</b>	<b><i>Haemophilus influenzae</i> tipo "b"</b>
	<b>n</b>
02-11 (n = 77)	0
12-23 (n = 133)	2
24-35 (n = 91)	1
36-47 (n = 115)	2
48-60 (n = 184)	2

p = N.S.

**CUADRO # 8. FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Streptococcus pneumoniae* Y SU DISTRIBUCIÓN POR GRUPO DE EDAD.**

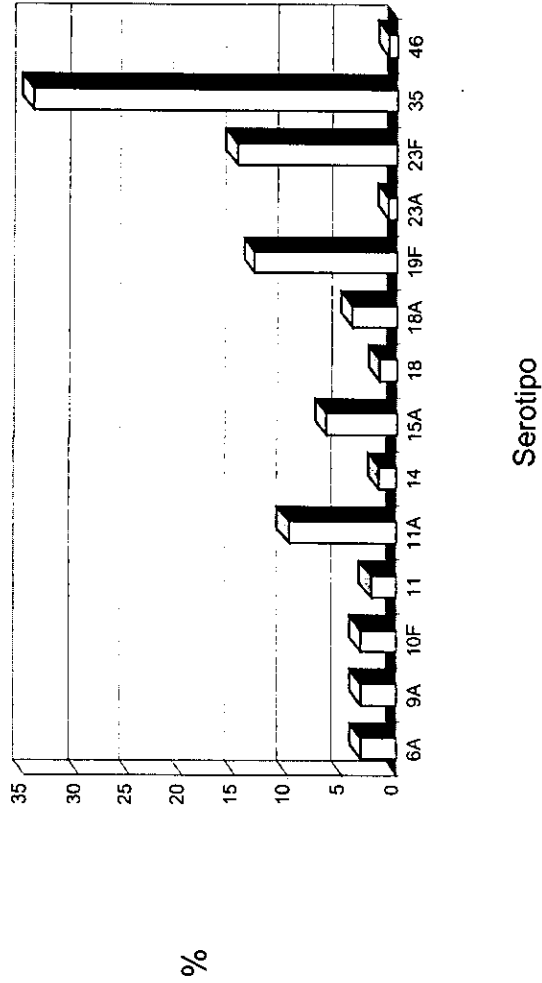
GRUPO DE EDAD (meses) N=573	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
	n	%
02-11 (n = 77)	10	(12.9)
12-23 (n = 124)	29	(23.3)
24-35 (n = 87)	18	(20.7)
36-47 (n = 114)	24	(19.7)
48-60 (n = 171)	41	(23.6)
p = N.S.		

**CUADRO # 9. FRECUENCIA DE BIOTIPOS DE *Haemophilus influenzae* DE ACUERDO A SU SEROTIPO.**

BIOTIPO	SEROTIPOS			
	"b"	a-c,f	no tipificable	%
I	1	0	0	1.1
II*	2	1	9	13.7
III	0	0	0	0.0
IV	0	0	0	0.0
V	0	0	4	4.5
VI	1	0	2	3.4
VII	0	0	1	1.1
VIII*	3	2	62	76.1
TOTAL	7	3	78	100

\* p<0.05

GRÁFICA 2. Serotipos de *Streptococcus pneumoniae* aislados de faringe de niños de 2 meses a 5 años de edad del Distrito Federal.



**CUADRO # 10. PATRÓN DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE**  
*Haemophilus influenzae* **NO TIPIFICABLE Y SEROTIPO a,c-f AISLADAS DE**  
**MUESTRAS DE FARINGE DE NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL**  
**DISTRITO FEDERAL.**  
**( n = 81)**

ANTIBIÓTICO	CMI50	CMI90	VALOR DE CORTE (mcg/ml)	% DE RESISTENCIA
AMPICILINA	< 0.25	< 0.25	2	0
PENICILINA	< 0.25	0.25	1	0
CLORANFENICOL	<0.25	1	4	0
AMOXICILINA CLAVULANATO	< 0.25	0.5	2	0
IMIPENEM	< 0.25	< 0.25	4	0
ERITROMICINA	0.5	2	2	0
VANCOMICINA	< 0.25	0.25	1	0
TMP/SMZ	0.5	1	4	0
CEFOTAXIMA.	< 0.25	0.25	1	0

**CUADRO # 11. PATRÓN DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA *Haemophilus influenzae* SEROTIPO "b" AISLADAS DE MUESTRAS DE FARINGE DE NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL DISTRITO FEDERAL.**  
( n =7)

ANTIBIÓTICO	CMi50	CMi90	VALOR DE CORTE (mcg/ml)	% DE RESISTENCIA
AMPICILINA	< 0.25	< 0.25	2	0
PENICILINA	< 0.25	0.25	1	0
CLORANFENICOL	<0.25	1	4	0
AMOXICILINA CLAVULANATO	< 0.25	0.5	2	0
IMIPENEM	< 0.25	< 0.25	4	0
ERITROMICINA	0.5	4	2	14.3
VANCOMICINA	< 0.25	0.25	1	0
TMP/SMZ	0.5	1	4	0
CEFOTAXIMA	<0.25	0.25	1	0



**CUADRO # 12. PATRÓN DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Streptococcus pneumoniae* AISLADAS DE MUESTRAS DE FARINGE DE NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL DISTRITO FEDERAL.**

( n = 122)

ANTIBIÓTICO	CMI50	CMI90	VALOR DE CORTE (mcg/ml)	% DE RESISTENCIA
AMPICILINA	1	2	4	0
PENICILINA	0.5	1	1 2	9.0* 3.3**
CLORANFENICOL	1	2	4	0
AMOXICILINA CLAVULANATO	2	4	2	12.3
IMIPENEM	< 0.25	< 0.25	2	0
ERITROMICINA	0.25	2	2	36.0
VANCOMICINA	< 0.25	< 0.25	0.5	0
TMP/SMZ	8	32	8	40.9
CEFOTAXIMA.	< 0.25	0.25	1	0
* sensibilidad disminuida. ** verdadera resistencia.				

**CUADRO # 13. FACTORES ASOCIADOS AL AISLAMIENTO FARÍNGEO DE *Haemophilus influenzae* NO TIPIFICABLE Y a,c-f EN NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL DISTRITO FEDERAL.**

**ANÁLISIS UNIVARIADO.**

VARIABLE	RM	IC(95%)	p
PRESENCIA DE NIÑO ENFERMO EN GRUPO ESCOLAR	4.7	2.8-7.8	0.000000
ASISTENCIA A GUARDERÍA O ESCUELA	3.5	2.0-6.1	0.000001
NIVEL SOCIOECONÓMICO ALTO	2.8	1.6-4.7	0.00004
ESCOLARIDAD MATERNA > 10 AÑOS	1.7	1.1-2.8	0.03
* PRESENCIA DE IRA AL MOMENTO DE TOMAR LA MUESTRA	1.7	1.1-2.8	0.03

\* esta fue la única variable con significancia estadística al analizar separadamente a los niños con Hib.

**CUADRO # 14. FACTORES ASOCIADOS AL AISLAMIENTO FARÍNGEO DE  
*Streptococcus pneumoniae* EN NIÑOS DE 2 MESES A 5 AÑOS DE EDAD DEL  
DISTRITO FEDERAL.**

**ANÁLISIS UNIVARIADO.**

VARIABLE	RM	IC(95%)	p
ASISTENCIA A GUARDERÍA O ESCUELA	3.8	2.3-6.1	0.0000000
PRESENCIA DE NIÑO ENFERMO EN GRUPO ESCOLAR	3.4	2.1-5.2	0.0000000
BAJO NIVEL SOCIOECONÓMICO	2.9	1.4-6.2	0.002
ESCOLARIDAD MATERNA ≤ 6 AÑOS	2.8	1.8-4.4	0.000001
OCUPACIÓN MATERNA FUERA DEL HOGAR	2.6	1.6-4.2	0.00003
PRESENCIA DE IRA AL MOMENTO DE TOMAR LA MUESTRA	1.9	1.2-2.9	0.004
EDAD MATERNA ≤ 25 AÑOS	1.8	1.2-2.9	0.007

**CUADRO # 15. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA *Haemophilus influenzae*.**

(MEJOR MODELO)

<b>Variable</b>	<b>RM</b>	<b>IC(95%)</b>
<b>PRESENCIA DE NIÑO ENFERMO DE IRA EN MISMO GRUPO ESCOLAR.</b>	<b>4.0</b>	<b>2.4-7.0</b>
<b>NIVEL SOCIOECONÓMICO ALTO</b>	<b>3.2</b>	<b>1.8-5.2</b>
<b>ASISTENCIA A GUARDERÍA O ESCUELA</b>	<b>2.6</b>	<b>1.3-4.3</b>

\* Estas 3 variables clasifican adecuadamente los casos con o sin *Haemophilus influenzae* en un 84.53%

**CUADRO # 15A. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA *Haemophilus influenzae* serotipo "b".**

(MEJOR MODELO)

<b>Variable</b>	<b>RM</b>	<b>IC(95%)</b>
<b>PRESENCIA DE IRA AL MOMENTO DE TOMAR LA MUESTRA</b>	<b>3.8</b>	<b>2.3-6.1</b>
<b>NIVEL SOCIOECONÓMICO ALTO</b>	<b>2.8</b>	<b>1.8-4.4</b>
<b>PRESENCIA DE NIÑO ENFERMO DE IRA EN MISMO GRUPO ESCOLAR.</b>	<b>1.9</b>	<b>1.2-3.0</b>

\* Estas 3 variables clasifican adecuadamente los casos con o sin *Haemophilus influenzae* serotipo "b" en un 98.49%.

**CUADRO # 16. MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA *Streptococcus pneumoniae*.**

(MEJOR MODELO).

<b>Variable</b>	<b>RM</b>	<b>IC(95%)</b>
ASISTENCIA A GUARDERÍA O ESCUELA	3.3	2.0-5.5
PRESENCIA DE NIÑO ENFERMO EN EL GRUPO	2.9	1.8-4.4
NIVEL SOCIOECONÓMICO BAJO	2.7	1.3-5.6
OCUPACIÓN MATERNA FUERA DEL HOGAR.	2.3	1.3-3.9
PRESENCIA DE IRA AL MOMENTO DE TOMAR LA MUESTRA.	2.1	1.2-3.6
EDAD MATERNA ≤ 25 AÑOS	2.0	1.2-3.3

\* Estas 6 variables clasifican adecuadamente los casos con o sin *Streptococcus pneumoniae* en el 79.92%.

## DISCUSIÓN:

Antes de discutir los resultados obtenidos en este estudio y su contraste con los reportes de investigaciones previas, abordaremos algunos aspectos importantes desde el punto de vista metodológico. Primeramente diremos que la muestra obtenida es realmente representativa de los menores de 5 años del Distrito Federal, lo cual se corroboró a través de la ponderación.

Lo anterior es importante ya que hasta el momento los estudios realizados sobre el mismo tema, que se han llevado a cabo en nuestro país, han sido realizados en grupos seleccionados, no representativos de lo que ocurre en toda la ciudad de México<sup>29-34</sup>.

En segundo lugar es conveniente enfatizar que se excluyó a los pocos niños que habían recibido una o más dosis de vacuna contra Hib, ya que se ha reportado que dicha vacuna reduce el estado de portador<sup>11-13, 15-16</sup>.

En tercer lugar y a diferencia de la mayoría de los estudios, no excluimos a los niños enfermos, con IRA o con antibióticos previos, lo que nos permitió analizar la asociación de dichas variables con la prevalencia del aislamiento.

En lo referente a la metodología de las técnicas utilizadas en el laboratorio, es importante destacar que se siguieron los criterios de la NCCLS<sup>39</sup> y que elegimos el método de dilución seriada en placa para determinar el patrón de sensibilidad antimicrobiana, ya que es un método cualitativo muy preciso en comparación con los sensidiscos empleados en la mayoría de los estudios.

Finalmente se debe mencionar que aunque el tamaño de la muestra que se obtuvo fue discretamente menor al calculado, nos permitió tener un poder de 80% y un alfa de 95%.

## PREVALENCIA DE AISLAMIENTO.

La prevalencia de aislamiento tanto de *Haemophilus influenzae* como de *Streptococcus pneumoniae* obtenida en este trabajo fue similar a la reportada en estudios previos realizados en países en desarrollo.<sup>2-4,11,25,27,,29,31-33</sup>

La proporción de cepas de *Haemophilus influenzae* con serotipo "b" también fue semejante a lo reportado en investigaciones previas<sup>3,4,7,8,10,13,15</sup>. Este germen es considerado un patógeno causante de enfermedades graves en la edad pediátrica, actualmente la frecuencia de dichas enfermedades ha disminuido en forma importante en algunos países de E.U.A. y Europa debido a la introducción de la vacuna conjugada contra dicho germen, por lo que se podría considerar como una práctica pediátrica el incluir la vacuna conjugada dentro del esquema de vacunación. Teníamos la impresión de que en la ciudad de México el porcentaje de niños inmunizados con esta nueva vacuna era mayor; sin embargo solo encontramos un 3.8%.

Las cifras encontradas para los serotipos: **a,c-f** y **no tipificables** coinciden también con los reportes hasta ahora existentes<sup>10,15-16</sup>.

El haber encontrado el biotipo VIII más frecuentemente en las cepas **no tipificables**, podría ser explicado en función de que tanto el biotipo como el serotipo son considerados como los de más baja virulencia, por lo que los niños pueden albergarlo por largo tiempo sin que ello les cause alguna sintomatología.

Por lo que respecta a los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados, todos



coinciden con los reportados en estudios previos<sup>9,17,20,21</sup>, con la excepción de los serotipos 35 y 46 los cuales no han sido reportados hasta ahora en nuestro país, pero es importante mencionar que dichos serotipos han sido reportados en muy baja frecuencia como hallazgos en estudios de vigilancia epidemiológica en Estados Unidos de América durante 1987-1988<sup>22</sup>. Y que el serotipo 46 ha sido clasificado como perteneciente a la población adulta<sup>27</sup>, por lo que es posible que las condiciones ambientales adversas incluyendo hacinamiento, favorezcan la transmisión de los serotipos propios del adulto a los niños, a través del contacto con los diferentes adultos que conforman su núcleo familiar.

Es importante recordar que actualmente existen dos vacunas polivalentes neumocócicas de las cuales una cubre 14 y otra 23 serotipos, de los 83 que caracterizan a este microorganismo; dichas vacunas fueron desarrolladas en base a los resultados reportados en investigaciones previas con el objeto de poder incorporar en ellas los antígenos capsulares más comunes, enfatizando que el serotipo 35 no está incluido en ninguna de las 2 vacunas existentes. Sin embargo, no debemos pasar por alto que las características de cada país y región son diferentes, y que los resultados obtenidos, marcan la pauta para que en nuestra población se realice una exhaustiva vigilancia epidemiológica que nos permita corroborar dichos reportes y de esa manera poder incluir más serotipos en el desarrollo de nuevas vacunas.

## PATRÓN DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

En el presente estudio las cepas de *Haemophilus influenzae* con serotipo a,c-f y no tipificable fueron sensibles a los nueve antibióticos probados; por lo que respecta a las cepas son serotipo “b”, el cual es clasificado como causante de enfermedad invasiva se debe hacer hincapié en que el número de cepas aisladas fue muy bajo, y que éstas presentaron solo un 14.3% de resistencia a eritromicina, cifra superior a lo reportado por Miranda y col<sup>33</sup>; y una sensibilidad del 100% para el resto de los antibióticos probados, con lo que es factible apoyar la decisión de continuar utilizando los antibióticos hasta ahora considerados de primera elección; es importante subrayar que en algunos hospitales pediátricos se prescribe el **cloranfenicol** como el antibiótico de primera elección en presencia de enfermedad invasiva causada por *Haemophilus influenzae*. lo cual con base a los resultados obtenidos continúa siendo una decisión terapéutica bien fundamentada.

La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* in vitro a penicilina se conoció desde los primeros años de la introducción de este antibiótico<sup>23</sup>, la resistencia a penicilina fue reportada por primera vez en Boston en 1965, posteriormente en Australia en 1967 y Sudáfrica en 1977; a partir de ese momento los reportes sobre cepas resistentes han aumentado en diversos países del mundo, tanto en aislamientos clínicos como en portadores.<sup>20,22-24</sup>

En la actualidad la resistencia de dicho germen ocupa un lugar prioritario a nivel mundial<sup>24</sup>, así como por el espectro cada vez mayor de fármacos que se incluyen en la multiresistencia<sup>25</sup>; esto plantea un reto para la selección de

antimicrobianos en el caso de pacientes con infecciones graves como meningitis, neumonía y septicemia.

Cabe mencionar que la resistencia encontrada para penicilina y amoxicilina-clavulanato fue similar a la reportada en otras investigaciones<sup>33,34</sup>; sin embargo, eritromicina y trimetoprim-sulfametoxazol mostraron una resistencia mayor a la reportada por estos mismos autores; la elevación de dicha resistencia podría tener su razón de ser en el hecho de que la mayoría de las infecciones respiratorias agudas aún cuando son leves son tratadas con antimicrobianos, y que de acuerdo al patrón cultural existe una tendencia a la automedicación por parte de las madres, es probable que dicha situación juegue un papel muy importante en la aparición de cepas resistentes.

Con los resultados encontrados en este estudio puede apoyarse la decisión de continuar utilizando los antibióticos hasta ahora considerados de primera elección: ampicilina en infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* no tipificable y cloranfenicol en infecciones graves causadas por *Haemophilus influenzae* tipo "b"; así como penicilina en infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae*.

Deben realizarse estudios clínicos para evaluar la verdadera resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol.

## FACTORES ASOCIADOS AL AISLAMIENTO.

En algunos países en desarrollo se han realizado investigaciones cuyo centro de atención han sido las **infecciones respiratorias agudas** como problema importante de salud pública, con la finalidad de identificar los factores asociados a la alta morbi-mortalidad que provocan, los cuales han sido abordados en múltiples estudios con enfoque epidemiológico<sup>2,4,9,28</sup>.

Sin embargo, actualmente en nuestro país no se cuenta con estudios que aborden los factores asociados al aislamiento de los dos principales microorganismos involucrados en dichas infecciones como lo son: *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

En este trabajo, los factores estudiados cuya asociación más significativa en función de la presencia de *Haemophilus influenzae* y/o *Streptococcus pneumoniae* fue la asistencia del niño a la guardería o escuela, el contacto con un niño enfermo y la presencia de IRA en el momento de tomar la muestra.

El primer hallazgo es consistente con lo reportado en trabajos previos<sup>41-42</sup>, por dicha razón es importante señalar que en las dos últimas décadas una de las tendencias demográficas de mayor impacto en los niños, sus familias y la sociedad, ha sido el aumento de la participación de la mujer en la fuerza productiva a través del desempeño de alguna labor fuera del hogar. Esta tendencia parece irreversible y está íntimamente relacionada con el inevitable incremento en la proporción de niños que cada vez a edad más temprana son cuidados fuera del hogar. Es bien sabido que una de las enfermedades infecciosas más comunes en los menores de 5 años son las infecciones respiratorias agudas<sup>2,4,9</sup>, y que éstas pueden incrementarse cuando los

menores son sometidos a ambientes diferentes al de su hogar, como es el caso de los centros de desarrollo infantil o guarderías.

Respecto al segundo factor que fue la presencia de un niño enfermo de infección respiratoria aguda en el mismo grupo escolar de aquéllos que asistían a la guardería o escuela; se conoce que el mayor número de contactos con otros niños favorece la posibilidad de transmisión de agentes causales, lo cual aumenta cuando existen otros niños enfermos; los mecanismos de transmisión de las enfermedades respiratorias son principalmente a través del contacto directo<sup>20</sup>, el contacto físico cercano con otros niños y sus conductas exploratorias, las cuales propician el intercambio de secreciones, así como el contacto de las manos a las mucosas tales como la de la boca y nariz.

Respecto al tercer factor se debe enfatizar que en el caso de *Streptococcus pneumoniae* el haber encontrado la presencia de infección respiratoria aguda al momento de tomar la muestra, como un factor asociado a mayor prevalencia de aislamiento es muy importante; ya que el estado de portador se ha correlacionado con la aparición de enfermedad clínica, reportando que uno de cada 6 niños colonizados desarrollará una enfermedad por dicho germen<sup>17</sup>.

Un hallazgo relevante fue encontrar que en el caso de *Haemophilus influenzae* el nivel socioeconómico alto resultó ser un factor asociado a una mayor prevalencia de aislamiento; esta situación nos permite deducir que tal vez los anticuerpos producidos por las cepas de *Escherichia coli* que generalmente se encuentran colonizando el intestino de los menores de 5 años, juegan un papel

importante en función del efecto protector que confiere contra dicho microorganismo<sup>14</sup>, y quizá la justificación de dicho hallazgo sea tan simple como pensar que los niños que pertenecen a dicho nivel social son desde temprana edad inmersos en un ámbito cultural y educacional donde los hábitos de limpieza y comportamiento son totalmente diferentes a los de un niño que pertenece a un nivel socioeconómico bajo, en los cuales no es sorprendente haber encontrado dicho nivel como factor asociado a mayor prevalencia de aislamiento de *Streptococcus pneumoniae*, para dicho microorganismo también se encontró como factores asociados la baja escolaridad materna, edad materna menor o igual a 25 años; datos consistentes con lo reportado por el BOSTID en estudios desarrollados en países de América Latina tales como Uruguay, Argentina y Colombia entre otros, dichos factores se han asociado a una mayor morbilidad y mortalidad causada por IRA en menores de 5 años<sup>2,4,9,28</sup>.

## CONCLUSIONES.

- 1.- La prevalencia encontrada tanto para *Haemophilus influenzae* como para *Streptococcus pneumoniae* en aislamientos de exudado faríngeo de menores de 5 años fue similar a la reportada en otros países en desarrollo.
- 2.- Los biotipos y los serotipos de *Haemophilus influenzae* y de *Streptococcus pneumoniae* más frecuentemente identificados fueron los esperados de acuerdo a lo reportado en investigaciones previas, tanto en nuestro país como en otras partes del mundo, con la excepción del serotipo 35 del cual hasta ahora no se tienen reportes en nuestro país, y se ha identificado en una baja prevalencia en otros países.
- 3.- No se encontró resistencia de **HiNT** y serotipo **a,c-f** a los antimicrobianos probados y **Hib** solo mostró resistencia a eritromicina. Para *S. pneumoniae* la resistencia a penicilina es todavía baja, por lo que este antimicrobiano se puede seguir utilizando como antibiótico de primera elección. En cambio, la resistencia a TMP/SMZ fue muy elevada.
- 4.- Tanto para *H. influenzae* como para *S. pneumoniae* la presencia de IRA en el momento de tomar la muestra o el contacto con un niño enfermo o la asistencia a guardería mostraron asociarse en forma significativa a una mayor prevalencia de aislamiento de dichos microorganismo en faringe.
- 5.- El nivel socioeconómico bajo se asoció significativamente con mayor frecuencia de aislamiento de *S. pneumoniae*, como parece lógico; pero en cambio para *H. influenzae*, la mayor prevalencia de aislamiento se asoció con un nivel socioeconómico alto,

## LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

1.- A pesar de las publicaciones que apoyan la semejanza entre los biotipos, serotipos y el patrón de sensibilidad antimicrobiana de las cepas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* aisladas de exudado faríngeo con las cepas obtenidas de especímenes clínicos de pacientes infectados por estos dos microorganismos, no es posible extrapolar los resultados de este estudio en forma absoluta a lo que sucede en el niño enfermo.

2.- No conocemos y no se realizó tampoco en este estudio, la sensibilidad y especificidad del exudado faríngeo para el aislamiento de cepas de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. A pesar de que se ha referido que dicha sensibilidad es aproximadamente de un 85 a 90%, existen en la actualidad técnicas de identificación de antígenos como por ejemplo PCR que permiten saber con mayor sensibilidad y especificidad cuales son los niños verdaderamente positivos o negativos a los microorganismo aislados.

3.- No se practicaron cultivos cuantitativos que posiblemente pudieran explicar mejor la dinámica de las asociaciones con los factores estudiados.

4.- No se realizó determinación de anticuerpos séricos específicos contra el material de las cápsulas de *Haemophilus* y *Streptococcus*, para correlacionarlos con la prevalencia del estado de portador.



## RECOMENDACIONES PARA INVESTIGACIONES FUTURAS.

1.- Realizar un estudio prospectivo en cepas de *Streptococcus pneumoniae* identificados de aislamientos clínicos para corroborar la presencia de una prevalencia elevada del serotipo 35, apoyado lo anterior por un estudio serológico en donde se demuestre la presencia de anticuerpos específicos contra este serotipo en adultos jóvenes.

Todo lo anterior apoyaría la necesidad de modificar las vacunas que actualmente existen en forma comercial, incorporando antígenos contra el serotipo antes mencionado.

2.- Realizar ensayos clínicos para tratar de describir o corroborar la alta resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a TMP/SMZ encontrada en este trabajo.

3.- Llevar a cabo un estudio de cohorte sobre la evolución de los niños de los niveles séricos de anticuerpos capsulares de *Haemophilus influenzae* serotipo "b" y de *Streptococcus pneumoniae* a través de los meses, desde el nacimiento hasta los 2 años de edad.

En este estudio se debe estratificar a los niños por nivel socioeconómico, incluyendo forma más específica las condiciones higiénicas.

4.- Es conveniente evaluar la respuesta serológica y clínica a diferente número de dosis de vacuna contra Hib en niños de diferentes estratos sociales, con el fin de encontrar el número mínimo conveniente de dosis que logran una protección adecuada.

5.- Es conveniente realizar estudios cuantitativos sobre la flora bacteriana de faringe de niños sanos y de niños enfermos con IRA, así como de niños con una meningitis o neumonía, con el fin de profundizar en la fisiopatogenia de estas enfermedades.

Igualmente pueden investigarse las alteraciones morfológicas y funcionales de la mucosa respiratoria ante una infección viral para identificar si es que esto realmente favorece la invasión de bacterias que se encuentran en faringe, tales como los microorganismos antes mencionados.

**BIBLIOGRAFÍA.**

- 1.- Berman S.: Epidemiology of Acute Respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis.* 1991; 163: 644-46.
- 2.- Chhabra P, Garg S, Mittal K, et. al.: Magnitude of acute respiratory infections in underfives. *Ind. Pediatric.* 1993; 30: 1315-19.
- 3.- Moxon R. *Haemophilus influenzae*. En: Mandell L, Douglas G, Benett E, ed.: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone Inc. 1990: 1820-28.
- 4.- Tupasi E, Velmonte A, Sanvístores E, Abraham, et. al.: Determinants of morbidity and mortality due to acute respiratory infections: Implications for interventions. *J Infect Dis.* 1988; 157: 615-23.
- 5.- Perfiles estadísticos # 8. MORTALIDAD 1993. Series Monográficas. Dirección General de Estadística e Informática. DGE.SSA.
- 6.- Ward I, Fraser W, Baraff J, Plikaytis D.: *Haemophilus influenzae* meningitis: A National Study of Secondary Spread in Household contacts. *N Engl. J Med.* 1979; 301:122-26.
- 7.- Brook I.: Microbiology of empyema in children and adolescents. *Pediatric.* 1990; 85:722-26.
- 8.- Welkon J, Long S, Fisher C, Alburger D.: Pyogenic arthritis in infants and children: a review of 95 cases. *Pediatric Infect Dis J.* 1986; 5: 669-75.
- 9.- Wood R, Lohr A, Hendley O.: *Haemophilus influenzae* meningitis in older children. *Am J Dis Child.* 1990; 144:1287.
- 10.- Stjernquist-Desatnik A, Prellner K, Schalen C.: High recovery of *Haemophilus influenzae* and group A Streptococci in recurrent tonsils infection or hypertrophy as compared with normal tonsils. *J Laryngeal Otol.* 1991; 66: 437-40.
- 11.- Janai H, Stutsan R, Marks L.: Invasive *Haemophilus influenzae* type b infections: a continuing challenge. *Am J Infect Control.* 1990;18:160-66.
- 12.- Peltola H, Kilpi T, Anttila M.: Rapid disappearance of *Haemophilus influenzae* type b meningitis after routine childhood immunization with conjugate vaccines. *Lancet* 1992; 340: 592-594.

- 13.- Schreiber R, Boxenbaum B, Morrisey B.: Decline of Haemophilus disease in Cleveland. *Pediatric Infect Dis J.* 1992; 11: 779-80.
- 14.- Rojas W.: Antígenos Inmunógenos. En: *Inmunología*. Ed. Fondo Educativo Interamericano. 1985 pp: 143, 519.
- 15.- Mastro D, Nomani K, Phil M.: Use of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* from children in Pakistan for surveillance for antimicrobial resistance. *Pediatric Infect Dis J.* 1993, 12: 824-830.
- 16.- De Maria T, Lim J, Barnisham J, Agers L, Bick H.: Biotypes of serological nontypable *Haemophilus influenzae* isolated from the middle ear and nasopharynx of patients with otitis media with effusion. *J. Clin Microbiol.* 1984; 26:1102-4.
- 17.- Musher M.: Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: Clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. *Clin Infect Dis.* 1992; 14: 801-09.
- 18.- Faden H, Brodsky L, Waz J, Stanievich J, Bernstein M, Ogra L.: Nasopharyngeal flora in the first three years of life in normal and otitis-prone children. *Ann Otol. Rhino Laryngeal.* 1991; 100:612-15.
- 19.- Shann F, Germer S, Hazlett D, Gratten M, Linneman V.: Etiology of pneumonia in children in Goroka Hospital, Papua New Guinea. *Lancet.* 1984; 2:537-41.
- 20.- Moletni A.: Otitis Media: Report of 72 cases a review of the literature. *Pediatric.* 1976; 58:526-31.
- 21.- Gary M, Converse M, Huhta O, Johnston B.: Epidemiological Studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: antibody response to nasopharyngeal carriage of types 3, 19 and 23. *J. Infect. Dis.* 1981, 144: 312-8.
- 22.- Gray G.: Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* causing disease. *J Infect Dis.* 1979; 140: 979-983.
- 23.- Spika S, Facklam R, Plikaytis D.: The pneumococcal surveillance working group.: Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *J Infect Dis.* 1991; 163: 1273-78.
- 24.- Mason D, Kaplan L, Lamberth B, Tillman J.: Increased rate of isolation of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a children's hospital and in vitro susceptibilities to antibiotics of potential therapeutic use. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36:1703-07.

- 25.- Jacobs R, Koornhof J, Robins-Browse M, Stevenson M, Vermaar A.: Emergence of multiply resistant pneumococci. *N Engl. J Med.* 1978; 299:735-40.
- 26.- IRA. Vigilancia de la resistencia de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* a los agentes antimicrobianos. Ginebra. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. 1990.
- 27.- Guiscafré H, García M, Calderón J, et. al.: Frecuencia de *Haemophilus* resistente a ampicilina y de *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina en portadores sanos. *Arch Invest Med.* 1981; 12:141-51.
- 28.- Trejo A, Guiscafré H, García M, Calderón J. et. al.: Sensibilidad de *Haemophilus influenzae* a la ampicilina y al cloranfenicol en niños de la ciudad de Médico. *Bol. Med Hosp Infant (Mex).* 1981; 38: 79-85.
- 29.- Moreno I, Sosa E, Giono S, Chávez E, Valdespino J.: Portadores de *Haemophilus influenzae*. XVII reunión Anual de la Asociación Mexicana de Infectología (poster 67-5), Huatulco, Oaxaca, México. 1992.
- 30.- Villaseñor A, Ávila C, Santos JI.: Impacto de las infecciones por *Haemophilus influenzae* en niños mexicanos. *Bol. Med Hosp Infant (Mex).* 1993; 50: 415-21.
- 31.- Miranda G, Solórzano F, Velázquez R, Leaños B, Villasis M, Guiscafré H.: Características de los aislamientos de *Haemophilus influenzae* de portadores asintomáticos en edad pediátrica y su relación con resistencia a antimicrobianos. *Bol. Med Hosp Infant (Mex).* 1995; 52: 148-53.
- 32.- Calderón E, Echániz G, Conde C, Rivera R, Barriga G, Solórzano F, Gil J.: resistencia y serotipificación de 83 cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas de niños portadores asintomáticos y enfermos. *Bol. Med Hosp Infant (Mex).* 1993; 50(12): 854-60.
- 33.- Stanek J, Wafula M, Onyango E, Musia J.: Characteristic related to the incidence and prevalence of acute respiratory tract infections in young children in Kenya. *Clin Infect Dis.* 1994; 18: 639-47.
- 34.- Victora CG y col.: Risk factors for deaths due to respiratory infections among Brazilian infants. *Int. Journal of Epidemiology.* 1989, 18:918-925.
- 35.- Kish and Leslie.: *Survey Sampling.* Ed. John Wiley & Sons. New York. 1965.
- 36.- Stanley L.: The two-sample problem. En: *Adequacy of sample size in health studies.* Ed. John Wiley & Sons. 1990 pp: 9-15.

- 37.- Hamill PW, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF.: NCHS growth curves for children birth-18 years. Unites States Vital and Health Statistics. Washington. DC: Government Printing Office. 1977:74. Department of Health Statistics Education and Welfare Publication PHS. 1977;78:1650.
- 38.- Bronfman M, Guiscafré H, Castro V, Castro R, Gutiérrez G.: La medición de la desigualdad: una estrategia metodológica, análisis de las características socioeconómicas de la muestra. Arch Invest Med. 1988; 19:35160.
- 39.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality Control ranges of MIC's for reference strains. NCCLS. 1988; 1-117.
- 41.- Ponka A, Nurmi T, Salminen E, Nykyri E.: Infections and other illness of children in day-care centers in Helsinki Y: incidences and effects of home and day-care centers variables. Infection 1991;19:230-236.
- 42.- Collet JP, Burtin P, Krammer MS y col.: Type of day-care setting and risk of repeated infections. Pediatrics 1994;94(2 Pt2): 997-999.
- 43.- Sosa E, Giono S, Escobar A.: Manual de procedimientos para el aislamiento e identificación de Haemophilus influenzae. Publicación Técnica del INDRE # 19. México, D.F. INDRE. 1992.

## ANEXO 1.

### AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN.

#### CULTIVO DE FARINGE

El procedimiento correcto para obtener una adecuada muestra de exudado de faringe consiste en colocar al paciente sentado, inclinar su cabeza hacia atrás y pedirle que abra la boca. Se observa su garganta utilizando una buena iluminación, se empuja la lengua hacia abajo de modo que pueda observarse la parte posterior de la garganta. Se frota el hisopo de arriba a abajo contra la parte posterior de la garganta y contra cualquier mancha blanca que se encuentre en las amígdalas. Debe evitarse que el hisopo toque la lengua.

#### TRANSPORTE DEL PRODUCTO

Para la búsqueda de *H. influenzae* y *S. pneumoniae* puede utilizarse el medio de transporte de Cary-Blair en el cual el hisopo puede permanecer no más de 2 horas a temperatura ambiente (precaución: nunca congelarla o refrigerarla) Este medio está diseñado para preservar la viabilidad de bacterias durante su transporte.

#### AISLAMIENTO DE *Haemophilus influenzae*.

El aislamiento primario de las especies de *Haemophilus* a partir de muestras de faringe se llevo a cabo mediante el empleo de medios que contengan los factores X y V como: **Gelosa chocolate enriquecida.**

## IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Haemophilus*

Una vez demostrado que se trata de bacterias Gram-negativas sospechosas de tratarse de *Haemophilus*, para confirmar y diferenciar las especies de importancia clínica se utilizaron varios tipos de pruebas.

Las primeras características que se determinan son:

- 1.- Requerimientos de factores X y V
- 2.- Reacciones hemolíticas en sangre de caballo o conejo.
- 3.- Requerimiento de tensión de CO<sub>2</sub>.

Las cepas capsuladas de *Haemophilus* se pueden identificar rápidamente por tipificación serológica.

## DETERMINACIÓN DE REQUERIMIENTOS DE FACTORES X Y V.

La característica más distintiva de *H. influenzae* es el requerimiento para crecer de factor X (hemina) y factor V (NAD) y utilizamos: Crecimiento satélite (satelitismo) a colonias de *Staphylococcus aureus*.

### SATELITISMO A COLONIAS DE *Staphylococcus aureus*

- 1.- Se inoculó una placa de gelosa sangre y otra de agar soya tripticaseína con la cepa sospechosa de *H. influenzae* y se extendió sobre las superficies en estrías muy cerradas.
- 2.- Con una suspensión muy concentrada de *Staphylococcus aureus* se sembró una estría única a la mitad de cada placa (se recomienda que la cepa de *S. aureus* sea hemolítica).



3.- Se incubaron a 35°C con tensión de CO<sub>2</sub> durante toda la noche y se buscó el crecimiento de colonias típicas de *H. influenzae* en la cercanía de las estrías de *S. aureus*.

#### **AISLAMIENTO DE *Streptococcus pneumoniae*.**

Para aislar *Streptococcus pneumoniae* se emplearon medios enriquecidos con sangre al 5%, ya que la reacción hemolítica del neumococo es una prueba específica para su identificación. Se empleó el medio **Gelosa sangre de carnero**, para obtener un crecimiento máximo se hizo un subcultivo de la colonia aislada en caldo soya-tripticosa incubando a 35°C por 18 a 24 horas. La identificación se hizo mediante morfología de colonias, observación parcial de hemólisis y solubilidad en bilis y sensibilidad a la optoquina.

Los neumococos forman colonias pequeñas y redondas que desarrollan una meseta central con bordes elevados y alfa hemólisis en gelosa sangre, el crecimiento se intensifica en presencia de CO<sub>2</sub>.

La serotipificación se realizó a través de la Reacción Quellung (hinchazón de la cápsula), prueba efectuada en el Instituto Nacional de Salud Pública.

#### **PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN BILIS.**

Se utilizó específicamente para identificar *Streptococcus pneumoniae* las sales biliares que son sales sódicas de los ácidos biliares sintetizadas del colesterol, las utilizadas en las pruebas de solubilidad son: desoxicolato de sodio o taurocolato de sodio, éstas hacen descender la tensión superficial en la interfase

medio-membrana, provocando una descomposición de la membrana celular. El neumococo produce una enzima intracelular autolítica (autolisina) que hace que el organismo sufra lisis.

**NOTA:** Todas las cepas aisladas de *Streptococcus pneumoniae*, identificadas con las pruebas antes descritas, fueron sometidas a coagulación para su confirmación.

**ANEXO 2.****BIOTIPIFICACIÓN DE *Haemophilus influenzae*.****PRUEBA DE INDOL.**

El sustrato es L-triptófano 0.1% en buffer fosfato 0.5M a pH 6.8, después de la incubación durante 4 horas, añadir 1 volumen de reactivo de Kovacs y agitar la mezcla. El color rojo en la fase superior del alcohol indica la presencia de **INDOL**.

**PRUEBA DE UREASA.**

El sustrato es 0.1 g. de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 g. de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.5 g. de NaCl y 0.5 ml. de rojo fenol 1:500 (disolver 0.2 g. de rojo fenol en NaOH, añadir agua destilada hasta 100 ml.). Ajustar el pH a 7.0 con NaOH, pasar por autoclave y añadir 10.4 ml. de una solución acuosa de urea al 20% esterilizada en filtro.

El color rojo que aparece dentro de las 4 horas indica actividad de **UREASA**.

**PRUEBA DE ORNITINA DESCARBOXILASA.**

La descarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo.

El desarrollo de un color púrpura en 4 a 24 horas, indica actividad de **ornitina descarboxilasa**.

**BIOTIPIFICACIÓN DE *Streptococcus pneumoniae* .****HINCHAMIENTO CAPSULAR (QUELLUNG).**

Se basa en la reacción in situ de los anticuerpos con el antígeno capsular, que provoca que ésta se vea como si estuviera hinchada, debido a que la reacción antígeno-anticuerpo modifica el índice de refracción capsular.

- 1.- Se mezclan cantidades aproximadamente iguales de la muestra que puede contener la bacteria, con antisuero anti *S. pneumoniae* tipo específico.
- 2.- Se agrega una gota de azul de metileno como colorante de contraste, se mezcla y se observa al microscopio óptico con objetivo 100X.
- 3.- Si la reacción es positiva, las cápsulas aparecen muy prominentes, comparadas con las de la misma muestra mezclada solamente con solución salina y azul de metileno (control negativo).

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

**ANEXO 3.****MÉTODO DE DILUCIÓN EN PLACA PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS.****Preparación de las diluciones de antibióticos.**

Preparar diluciones de las soluciones de antibióticos STOCK a manera de poder agregar un volumen conveniente de 100 ml. de agar para obtener las concentraciones deseadas en la placa. Por ejemplo para obtener una placa con 8 mcg/ml. se agregan 0.8 ml. de una solución madre o stock de 1000 mcg/ml. a 100 ml. de agar fundido y enfriado, y luego se prepara la placa. Para simplificar el procedimiento se prefiere aumentar en volumen en cada paso de dilución o usar únicamente una cantidad limitada de concentraciones para cada droga.

**Preparación de las diluciones en placa.**

Hacer fundir y enfriar una cantidad suficiente de agar según el número de placas que se desee preparar ( para una placa de 90 mm. de diámetro se precisan alrededor de 20 ml. del medio y mantener a Baño María a 50°C antes de agregar las drogas, añadir entonces la cantidad necesaria de las diferentes diluciones a cada frasco, mezclar por inversión y vaciar en las placas. Dejar solidificar el agar y guardar en el refrigerador a 5°C hasta el momento de su empleo.

**Inoculación de las placas.**

El inóculo contendrá aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  microorganismos/ml. equivalente a un estándar de 0.5 de McFarland), esto asegurará el crecimiento denso, casi confluyente. En una placa de control que no contenga antibiótico, se efectúa la inoculación en puntos de la placa con un replicador de Steer.

**Incubación y Lectura de las placas.**

Incubar las placas a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 16-20 horas y examinar el crecimiento, se toma como punto límite la concentración mínima de antibiótico que produzca la completa inhibición del crecimiento. No se tomará en cuenta un crecimiento escaso o cuando se observen una o dos colonias. Los cultivos de control en medio sin antibiótico presentarán siempre un crecimiento confluyente. Para establecer el procedimiento de dilución y para evaluar los resultados de estas pruebas hay que considerar una serie de factores que comprenden: el medio en el cual se realizan las pruebas, la estabilidad de la droga, el tamaño del inóculo, la rapidez del crecimiento de los microorganismos y el periodo de incubación de las pruebas.

**ANOTACIONES:**