

Artículo original

Bacterias patógenas aisladas en la nasofaringe de niños indígenas warao. Estado Sucre, Venezuela

Karen Antón, Militza Guzmán Lista*, Elsa Salazar de Vegas, Luzmila Albarado Ysasis, Yasmina Araque,
José Betancourt

Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Bacteriología Clínica. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Cumaná, Venezuela.

Recibido 26 de mayo de 2011; aceptado 30 de octubre de 2011

Resumen: Para determinar la frecuencia de bacterias patógenas y su susceptibilidad antimicrobiana en muestras nasofaríngeas de niños indígenas waraos de la comunidad María López, municipio Benítez del estado Sucre, con edades comprendidas entre 0 y 10 años, se procesaron 49 muestras recolectadas durante el periodo enero-marzo de 2008. La identificación bacteriana se realizó aplicando estudios bacteriológicos convencionales y la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco, siguiendo lineamientos del Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI). Los resultados indicaron la presencia de *Moraxella catarrhalis* (28,6%), *Streptococcus pneumoniae* (26,5%), *Staphylococcus aureus* (14,3%) y *Haemophilus influenzae* (6,1%) en niños con y sin sintomatología. Las bacterias patógenas aisladas del tracto respiratorio superior fueron más frecuentes en el grupo de 0 a 5 años de edad, identificándose, principalmente, *S. pneumoniae*. Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, *S. pneumoniae* mostró resistencia a tetraciclina (46,2%), trimetoprim-sulfametoxazol (38,5%), clindamicina (33,3%) y penicilina (23,1%). Los aislados de *S. aureus* expresaron sensibilidad a todos los antimicrobianos ensayados. El total de aislados de *M. catarrhalis* mostró resistencia a ampicilina y penicilina, además, resultaron productores de β -lactamasas. La presencia de bacterias patógenas a nivel nasofaríngeo en la población infantil, representa un riesgo para el desarrollo de infecciones severas del tracto respiratorio.

Palabras clave: Warao, patógenos respiratorios, nasofaringe.

Pathogenic bacteria isolated from the nasopharynx of indigenous Warao children. Sucre state, Venezuela

Abstract: We collected and processed 49 nasopharynx samples taken from indigenous Warao children 0-10 years old who lived at the María Lopez community of the Benitez Municipality at Sucre State, with the purpose of determining the frequency of pathogenic bacteria and their antimicrobial sensitivity in samples collected from these children during the January-March 2008 period. The bacterial identification was obtained by applying conventional bacteriological methods and the antimicrobial sensitivity was determined by the disc diffusion method, following the guidelines of the Clinical Laboratory Standards Institute. The results showed presence of *Moraxella catarrhalis* (28.6%), *Streptococcus pneumoniae* (26.5%), *Staphylococcus aureus* (14.3%) and *Haemophilus influenzae* (6.1%) in children with and without symptoms. The pathogenic bacteria isolated from the upper respiratory tract were more frequent in the 0-5 year old group and the most frequent identification was *S. pneumoniae*. Regarding antimicrobial sensitivity, *S. pneumoniae* was resistant to tetracycline (46.2%), trimetoprim-sulphametoxazol (38.5%), clindamycin (33.3%) and penicillin (23.1%). The *S. aureus* isolates were sensitive to all the antimicrobials studied. All the *M. catarrhalis* isolates were resistant to ampicillin and penicillin and were also β -lactamase producers. The presence of pathogenic bacteria at the nasopharynx level in child populations signifies a risk for the development of severe respiratory tract infections.

Keywords: Warao, respiratory pathogens, nasopharynx.

* Correspondencia:
E-mail: miltzaguz@yahoo.es

Introducción

Las infecciones respiratorias representan uno de los

síndromes más frecuentes en la población infantil a nivel comunitario. El tracto respiratorio superior es colonizado en forma temprana por una gran variedad de bacterias tales

como *Streptococcus* del grupo viridans, *Streptococcus* no hemolíticos y difteroides; en forma transitoria, pueden prevalecer patógenos como *H. influenzae* tipo b (Hib) y *H. influenzae* no tipificable (Hint), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Neisseria meningitidis* [1,2].

Los portadores nasofaríngeos de bacterias patógenas constituyen el reservorio natural de las infecciones del tracto respiratorio. En el estado de portador, las bacterias son adquiridas y transportadas por el individuo en un período de semanas o meses; no obstante, cuando ocurren alteraciones del equilibrio hospedero-patógeno, ocasionados por infecciones virales, desnutrición, daño local de la mucosa, falta de vacunación y hacinamiento, la colonización nasofaríngea, da paso al establecimiento de la enfermedad [3-5].

Los porcentajes de portadores de patógenos bacterianos varían de un país a otro, y han sido relacionados con antecedentes genéticos y con ciertas condiciones, como por ejemplo el tipo de vivienda que habitan, acceso a centros de salud, hábitos de higiene, la etnia, estación del año, hacinamiento, familias numerosas, entre otras [2].

La etnia Warao es uno de los grupos indígenas más numerosos del país, conformada por 33.000 individuos, aproximadamente, que habitan desde hace siglos en los caños del estado Delta Amacuro y sus adyacencias, así como en algunas partes de los estados Monagas, Sucre y Bolívar [6]. Debido a su forma de vida, costumbres y tradiciones, y principalmente, el grado de hacinamiento, han sido susceptibles a adquirir ciertas enfermedades, como infecciones respiratorias agudas y tuberculosis, ambas consideradas como sus principales causas de morbilidad y mortalidad [7].

Las infecciones respiratorias agudas representan un problema de salud pública, especialmente, por contribuir a elevar los índices de morbi-mortalidad infantil. Anualmente, se reportan en América, aproximadamente, 60 mil muertes en niños menores de 5 años, ocasionadas por infecciones en el tracto respiratorio, siendo la neumonía la causa más frecuente; sin embargo, existen escasos datos que revelen la presencia de patógenos respiratorios en comunidades indígenas en América.

Los estudios enfocados a determinar los posibles agentes bacterianos causantes de infecciones respiratorias a nivel nacional, se han llevado a cabo, en la mayoría de los casos, en poblaciones escolares, trabajadores del área de salud, guarderías, entre otros, pero han sido pocos los realizados en las comunidades indígenas venezolanas, sobre todo en la etnia Warao, la cual representa el segundo grupo indígena más numeroso del país. Al respecto, Del Nogal y col. llevaron a cabo un estudio para determinar el estado de portador y la prevalencia de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años residentes en las comunidades indígenas de San Francisco de Guayo, Nabasanuka y Santa Catalina del estado Delta Amacuro, el estudio mostró que de 110 niños evaluados, el 42,7% estaba colonizado con *S. pneumoniae* [8].

Rivera *et al* [7] reportaron 45,0% de niños warao menores de 6 años portadores de *S. pneumoniae* en 9 comunidades indígenas ubicadas en el estado Delta Amacuro. La tipificación del microorganismo reveló que los serotipos prevalentes fueron 23F y 6A, los cuales presentaron resistencia a penicilina, tetraciclina y eritromicina.

Tomando en consideración que en la población indígena Warao del estado Delta Amacuro se han determinado con frecuencia portadores de *S. pneumoniae* y que las infecciones respiratorias agudas representan un problema de salud pública, especialmente por contribuir a elevar los índices de morbi-mortalidad infantil, se planteó como objetivo evaluar la presencia de bacterias patógenas en muestras nasofaríngeas de niños indígenas warao, en edades de 0 a 10 años que habitan en la comunidad María López, municipio Benítez, del estado Sucre.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la comunidad María López, ubicada en las adyacencias del pueblo de Guariquén, municipio Benítez, al sureste del estado Sucre. De acuerdo al censo realizado en esa población durante el mes de noviembre de 2007 (Encuesta aplicada a cada representante de la familia), en la comunidad habitaban 126 individuos, de los cuales 58 eran niños menores de 10 años.

La muestra estuvo representada por 49 niños (28 masculinos y 21 femeninos) con edades comprendidas entre 0 a 10 años (distribuidos en dos grupos: 0 a 5 años y 6 a 10 años), habitantes permanentes de la comunidad Warao María López. Para la participación en el estudio, se solicitó el consentimiento informado de los representantes, para tal fin, se contó con miembros de la comunidad, quienes, en su lengua nativa, explicaron los objetivos y la importancia del estudio. Para este estudio, se consideraron las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki, ratificada por la 52ª Asamblea General, Edimburgo-Escocia, en el año 2001 [9].

Recolección de las muestras: De cada niño se obtuvieron dos muestras de secreción nasofaríngea. Para ello, se introdujo un hisopo flexible (Copan, Italia) hasta la nasofaringe, realizando ligeros movimientos de rotación para tomar una cantidad suficiente y representativa, inmediatamente, se colocó en medio de transporte Amies [7].

Estudio clínico epidemiológico: Los niños fueron evaluados por médicos expertos en Salud Pública, con el objeto de constatar la presencia de signos y síntomas sugestivos de infección respiratoria. Así mismo, a cada niño se le aplicó una encuesta epidemiológica para obtener datos de interés.

Estudio bacteriológico: Las muestras fueron sembradas en agar sangre (Britania, Argentina) suplementado con 5% de sangre de carnero y agar chocolate (Britania, Argentina) e incubadas en ambiente de microaerofilia por 24 y 48 horas

a 37 °C. Posteriormente, se observó la morfología de las colonias, seleccionando las de interés para proceder a realizar un extendido y colorear con la tinción de Gram [10]. La identificación bacteriana se realizó según los protocolos estándares descritos por Koneman y col [11].

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana: Se determinó mediante el método de difusión en disco [12], siguiendo los lineamientos establecidos por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI) [13], empleando, para *S. pneumoniae* y *M. catarrhalis*, agar Mueller-Hinton suplementado con sangre al 5% e incubado en microaerofilia y aerobiosis, respectivamente. Los discos de antibióticos empleados para *S. pneumoniae* fueron tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), clindamicina (30 µg), oxacilina (1 µg) y penicilina (10 U); en *M. catarrhalis* se empleó ampicilina (10 µg), amoxicilina-ácido clavulánico (20/10 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg) y penicilina (10 U). Para *S. aureus* se utilizó agar Mueller-Hinton y discos de oxacilina (1 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), vancomicina (30 µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg) y cefotaxima (30 µg), incubándose en aerobiosis a 37 °C durante 24 horas. *H. influenzae* no fue evaluado debido a que las cepas no se mantuvieron viables.

La posible producción de β-lactamasas fue estudiada sólo para *M. catarrhalis*, observándose mediante el cálculo de la diferencia de halos entre el disco de ampicilina y amoxicilina ácido clavulánico. Una ampliación del halo de amoxicilina ácido clavulánico de aproximadamente 5mm con respecto al de ampicilina fue considerada como producción de β-lactamasas [13].

La calidad de los discos de antibióticos, fue controlada empleando las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. pneumoniae* ATCC 49619, así como la producción de β-lactamasas.

Análisis estadístico: A partir de la información obtenida se construyó una base de datos con la ayuda del programa SPSS, versión 11.5 para Windows. Las frecuencias de las bacterias aisladas según la edad y sexo de los niños, fueron analizadas estadísticamente empleando la prueba de Chi cuadrado con un nivel de significancia de 5% [14].

Resultados

Los estudios bacteriológicos indicaron que el 75,5% de los niños estaban colonizados por bacterias patógenas. La bacteria que se aisló con mayor frecuencia fue *M. catarrhalis* (28,6%), seguida de *S. pneumoniae* (26,5%), *S. aureus* (14,3%) y *H. influenzae* (6,1%).

Las bacterias patógenas aisladas del tracto respiratorio superior fueron más frecuentes en el grupo de 0 a 5 años de edad, identificándose, principalmente, *S. pneumoniae* y *M. catarrhalis*. *S. aureus* sólo se aisló en el grupo de 6 a 10 años de edad. El estudio mostró una asociación estadística muy significativa ($p < 0,01$) entre *M. catarrhalis* y la edad de

los niños evaluados (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de las bacterias patógenas aisladas de muestras nasofaríngeas procedentes de niños de la comunidad warao María López, según el grupo etario. Enero – marzo 2008.

Bacterias aisladas	Edad (años)		Total	χ^2
	0-5	6-10		
<i>S. pneumoniae</i>	10	3	13	$p > 0,05$
<i>H. influenzae</i>	3	0	3	ND
<i>S. aureus</i>	0	7	7	ND
<i>M. catarrhalis</i>	13	1	14	$p < 0,01$
Total	26	11	37	

ND: no determinado.

De los 49 niños evaluados, el mayor número de aislados bacterianos patógenos (20) procedió de los niños que manifestaron no presentar sintomatología respiratoria (65,3%), identificándose con mayor frecuencia *S. pneumoniae* y *S. aureus* con 7 y 6 aislados, respectivamente (Tabla 2). El 34,7% de los encuestados manifestó tener tos, secreción nasal, estornudos, obstrucción nasal y odinofagia, síntomas característicos de síndrome gripal (datos no mostrados), predominando en este grupo, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* con 9 y 6 casos respectivamente. Al relacionar la presencia de las bacterias patógenas identificadas en las muestras nasofaríngeas con la condición clínica, se obtuvo asociación estadística muy significativa ($p < 0,01$) entre *M. catarrhalis* y la presencia de síntomas clínicos respiratorios (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de bacterias patógenas aisladas de niños de la comunidad warao María López, según condición clínica. Enero – marzo 2008.

Bacterias aisladas	Condición clínica			χ^2
	Pacientes sintomáticos	Pacientes asintomáticos	Total	
<i>S. pneumoniae</i>	6	7	13	$p > 0,05$
<i>H. influenzae</i>	1	2	3	$p > 0,05$
<i>S. aureus</i>	1	6	7	$p > 0,05$
<i>M. catarrhalis</i>	9	5	14	$p < 0,01$
Total	17	20	37	

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* a los antimicrobianos muestran que los aislados de *S. pneumoniae* expresaron resistencia a tetraciclina (46,2%), trimetoprim-sulfametoxazol (38,5%), clindamicina (33,3%) y penicilina (23,1%). Los aislados de *M. catarrhalis* resultaron resistentes a ampicilina y penicilina, y productoras de β-lactamasas; asimismo, no se observó resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico (Tabla 3). *S. aureus* no expresó resistencia a los antimicrobianos ensayados. No fue posible determinar la susceptibilidad antimicrobiana en *H. influenzae* debido a que las cepas no se mantuvieron viables.

Tabla 3. Susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos respiratorios aislados en los niños de la comunidad warao María López. Enero – marzo 2008.

Antibiótico	<i>M. catarrhalis</i>		<i>S. pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>	
	S	R	S	R	S	R
Trimetoprim sulfametoxazol	100,0	0,0	61,5	38,5	100,0	0,0
Clindamicina	-	-	66,7	33,3	100,0	0,0
Eritromicina	-	-	100,0	0,0	100,0	0,0
Tetraciclina	-	-	53,8	46,2	100,0	0,0
Penicilina	-	-	76,9	23,1	100,0	0,0
Vancomicina	-	-	-	-	100,0	0,0
Ciprofloxacina	-	-	-	-	100,0	0,0
Gentamicina	-	-	-	-	100,0	0,0
Cefotaxima	-	-	-	-	100,0	0,0
Penicilina	0,0	100,0	-	-	-	-
Amoxicilina-ácido clavulánico	100,0	0,0	-	-	-	-
Ampicilina	0,0	100,0	-	-	-	-

S: sensibles; R: resistentes. Valores expresados como porcentajes.

Discusión

El estudio reveló que, a nivel nasofaríngeo, el 75,5% de los niños estaba colonizado, principalmente, por *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae*, probablemente, esto ocurre debido a que es una población infantil con factores de riesgo que predisponen a la colonización de estas bacterias, como presencia de infecciones virales, predominio de niños menores de 6 años de edad, y de manera importante, el hacinamiento, entre otros. A nivel nacional e internacional, se han realizado diversos estudios con el propósito de evaluar la presencia de bacterias patógenas en la población infantil, no obstante, son escasos los reportes de patógenos a nivel respiratorio en las poblaciones indígenas en el país [8, 15-17].

Del Nogal y col. [8] realizaron un estudio en el estado Delta Amacuro, en el cual reportaron 42,7% de niños indígenas warao portadores de *S. pneumoniae*. Por otro lado, Rivera *et al* [7] obtuvieron 45,0% de niños warao menores de 6 años de edad portadores de *S. pneumoniae*, en 9 comunidades del estado Delta Amacuro. Los resultados reportados por estos autores se relacionan con los obtenidos en el presente estudio, al demostrarse la presencia de niños warao portadores de *S. pneumoniae* en el estado Sucre, siendo la segunda especie patógena más frecuente en la población evaluada. Actualmente, no se conocen reportes, a nivel nacional, de la presencia de *S. aureus*, *H. influenzae* y *M. catarrhalis* en poblaciones indígenas. Sin embargo, a nivel internacional, ha sido reportado el estado de portador de *H. influenzae* en niños indígenas navajos de los Estados

Unidos, y *S. aureus* y *M. catarrhalis* en niños escolares de comunidades indígenas de Australia [18-20].

Los niños menores de 5 años de poblaciones no indígenas, presentan un estado de portador para *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus* y *H. influenzae* que varía entre 10,0 y 55,0%. La edad es un factor epidemiológico que juega un papel relevante en la colonización bacteriana, la mayoría de los casos de infección o muerte por causa respiratoria se presenta en niños menores de 5 años, especialmente, en casos asociados a factores de riesgo como hacinamiento, falta de normas higiénicas, uso de antibióticos, entre otros [5,21]. En el presente estudio, las especies bacterianas identificadas estaban colonizando, mayormente, niños menores de 5 años, excepto *S. aureus*, el cual se presentó sólo en niños mayores de 6 años.

El aislamiento de las especies patógenas bacterianas en el grupo etario de 0 a 5 años, pudiera estar condicionado a que son individuos con un sistema inmunológico no desarrollado completamente y a la existencia de alteraciones fisiológicas y anatómicas en el tracto respiratorio superior, aunado a las condiciones en que vive esta etnia [18]. La presencia de *S. aureus* en el grupo de 6 a 10 años, difiere de los reportes procedentes de poblaciones no indígenas, donde se señala que esta especie se presenta, frecuentemente, colonizando la mucosa nasofaríngea de niños menores de 6 años [16].

Al relacionar la presencia de las bacterias identificadas con la edad, se observó asociación estadística muy significativa entre *M. catarrhalis* y el grupo etario de 0 a 5 años. La colonización de esta especie en la mucosa respiratoria, se establece a edades muy tempranas y disminuye paulatinamente hacia la edad adulta, debido a la producción de una respuesta inmune específica por inmunoglobulinas G [18]. Aunque no hubo asociación estadística entre *S. pneumoniae* y el grupo etario, los resultados indican que 76,9% (10/13) de estos aislados se presentó en edades menores a los 6 años. Estos resultados coinciden con los reportados por Rivera *et al* [7], Del Nogal y col. [8], Leach *et al* [19] y Bello *et al* [21] en poblaciones indígenas.

Los resultados muestran que 34,7% de los niños warao presentaron síntomas respiratorios asociados a cuadros clínicos no específicos para los patógenos aislados, representando el síndrome gripal el más frecuente en la población infantil, observándose asociación estadística muy significativa sólo entre *M. catarrhalis* y la condición clínica. Estos datos, no permiten relacionar la etiología de los cuadros clínicos presentados por los niños con las especies bacterianas patógenas identificadas, debido a que la gran mayoría fueron cuadros gripales, sin embargo, se puede inferir que el establecimiento de los cuadros clínicos favorece la colonización de la mucosa por estos patógenos.

Desde el punto de vista clínico, la resistencia antimicrobiana observada en patógenos respiratorios, a nivel comunitario, representa un problema creciente que complica la efectividad del tratamiento empírico. La mayoría de las bacterias aisladas en este estudio se mostraron sensibles a los antimicrobianos ensayados, pero *S. pneumoniae* presentó resistencia a antimicrobianos como tetraciclina,

clindamicina trimetoprim-sulfamatoxazol y penicilina; al respecto, Rivera *et al.* reportaron una frecuencia más baja de resistencia a la penicilina en cepas de *S. pneumoniae* [7].

En Venezuela, hasta el momento se cuenta con pocos datos que suministren información acerca de los patrones de resistencia de *S. pneumoniae*. Gómez y col. reportaron que de 66 cepas de *S. pneumoniae* provenientes de casos clínicos el 15,1% mostró resistencia a la penicilina. Así mismo, el Grupo Venezolano de Vigilancia de la Resistencia, realizó una investigación en el año 2002, en la cual demostró que el 28,7% de las cepas *S. pneumoniae* recolectadas en varios hospitales del país fueron resistentes a la penicilina [22-24].

S. pneumoniae desarrolla resistencia a la penicilina por alteraciones a nivel de la estructura de su pared celular; se han identificado, al menos, cuatro proteínas fijadoras de penicilina (PBP) con alteraciones estructurales que provocan disminución de la afinidad por el antimicrobiano, generadas por mutaciones genéticas en el cromosoma bacteriano [25-27]. El hallazgo de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina en la población indígena, es un hecho relevante, ya que es de suponer que esta comunidad indígena está expuesta a una presión selectiva generada por el uso de betalactámicos. Este es un aspecto importante porque debido a que en la población existen cepas resistentes a la penicilina, es posible que dentro de un tiempo no prolongado, este antimicrobiano ya no sea una alternativa terapéutica para el manejo de infecciones respiratorias [7].

Este estudio mostró la existencia de cepas de *M. catarrhalis* resistentes a penicilina y ampicilina con producción de β -lactamasas, hecho que pudiera relacionarse con la presión selectiva ejercida por el uso indiscriminado de amoxicilina y ampicilina en la población indígena. La expresión de las β -lactamasas en *M. catarrhalis* es inducible y se han reportado tres tipos, BRO-1, BRO-2 y BRO-3, la primera se encuentra en el 90,0% de las cepas y las dos últimas, en el 10,0% restante, todas son de amplio espectro e hidrolizan penicilina, ampicilina, meticilina y cefaclor [28,29].

La colonización de cepas bacterianas resistentes a nivel nasofaríngeo, sobre todo las patógenas con capacidad invasora conocida (*S. pneumoniae* y *H. influenzae*), representan un riesgo en la población indígena infantil, por estar asociados a cuadros clínicos del tracto respiratorio superior y por ser considerados posibles responsables de cuadros invasivos en la comunidad.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a todas las personas que participaron en este trabajo y al Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina, MPPS, por la donación del material para la recolección de las muestras. La parte microbiológica de esta investigación fue financiada bajo el convenio FUNDAUDO-PDVSA.

Referencias

1. Bello S, Torres A. Neumococo y resistencia a quinolonas. Arch Bronconeumol. 2003; 39:97-100.
2. García J, Fresnadillo M. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. J Antimicrob Chemoth. 2003. 50 Suppl 2:59-73.
3. Berman, S. Epidemiology of acute respiratory infection in children of developing countries. Rev Infect Dis. 1991; 13:454-62.
4. Meats E, Brueggemann A, Enrigh M, Sleeman K, Griffiths D, Crook D, *et al.* Stability of serotypes during nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2003; 41:386-92.
5. Shimada J, Yamaka N, Hotomi M, Suzumoto M, Sakai A, Ubukata, K. Household transmission of *Streptococcus pneumoniae* among siblings with acute otitis media. J Clin Microbiol. 2003; 40:1851-3.
6. Medina G, Arnaboldi P, Natera A, El Halabi Z, Noval C. Morbilidad en la población indígena Warao de San José de Buja, municipio Maturín, Monagas. Memorias del XIV Congreso de la Sociedad Venezolana de Medicina Interna. 2007. Maracaibo, Venezuela.
7. Rivera I, Bogaert D, Bello T, Del Nogal B, Sluiter M, Hermans P, *et al.* Pneumococcal carriage among indigenous Warao children in Venezuela: serotypes, susceptibility patterns, and molecular epidemiology. Clin Infect Dis. 2007; 45:1427-34.
8. Del Nogal B, Vigilancia P, Rivera I, Bello T, Waard J. Estado de portador de *Streptococcus pneumoniae* y morbilidad por infecciones respiratorias agudas en la población infantil Warao. AVPP. 2003; 69:5-10.
9. De Abajo F. La declaración de Helsinki VI. Rev Esp Salud Púb. 2001; 75:407-20.
10. Hucker G, Coon H. Methods of Gram staining. technical Bulletin New Cork State Agricultura Experimentation. 1923; 93(5):1-37.
11. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Washington, W. Diagnóstico Microbiológico. 5^a ed. Madrid: Editorial Panamericana; 1999.
12. Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45:493-6.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 18th informational supplement, 2008; M100-S18. Wayne, Pa, USA.
14. Sokal R, Rohlf F. Biometría principios y métodos estadísticos en investigación biológica. Barcelona: Hernan Blume editorial; 1979.
15. Millar E, O'Brien K, Levine O, Kvamme S, Reid R, Santosham M. Elimination of *Haemophilus influenzae* type b carriage and disease among high-risk American Indian children. Am J Public Health. 2000; 90:1550-4.
16. Vlack S, Cox L, Peleg A, Canuto C, Stewart C, Conlon A, *et al.* Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Queensland Indigenous community. MJA. 2006; 184:556-9.
17. Mackenzie G, Carapetis J, Leach A, Morris P. Neumococcal vaccination and otitis media in Australian Aboriginal infants: comparison of two birth cohorts before and after introduction of vaccination. BMC Pediatrics. 2008; 9(14):1-11.

18. De Lencastre H, Kristinsson K, Brito A, Sanchez I, Sa Leao R, Saldaña J. Carriage of respiratory tract pathogens and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* colonization in healthy children attending day care centers in Lisbon, Portugal. *Microb Drug Resist.* 1999; 5:19-29.
19. Leach A, Boswell J, Asche V, Nienhuys T, Mathews J. Bacterial colonization of the nasopharynx predicts very early onset and persistence of otitis media in Australian Aboriginal infants. *Pediatr Infect Dis J.* 1994; 13:983-9.
20. Hermans P, Sluijter M, Dejsirilert S, Lemmens N, Elzenaar K, Van Veen, *et al.* Molecular epidemiology of drug-resistant pneumococci: toward an international approach. *Microb Drug Resist.* 1997; 3:243-51.
21. Bello T, Rivera I, Pocatererra L, Spadola E, Araque M, Hermans P, De Waard J. Estado de portador nasofaríngeo de *Streptococcus pneumoniae* en madres e hijos de la población indígena Panare del estado Bolívar, Venezuela. *Rev Argent Microbiol.* 2010; 42:30-4.
22. Quintero B, Araque M. Perfil serológico y antibiotipia de cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas de portadores nasales pediátricos. *Invest Clin.* 2006; 47:17-26.
23. Gómez M, Galindo D, Medina G, Cedeño M, Priscelli A. Sensibilidad de *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina y cefalosporinas. *Bol Soc Ven Microbiol.* 1999; 19:17-20.
24. Grupo Venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana. Actualización de los datos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela, período julio 2001-diciembre 2002. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2003; 23:89-97.
25. Faden H, Duffy L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D, Tung Y. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *J Clin Microbiol.* 1997; 175:1440-5.
26. Hermans P, Sluijter M, Dejsirilert S, Lemmens N, Elzenaar K, Van Veen, *et al.* Molecular epidemiology of drug-resistant pneumococci: toward an international approach. *Microbiol Drug Resist.* 1997; 3:243-51.
27. Zhao G, Meier T, Hoskins J, McAllister K. Identification and characterization of the penicillin-binding-protein 2a of *Streptococcus pneumoniae* and its possible role in resistance to beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44:1745-8.
28. Christensen J, Keiding J, Shumacher H, Bruun B. Recognition of a new *Branhamella catarrhalis* beta-lactamase-BRO-3. *J Antimicrob Chemother.* 1991; 28:774-5.
29. Felmingham D, Gruneberg R. The Alexander project 1996-1997: latest susceptibility data from this international study of bacterial pathogens from community-acquired lower respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 45:191-203.