

ESTADO DE PORTADOR DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*
Y MORBILIDAD POR INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS (IRA)
EN LA POBLACIÓN INFANTIL WARAO
Segundo Premio Poster. LI Congreso Nacional de Pediatría 2005

Berenice del Nogal (*); Patricia Vigilancia (*); Ismar Rivera Olivero (**);
Teresita Bello (**); Jacobus H. de Waard (**)

RESUMEN:

Introducción: Anualmente 1.9 millones de niños menores de 5 años mueren por una Infección Respiratoria Aguda (IRA) y según la OMS, el *Streptococcus pneumoniae* es responsable de más de 1 millón en países en desarrollo.

Objetivo: Determinar la frecuencia de portadores de *S. pneumoniae*, los serotipos de las cepas aisladas, la presencia de dichos serotipos en la vacuna conjugada 7-valente (Prevenar®, Wyeth) y la morbilidad por IRA en la población infantil Warao menor de 5 años en tres comunidades del Estado Delta Amacuro: San Francisco de Guayo, Nabasanuka y Santa Catalina.

Métodos: Estudio de campo, epidemiológico, transversal y comparativo entre mayo 2004 - enero 2005 que incluyó estudio microbiológico de 110 muestras de hisopado nasofaríngeo y evaluación clínica de 259 niños.

Resultados: 42.7% de los niños estaba colonizado por *S. pneumoniae*. Se aislaron 47 cepas, porcentaje de portadores: Nabasanuka 55%, Guayo 37.7%, Santa Catalina 29.4%. Serotipos aislados incluidos en la vacuna conjugada 7-valente (19F, 6B y 23F) con 19.15%, 12.8% y 8.5%; serotipos no incluidos (6A y 15B) con 19.1% y 6.4%. Porcentaje de IRA Nabasanuka 48.2%, Santa Catalina 27.1%, Guayo 18.6%. Al comparar las proporciones de IRA versus estado de portador de *S. pneumoniae* por comunidad no hubo una relación estadísticamente significativa.

Conclusiones: La población infantil Warao presenta una alta colonización por *S. pneumoniae* 42.7%. Los serotipos encontrados implican teóricamente una cobertura de 70.23% de la vacuna conjugada 7-Valente. Los niños Warao podrían beneficiarse con un programa de vacunación. El mayor porcentaje de IRA y de portadores correspondió a la Comunidad de Nabasanuka. **Arch Venez Pueric Pediatr 69 (1): 5-10**

Palabras clave: Portador, *Streptococcus pneumoniae*, Warao, Infección Respiratoria Aguda, serotipos, vacuna conjugada 7-valente

SUMMARY:

Introduction: According to the WHO, 1.9 millions children younger than five years die by acute respiratory infections (ARI) in developing countries each year and *S. pneumoniae* is responsible for 1 million of these deaths.

Objective: To determine the frequency of pneumococcal carriage, the serotypes of the isolated strains, and the coverage of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (Prevenar®, Wyeth) and to determine morbidity of respiratory infections in Warao children under 5 years of age in 3 communities of the Delta Amacuro state: San Francisco de Guayo, Nabasanuka y Santa Catalina.

Methods: Epidemiological field study, transversal and comparative, executed between May 2004 and January 2005, including a microbiological study of 110 nasopharyngeal swabs and a clinical evaluation for ARI of 259 children.

Results: The overall nasopharyngeal carriage rate was 42.7% and 47 strains were isolated. 55% of the children were colonized with *Streptococcus pneumoniae* in the community of Nabasanuka, 37% in San Francisco de Guayo and 29.4% in Santa Catalina. The percentage of the isolated strains with serotypes present in the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine were; 19F (19.15%) 6B (12.8%) y 23F (8.5%). The most important non-vaccine serotypes found were; 6A (19.1%) and 15B (6.4%). The percentages of children with ARI in each community were: Nabasanuka 48.2%, San Francisco de Guayo 18.6%. Santa Catalina 27.1%. The proportion of children in the communities with respiratory infection and the prevalence of nasopharyngeal carriage in the community were not significantly related.

Conclusions: A high percentage of Warao children are colonized by *S. pneumoniae* (42.7%) with a theoretical coverage of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine of 70.2% in the study population which justifies the application of a pneumococcal vaccine in this indigenous population. **Arch Venez Pueric Pediatr 69 (1): 5-10**

Key words: Carriage, *Streptococcus pneumoniae*, Warao, Acute Respiratory Infection (ARI), serotypes, 7-valent pneumococcal conjugate vaccine.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud estima que cada año 1.9 millones de niños menores de 5 años mueren a causa de una Infección Respiratoria Aguda (IRA) y de éstas las producidas por *Streptococcus pneumoniae* son las más

importantes; responsables de más de 1 millón de muertes anuales. Por esta razón, el *S. pneumoniae* es considerado el patógeno más importante de la primera infancia y la principal causa de mortalidad en niños menores de 5 años en los países en desarrollo (1).

El *S. pneumoniae* es el agente causal de numerosas infecciones, que pueden ser clasificadas en respiratorias: otitis media aguda, sinusitis, bronquitis y neumonías e invasivas: meningitis, sepsis entre las más frecuentes (1,2) y endocarditis bacteriana, peritonitis primaria, artritis séptica, infecciones pélvicas, obstétricas, y ginecológicas, infecciones de tejidos blandos tales como celulitis facial y periorbitaria, fascitis, rhabdomiolisis y abscesos como las menos habituales

(*) Hospital de Niños "JM de los Ríos". Caracas

(**) Laboratorio de Tuberculosis. Instituto de Biomedicina

Universidad Central de Venezuela

Correspondencia: Dra. Berenice del Nogal

Hospital de Niños "J. M. de los Ríos". Cátedra de Pediatría.

UCV. Avda. Vollmer. San Bernardino. Caracas. Venezuela

E-Mail: berenicedelnogal@yahoo.es

0212-5767032 / 0416 623.0725

(3,4). Se ha reconocido la población infantil menor de 2 años como la más susceptible de sufrir infecciones por *S. pneumoniae* (1,5-7).

El *S. pneumoniae* está clasificado en más de 90 serotipos de acuerdo a los tipos de polisacáridos presentes en la cápsula de la cual dependen la patogenidad y la virulencia de las cepas (1,8).

El humano es el principal reservorio del *S. pneumoniae* y la principal fuente de transmisión de persona a persona a través de gotitas de secreción de las vías respiratorias. Para desarrollar una enfermedad la bacteria debe primero colonizar la nasofaringe. Las tasas de portador nasofaríngeo son más altas en niños pequeños y van disminuyendo con la edad. El estado de portador es un proceso muy dinámico, en el cual los neumococos son adquiridos, transportados por un período de semanas o meses, y luego desaparecen y es principalmente un proceso asintomático que no produce enfermedad (6). Sin embargo, en situaciones de alteraciones del equilibrio huésped-patógeno, como infecciones virales, desnutrición o daño local de la mucosa, la colonización nasofaríngea precede a la enfermedad (2,9-12).

Existen numerosos factores de riesgo que determinan la incidencia de portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae*, tales como: etnia, factores ambientales, estación del año, tamaño de la familia, fumadores (pasivos y activos), entre otros. No obstante, el hacinamiento es el mayor factor de colonización y diseminación de las cepas (13).

La etnia Warao habita en el Delta del Orinoco situado en el extremo nororiental de la República Bolivariana de Venezuela, políticamente forma parte del Estado Delta Amacuro, el cual está dividido en cuatro Municipios: Antonio Díaz, Tucupita, Casacoima y Pedernales.

Según el último censo de 1992, la población Warao es aproximadamente de unos 21.000 habitantes, de los cuales el 85% viven en las márgenes de las vertientes (caños) del río Orinoco en el Estado Delta Amacuro, distribuidas en 250 comunidades, cuyas dos terceras partes se ubican en la franja costera del Municipio Antonio Díaz.

El acceso es bastante complejo, hay aproximadamente 900 Km. desde la ciudad de Caracas hasta la capital del estado, Tucupita, para acceder a las comunidades se requiere transporte aéreo o fluvial.

En el año 2003, en el estado Delta Amacuro se registraron, 1.298 casos de muerte por neumonía e influenza. No hay datos específicos en los registros de morbilidad de la región, sobre la prevalencia de Infección Respiratoria Aguda en la población Warao.(14)

MÉTODOS

En el marco de un estudio en pleno desarrollo y con el objetivo de determinar la frecuencia de portadores de *S.*

pneumoniae, los serotipos de las cepas aisladas, la presencia de dichos serotipos en la vacuna conjugada 7- valente (Prevenar®, Wyeth) y la morbilidad por Infección Respiratoria Aguda en la población infantil Warao menor de 5 años en tres comunidades del Estado Delta Amacuro: San Francisco de Guayo, Nabasanuka y Santa Catalina, se realizó un estudio de campo, epidemiológico, exploratorio, transversal, descriptivo y comparativo en el período mayo 2004 a enero 2005 que incluyó un estudio microbiológico y una evaluación clínica. Se obtuvo consentimiento informado del jefe de familia, autoridades locales y regionales.

Estudio Microbiológico:

* **Muestras:** Se tomaron de 110 muestras de hisopado nasofaríngeo aleatoriamente del total de menores de 5 años pertenecientes a tres comunidades del Estado Delta Amacuro, con hisopo de algodón flexible (Copan Italia, Brescia, Italia) introducido suavemente a través de la fosa nasal hasta llegar a la parte posterior de la nasofaringe, donde se rota y retira gradualmente, luego se colocó en medio de transporte STGG (Skim milk-Tryptona-Glucose-Glycerol) (15) el cual fue trasladado y conservado entre 4-8° C hasta el Instituto de Biomedicina en Caracas.

* **Procesamiento:** las muestras fueron inoculadas en agar Columbia (Hi Media) suplementado con 5% de sangre humana y agar Columbia (Hi Media) con 5% de sangre humana y gentamicina 5 µg/ml e incubadas por 24 - 48 horas en una atmósfera enriquecida con 5% de CO₂. El *S. pneumoniae* aislado se identificó de acuerdo a los procedimientos microbiológicos estándar (3).

* **Serotipificación:** se determinó el serotipo de los *S. pneumoniae* recuperados mediante el método de hinchamiento capsular (reacción de Quellung) y observado microscópicamente utilizando los antisueros producidos por el Statens Serum Institut de Copenhagen, Dinamarca.

* **Estudio Clínico:** Se evaluaron 435 niños menores de 15 años pertenecientes a las tres comunidades mencionadas, se seleccionaron 259 menores de 5 años de ambos sexos; a través del interrogatorio y evaluación clínica; se incluyeron 85, quienes cumplieron los criterios para el diagnóstico de Infección Respiratoria Aguda, se indicó y administró tratamiento médico específico; educación para la salud individual y grupal.

* **Análisis estadístico:** Para contrastar la proporción entre portadores de *S. pneumoniae* y pacientes con Infección Respiratoria Aguda (IRA) en cada comunidad se empleó la prueba Z para proporciones. Se consideró un valor significativo si $p < 0,05$ y altamente significativo si $p < 0,01$. Para estimar la distribución de portadores, serotipos y casos de infección respiratoria aguda se utilizó la distribución de frecuencias absolutas y relativas. Se presentan los resultados a través de cuadros, histogramas y figuras circulares.

RESULTADOS:

Estudio Microbiológico: El número de muestras recolectadas en cada comunidad se dividió de la siguiente manera: en San Francisco de Guayo (53), en Nabasanuka (40) y en Santa Catalina (17).

De los 110 niños muestreados el 42.7% (47) estaba colonizado con *S. pneumoniae* (Figura 1).

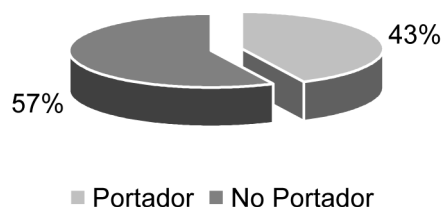


Figura 1. Portadores de *S. pneumoniae* en niños menores de 5 años en 3 comunidades del estado Delta Amacuro.

Fueron aisladas un total de 47 cepas, observándose que el porcentaje de portadores fue diferente en cada comunidad estudiada; siendo Nabasanuka la que presentó la mayor incidencia de portadores con 55%, seguida por San Francisco de Guayo con 37.7% y Santa Catalina con 29.4% (Figura 2).

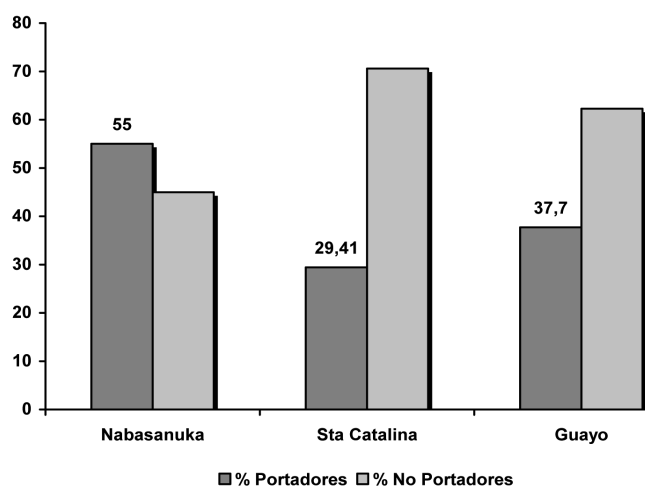


Figura 2. Portadores de *S. pneumoniae* entre niños Warao por comunidad.

En cuanto a la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* aislados, los más predominantes fueron de los serotipos incluidos en la vacuna conjugada 7-valente (19F, 6B y 23F) con 19.15%, 12.8% y 8.5% respectivamente y los serotipos no incluidos en la vacuna (6A y 15B) con 19.1% y 6.4% correspondientemente. Los otros serotipos cubiertos con la vacuna son el 4, 18C, 9V y 14. Ningún niño en este estudio estuvo colonizado por el serotipo 4 y solamente de 2 a 4% de los niños estaban colonizados por los serotipos 18C, 9V y 14. Esta distribución de los serotipos implica teóricamente una cobertura de 51.8% por la vacuna conjugada 7-valente en las tres comunidades estudiadas en conjunto (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* en niños de tres comunidades del estado Delta Amacuro

<i>S.pneumoniae</i>	Total	%
Positivos	47	42.7
Tipo vacunal		
Serotipo 19F	9	19.15
Serotipo 6B	6	12.8
Serotipo 23F	4	8.5
Serotipo 14	2	4.25
Serotipo 18C	2	4.25
Serotipo 9V	1	2.13
7-valente (incl. 6A)		51.08 (70.23)
Tipo no vacunal		
Serotipo 6A	9	19.15
Serotipo 15B	3	6.4
Serotipo 19A	2	4.25
Otros	9	19.15

La distribución de los serotipos por comunidades es heterogénea, por ejemplo el serotipo 9V estuvo presente solamente en Santa Catalina pero no en las otras dos comunidades y al contrario, el serotipo 6A que es uno de los más frecuentes en las otras 2 comunidades en conjunto, no se aisló en Santa Catalina. Asimismo, la cobertura de la vacuna conjugada 7-valente es diferente en cada comunidad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* por comunidad

Serotipos (%)	Guayo N= 20	Nabasanuka N = 22	S. Catalina N = 5
23F	5	9.1	20
6A	10	31.8	
15B		9.1	20
6B	20	9.1	
19F	15	18.2	40
14	10		
18FCB	10		
9V			20
19A	5	4.5	
Otros	25	18.1	
VCN7-v* (4,9V,14,19F,23F,18Cy 6B)	60	36.4	80
VCN 7-v (incluyendo 6A)	70	72.7	80

Estudio Clínico: Los niños menores de 5 años, conformaron el 59.5 % de la población infantil menor de 15 años, (259/435). La distribución de frecuencias absolutas y relativas por comunidad se expresó de la siguiente manera: San Francisco de Guayo: 16,6% (43/259); Nabasanuka 33.5% (87/259) y Santa Catalina 49.8% (129/259). El grupo de estudio: casos con Infección Respiratoria Aguda sumaron un 32.8% (85/259); se evidenció un predominio de afecciones del tracto respiratorio superior.

La distribución en porcentajes del grupo de niños con criterios diagnósticos de Infección Respiratoria Aguda fue variable en cada una de las comunidades, siendo más frecuente en Nabasanuka con 48.2% (42/87), Santa Catalina con 27.1%(35/129) y en tercer lugar San Francisco de Guayo con 18.6% (8/43) (Figura 3).

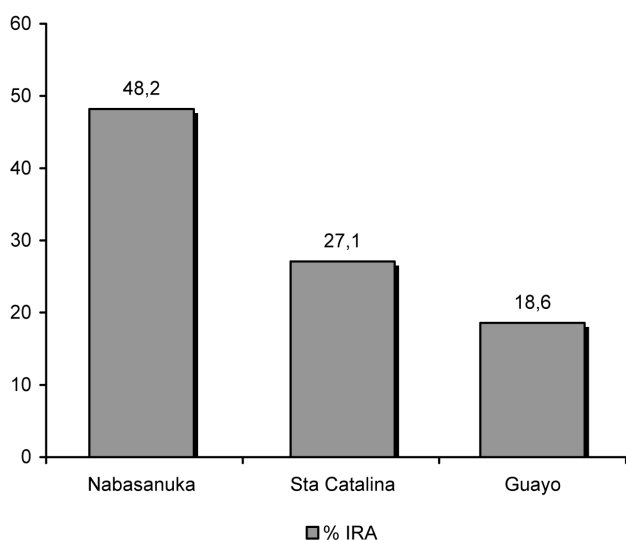


Figura 3. Proporción de Infecciones respiratorias agudas (IRA) por comunidad.

Al comparar las proporciones de Infección Respiratoria Aguda (IRA) versus estado de portador de *S. pneumoniae* en niños menores de 5 años en cada comunidad no se observó una relación estadísticamente significativa con $p < 0.05$. (Cuadro 3) (Figura 4).

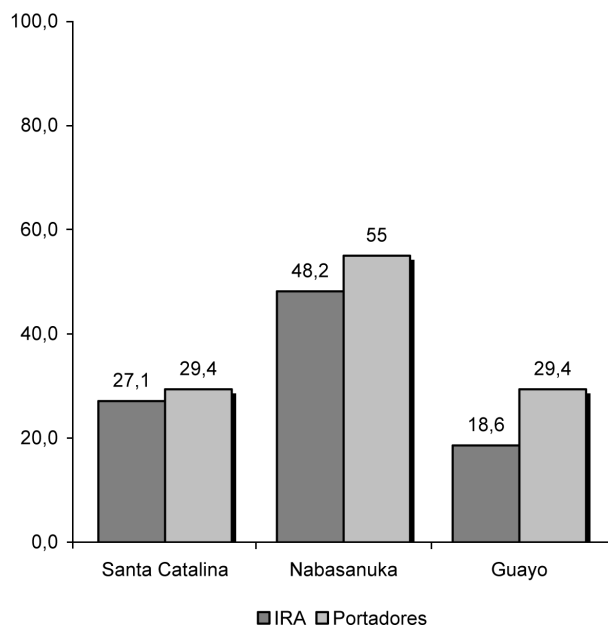


Figura 4. Proporción de niños con IRA y su relación con los portadores de *S. pneumoniae* en la comunidad Warao.

DISCUSIÓN

La colonización nasofaríngea por *S. pneumoniae* es muy común, siendo la mayoría de los niños colonizados en edades muy tempranas. El estado de portador de *S. pneumoniae* es principalmente asintomático; sin embargo en situaciones de desequilibrio de la relación huésped-patógeno, como por ejemplo infecciones virales, desnutrición, etc., la colonización asintomática puede preceder la enfermedad invasiva. Asimismo, individuos sanos portadores asintomáticos de *S. pneumoniae* pueden diseminar este patógeno dentro de la comunidad.

En países en vías de desarrollo donde las tasas de colonización son generalmente más altas, la incidencia de enfermedad invasiva en niños es mucho mayor que en niños de países desarrollados donde la prevalencia de colonización es menor (16).

Cuadro 3. Proporción de menores de 5 años con IRA y su relación con portadores de *S. pneumoniae*.

Comunidades	IRA		Portadores		Z	P*
	n	%	n	%		
Guayo	8	18,6	20	37,7	1,825	0,068
Nabasanuka	42	48,2	22	55,0	0,513	0,608
Santa Catalina	35	27,1	5	29,4	0,091	0,927

Debido a que la más alta incidencia de portadores de *S. pneumoniae* e índice de hacinamiento se han encontrado en niños pequeños, este grupo de riesgo se cree es el más importante vector para la diseminación horizontal de cepas de neumococo dentro de la comunidad (17).

Numerosos estudios han demostrado que la frecuencia de aislamientos de *S. pneumoniae* en portadores nasofaríngeos es muy variable dependiendo del grupo estudiado, época del año, región geográfica, entre otros. En Kenya, Rusen et al, 1997 reportaron 22% de colonización. En nuestro estudio 42.7% de los niños muestreados estaba colonizado con *S. pneumoniae* mayor a lo observado en el trabajo anteriormente mencionado y similar a lo reportado en Grecia y Holanda con 34 y 37% de portadores respectivamente (19, 20). Estudios realizados en Venezuela, en población "criolla" en Maracaibo y Mérida obtuvieron 12 y 24% de portadores (21,22).

Esta elevada frecuencia de portadores en la población infantil Warao en comparación con otros estudios puede explicarse debido a las condiciones de vida de esta etnia, que ha debido adaptarse al tener que compartir su hábitat con los criollos. La mayoría de los Warao viven en precarias condiciones sanitarias y nutricionales, 23 factores de alto riesgo reconocidos para la colonización por *S. pneumoniae*.

Las comunidades estudiadas mostraron una distribución en los serotipos comparables a la encontrada en otros países, tales como, Israel, Finlandia, Canadá y Sudáfrica (16, 24-26). Los serotipos más predominantes fueron 19F y 6 A con 19.15% cada uno, 6B con 12,8%, 23F con 8.5% y 15B con 6.4%. Esta distribución de los serotipos implica teóricamente una cobertura de 51.08% por la vacuna conjugada 7-Valente en las tres comunidades en conjunto. Sin embargo, se espera una mayor protección por la reacción cruzada con el serotipo 6A, lo cual incrementa teóricamente la cobertura de la vacuna conjugada 7- valente a 70.23%. Estos datos son similares a los reportados por nosotros en estudios previos en otras comunidades Warao en el Delta Amacuro (27).

En este estudio encontramos que las infecciones respiratorias agudas (IRA) fueron una causa importante de consulta en la población Warao tal como lo reporta la literatura nacional e internacional en los países en vías de desarrollo, en unión a las enfermedades diarreicas agudas y la desnutrición figuran dentro de las principales causas de morbi-mortalidad en menores de 5 años.

Al analizar comparativamente el estado de portador de *S. pneumoniae* con la morbilidad por Infección Respiratoria Aguda en cada una de las comunidades estudiadas, se identificaron mayor número de portadores donde se diagnosticaron más casos de Infección Respiratoria Aguda; hallazgos éstos similares a los reportados por la literatura internacional, donde señalan que la incidencia de enfermedad neumococcica en una población está relacionada a la prevalen-

cia de portadores asintomáticos de *S. pneumoniae* (28, 29). Debido al aislamiento y tamaño poblacional de estas comunidades, al aplicar la prueba de proporciones Z no se encontró una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,05$.

CONCLUSIONES

- La población infantil Warao presenta una alta colonización por *S. pneumoniae* de 42.7% en comparación con otros estudios nacionales.
- La distribución de los serotipos encontrados implica teóricamente una cobertura de 70.23% de la vacuna conjugada 7- Valente.
- Los niños y las comunidades Warao podrían beneficiarse con la implementación de un programa de vacunación con la vacuna conjugada 7- Valente.
- El mayor porcentaje de Infecciones Respiratorias Agudas y de portadores correspondió a la Comunidad de Nabasanuka.

REFERENCIAS

1. WHO: State of the art of new vaccines: research & development: Acute respiratory infections, Bacterial respiratory infections, Streptococcus pneumoniae. 2004. Tomado el 15 de abril 2005; disponible en: http://www.who.int/vaccine_research/documents/ew_vaccines/en/index2.html.
2. Shimada J, Yamaka N, Hotomi M, Suzumoto M, Sakai A, Ubukata K, et al. Household transmission of Streptococcus pneumoniae among siblings with acute otitis media. J. Clin. Microbiol, 2003; 40(5):1851-1853.
3. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. 1999. Diagnostico Microbiológico. Texto y atlas color. 5ta ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana
4. Center for disease Control and Prevention. National Center for Infectious Diseases. Division of Bacterial and Mycotic Diseases: Drug-resistant Streptococcus pneumoniae disease. 2003 tomado el 10 de Diciembre 2004; 1-2 disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/drugresiststreppneum_t.htm.
5. Soh S, Poh C, Pin Lin R. Serotype distribution and antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae isolates from pediatric patients in Singapore. Antimicrobial Agents and Chemoterapy. 1999; 44(8): 2193-2196
6. Meats E, Brueggemann A, Enright M, Sleeman K, Griffiths D, Crook D, Spratt B. Stability of serotypes during nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae. J. Clin. Microbiol. 2003; 41(1):386-392.
7. Quiñónez F, Calva J, López Y, Galicia M, Jiménez M,

- Larios L. Antimicrobial susceptibility patterns of *Streptococcus pneumoniae* in México. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2004; 49:53-58
8. Musher D. 2000. *Streptococcus pneumoniae*. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R. *Enfermedades Infecciosas. Principios y Prácticas*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Pág. 188, Pág. 2582-2604.
 9. Mulholland K. Strategies for the control of pneumococcal diseases. *Vaccine*. 1999; 17. Suppl 1: S79-84.
 10. Rubin L. Vaccine pneumococcal. *Pediatric Clin North Amer.* 2000; 47(2):269-285.
 11. Schrag S, Beall B, Dowell S. Limiting the spread of resistant pneumococci: Biological and epidemiological evidence for the effectiveness of alternative interventions. *Clin Microbiol Rev.* 2000; 13(4):588-601.
 12. Sampaio A, Pimenta F, Brandileone M, Laval C, Guerra M, Guimaraes J, Di Fabio J. Genetic relationship between streptococcus pneumoniae isolates from nasopharyngeal and cerebrospinal fluid of two infants with pneumococcal meningitis. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(8):3970-3972.
 13. Bogaert D, de Groot R, Hermans P. *Streptococcus pneumoniae* colonization: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4 (3): 144-154
 14. Ministerio de salud y desarrollo social: Anuario epidemiológico.2003 tomado 14 de Mayo 2005. Disponible en <http://www.msds.org.ve>
 15. O'Brien K, Bronsdon M, Dagan R, Yagupsky P, Janco J, Elliott J, Whitney C, et al. Evaluation of a Medium (STGG) for Transport and Optimal Recovery of *Streptococcus pneumoniae* from Nasopharyngeal Secretions Collected during Field Studies. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(3):1021-1024
 16. Kellner J, mcGeer A, Cetron M, Donald L, Buttler J, Matlow A, Talbot J, FordJones E. The use of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal isolates from healthy children to predict features of invasive disease. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17(4):279-286
 17. Leiberman A, Dagan R, Leibovitz E, Yagupsky P, Fliss DM. The bacteriology of the nasopharynx in childhood. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1999; 49; Suppl 1:S151-3
 18. Rusen ID, Fraser-Roberts L, Slaney L. Nasopharyngeal pneumococcal colonization among Kenyan children: antibiotic resistance, strains types and associations with human immunodeficiency virus type 1 infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1997; 16(7):656-662
 19. Syrogianopoulos GA, Grivea IN, Davies TA, Katopodis GD, Appelbaum PC, Beratis NG. Antimicrobial use and colonization with erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Greece during the first 2 years of life. *Clin Infect Dis.* 2000; 32(4):887-893
 20. Bogaert D, Engelen MN, Timmers-Reker AJ, Elnenaar KP, Peerbooms PG, Coutinho RA de Groot R, Hermans PW. Pneumococcal carriage in children in The Netherlands: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol.* 2001; 39:3316-3320
 21. Perozo-Mena A, Castellano-González M, Avila-Roo, Ginestre-Pérez M, Fuenmayor-Boscan A. *Streptococcus pneumoniae*: Estado de portador en niños preescolares y susceptibilidad a los antimicrobianos. *Boletín de la Sociedad venezolana de Microbiología.* 2000; 20(2): 5-15.
 22. Quintero B, Araque M, Valeri E, Quintero L. Epidemiología y caracterización fenotípica y serológica de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a la penicilina provenientes de portadores nasales. *Revista de la Facultad de Farmacia.* 2004; 46 (1):2-7.
 23. Chumpitaz Diana Z, Russo Anna, Del Nogal Berenice. Evaluación Nutricional de la Población Infantil Warao en la Comunidad de Yacariyene. Estado Delta Amacuro. Trabajo de Investigación. Cátedra de Salud Pública. Escuela Vargas. UCV. Agosto-Octubre 2004. p 10-22
 24. Dagan R, Relamed M, Maúllen L, Piglansky D, Greenberg O, Abramson P.M, Mendelman N, Bohidar N, Yagupsky P. Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. *J. Infect. Dis.* 1996; 174: 1271-1278
 25. Estola J, Kilpi A, Palmu J, Jokinen J, Haapakoski E, Herva A, Takala H, et al. Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344; 403-409
 26. Takala AK, Vuopio-Varkila J, Tarkka E, Leinonen M, Musser JM. Subtyping of common pediatric pneumococcal serotypes from invasive disease and pharyngeal carriage in Finland. *J. Infect. Dis.* 1996; 173:128-135
 27. Rivera I, Bello T, del Nogal B, Sluijter M, Bogaert D, Hermans P, de Waard J. 2005. Epidemiology of pneumococcal carriage among Warao children in Delta Amacuro. Venezuela. Abstract Oral presentation 198. 15th European Congress of Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen.
 28. Leach AJ, Boswell JB, Asche V, Nienhuys TG, Mathews JD. 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.
 29. Montgomery JM, Lehman D, Smith T. Bacterial colonization of the upper respiratory tract and its association with acute lower respiratory tract infections in highland children of Papua New Guinea. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Suppl 8):S1006-16.