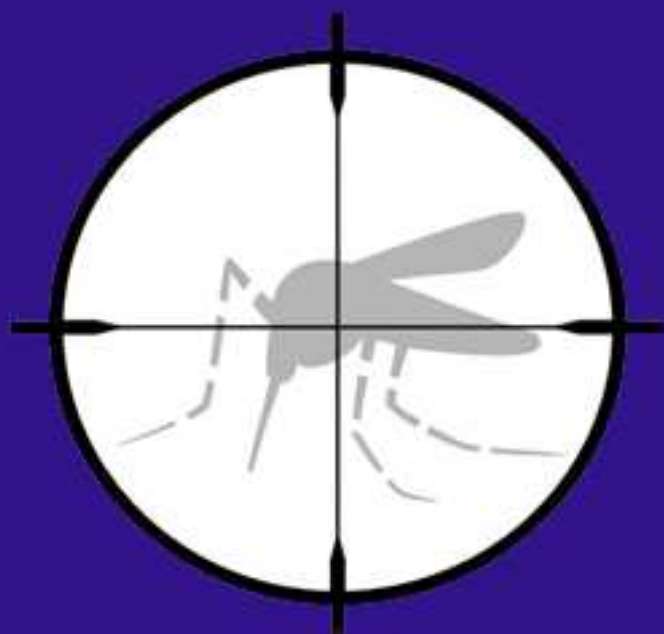


Revista del Instituto de Medicina Tropical

Asunción - Paraguay



ISSN 1996 - 3696
Diciembre 2015
Volumen 10 - Número 2

© 2015

Revista del Instituto de Medicina Tropical

ISSN 1996 – 3696

Asunción – Paraguay

Tirada semestral

Versión electrónica disponible en:

www.imt.edu.py

<http://scielo.iics.una.py>

<http://www.ins.gov.py/revistas/index.php/revistaimt>

Revista del Instituto de Medicina Tropical (ISSN 1996-3696) es una revista de publicación semestral de distribución libre y gratuita publicada por el Instituto de Medicina Tropical. Número inaugural publicado el 15 de diciembre de 2007. Dirección para correspondencia y suscripción Avda. Venezuela casi Florida. Tel/Fax. (+595 21) 292 164. Asunción – Paraguay.

Foto portada: Imagen.jpg

Los trabajos y opiniones que se publican en la revista son de exclusiva responsabilidad de los autores. La revista se reserva todos los derechos sobre los mismos.

La revista está integrada a **SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ON LINE (SciELO)**. <http://scielo.iics.una.py>

Revista *del* Instituto de Medicina Tropical Asunción - Paraguay

Dr. Oscar Merlo Faella
Director General

Dra. Nidia Mendoza
Directora Médica

Prof. Dr. Antonio H. Arbo Sosa
Editor

Biol. Gabriela Sanabria
Secretaria Técnica de Edición

[COMITÉ EDITORIAL]

Dr. Silvio Apodaca. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Gustavo Benítez. Universidad Católica Ntra. Sra. de la Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Nidia Cáceres de Mendoza. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Carlos Kunzle. Universidad del Pacífico. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Dolores Lovera. Universidad Católica Ntra. Sra. de la Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Prof. Dra. Celia Martínez de Cuellar. Universidad Nacional de Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Rosa Mayor. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Hernán Rodríguez Enciso. Instituto de Medicina Tropical Instituto de Previsión Social
Dra. Cristina San Miguel. Universidad Nacional de Asunción. Instituto de Medicina Tropical

[CONSEJO EDITORIAL]

Prof. Dr. Salvador Addario. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Nicolás Aguayo. Hospital Nacional de Itagua.
Dr. Felix Ayala. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Eugenio Báez. Instituto de Previsión Social.
Prof. Dr. José Bellasai. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Prof. Dra. Ana Campuzano de Rolón. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Enrique Courselles. Academia Nacional de Medicina.
Prof. Dr. Gustavo Cuellar. Universidad Nacional de Asunción.
Prof. Dr. Esteban Grassi. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción

Dr. Adolfo Galeano. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Fernando Hamuy. Universidad de las Naciones Unidas. Instituto de Medicina Tropical.
Dr. Julio Manzur. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Universidad Nacional de Asunción.
Dr. Duillo Núñez. Instituto de Previsión Social.
Prof. Dr. Roger Rolón. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dra. Gloria Samudio. Hospital Nacional de Itagua
Dra. Tania Samudio. Programa Nacional de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual
Dra. Aurelia Taboada. Instituto de Medicina Tropical

Institute of Tropical Medicine

Publication of Institute of Tropical Medicine

Department of Public Health and Social Well-being

Asunción - Paraguay

Vol. 10 December, 2015 Nº 2

C O N T E N T

Editorial

01 Adjunctive therapy in bacterial meningitis

Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa

Original Articles

04 Increasing severity of Dengue in children in successive epidemics in Paraguay

Dra. Soraya Araya, Dra. Dolores Lovera, Dra. Cyntia Avalos, Dra. Silvia Ledesma, Dra. María José Mesquita, Dr. Silvio Apodaca, Prof. Dr. Antonio Arbo

13 Nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its relationship with systemic involvement in adult patients admitted to the Institute of Tropical Medicine

Dra. Mirtha Calderini, Biol. Gabriela Sanabria, Dra. Aurelia Taboada, Dra. Stela Samaniego, Dr. Bq. Juan Irala, Dr. Gustavo Benítez Estigarribia

17 Pentoxifylline as Adjunctive Therapy in Children with Acute Bacterial Meningitis

Prof. Dra. Celia Martínez de Cuellar, Dra. Dolores Lovera, Prof. Dr. Antonio Arbo

Clinic case

26 Molecular characterization of fatal cases by *Streptococcus pyogenes*

Dr. Fernando Galeano, Biol. Gabriela Sanabria, Dra. Dolores Lovera, Dra. Bq. Patricia Araújo, Dr. Bq. Juan D. Irala, Dra. Rosa Guillén, Dra. F. Rodríguez, Prof. Dr. Antonio Arbo

31 Instruction for authors

Revista del Instituto de Medicina Tropical

Publicación del Instituto de Medicina Tropical

Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social

Asunción - Paraguay

Vol. 10 Diciembre 2015 Nº 2

CONTENIDO

Editorial

01 **Terapia adyuvante en meningitis bacteriana**

Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa

Artículo Original

04 **Incremento de la severidad del dengue en niños en epidemias sucesivas in Paraguay**

Dra. Soraya Araya, Dra. Dolores Lovera, Dra. Cyntia Avalos, Dra. Silvia Ledesma, Dra. María José Mesquita, Dr. Silvio Apodaca, Prof. Dr. Antonio Arbo

13 **Colonización nasal de *Staphylococcus aureus* y su relación con afectación sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical**

Dra. Mirtha Calderini, Biol. Gabriela Sanabria, Dra. Aurelia Taboada, Dra. Stela Samaniego, Dr. Bq. Juan Irala, Dr. Gustavo Benítez Estigarribia

17 **Pentoxifilina como Adyuvante en Terapia en Niños con Meningitis Bacteriana Aguda**

Prof. Dra. Celia Martínez de Cuellar, Dra. Dolores Lovera, Prof. Dr. Antonio Arbo

Caso Clínico

25 **Caracterización molecular de caso fatal por *Streptococcus pyogenes***

Dr. Fernando Galeano, Biol. Gabriela Sanabria, Dra. Dolores Lovera, Dra. Bq. Patricia Araujo, Dr. Bq. Juan D. Irala, Dra. Rosa Guillén, Dra. F. Rodríguez, Prof. Dr. Antonio Arbo

31 **Instruction for authors**

EDITORIAL

Terapia adyuvante en meningitis bacteriana**Adjunctive therapy in bacterial meningitis**

Prof. Dr. Antonio Arbo. Universidad Nacional de Asunción. Dirección de Investigación y Docencia - Instituto de Medicina Tropical.

La meningitis bacteriana representa uno de los cuadros infecciosos más graves que puede sufrir el humano, tanto por la mortalidad que produce como por el índice de secuelas que ocasiona en los sobrevivientes (1). A pesar de la introducción de antibióticos efectivos (con excelente actividad bactericida y buena penetración de la barrera hematoencefálica) así como la disponibilidad de unidades de cuidados intensivos en muchos centros hospitalarios la mortalidad en las últimas dos décadas ha variado poco, y existen comunidades donde la mortalidad supera el 30% (2, 3).

La introducción de vacunas efectivas contra el *Haemophilus influenzae* tipo b, contra el *Streptococcus pneumoniae* así como *Neisseria meningitidis* ha contribuido de manera substancial a disminuir el número de casos de meningitis bacteriana, pero los mismos siguen y continuarán ocurriendo (4). Otra estrategia para disminuir la mortalidad así como las consecuencias de la infección en términos de secuelas ha sido la utilización de terapia adyuvantes, principalmente dexametasona, y en menor extensión otros adyuvantes como glicerol y paracetamol entre otros (5-7). Se ha demostrado en modelos experimentales que la dexametasona, puede atenuar el efecto deletéreo de la acción de los mediadores de la respuesta

inflamatoria, como son el factor de necrosis tumoral (FNT), la interleucina 1 y 6, la prostaglandina E2, la adherencia de neutrófilos y disminuir la concentración de lactato en LCR (5). De esta forma, la dexametasona al reducir la respuesta inflamatoria en el SNC disminuiría el edema cerebral y por lo tanto, la presión intracraneana. Aunque diferentes estudios han demostrado que la adición de dexametasona precozmente en el tratamiento de la meningitis bacteriana disminuye las secuelas auditivas en la meningitis por *H. influenzae* tipo b en niños, la mejoría de la mortalidad y secuelas en meningitis neumocócicas no ha sido demostrada concluyentemente (6, 9-10). Además dexametasona no es una medicación sin riesgos desde que se ha observado que la adición de dexametasona en modelo animal de meningitis bacteriana por *S. pneumoniae* agrava el daño neuronal incrementado la apoptosis (muerte celular programada) en el hipocampo, estructura cerebral esencial para las funciones de memoria y aprendizaje (11). Recientemente una completa revisión de datos de pacientes individuales que incluyó 2029 sujetos (833 niños) de cinco estudios no ha encontrado ninguna reducción en la muerte o discapacidad neurológica o audiológica en niños, incluso en la meningitis causada por *H. influenzae*, independientemente del momento de la primera dosis de antibiótico

(12). Sin embargo, tanto la Academia Americana de Pediatría y como el Instituto Nacional de Salud y Excelencia clínica (NICE), del Reino Unido de Gran Bretaña, recomiendan la administración de dexametasona para el tratamiento de lactantes y niños con presunta o confirmada meningitis bacteriana en niños mayores de 3 meses, posición sugerida además por el análisis de Cochrane 2015 pero solo para países de altos ingresos (6).

Otros adyuvantes igualmente se han ensayado como el objeto de disminuir las secuelas o mortalidad en meningitis bacteriana. En este sentido, recientemente un estudio multicéntrico que reclutó pacientes con meningitis bacteriana de hospitales de referencia de varios países latinoamericanos, entre los que participó el Instituto de Medicina Tropical, demostró que la administración de glicerol por vía oral (en dosis de 1.5 ml/kg de glicerol al 85% cada 6 hs por 48 hs), un diurético osmótico utilizado en el tratamiento del edema cerebral, redujo la ocurrencia de secuelas neurológicas en mayor medida que la dexametasona (7).

Se ha demostrado que la pentoxifilina, una metixantina inhibidora no específica de la fosfodiesterasas, disminuye los efectos de la endotoxina sobre la liberación de productos oxidativos de los neutrófilos así como la síntesis de TNF, uno de los principales mediadores de la inflamación en meningitis bacteriana (13). En modelo experimental de meningitis bacteriana por *H. influenzae* tipo b (14), pentoxifilina disminuye los parámetros inflamatorios de LCR. En el presente número de la Revista del Instituto de Medicina Tropical se publican los datos de la adición de pentoxifilina como adyuvante en meningitis bacteriana. En el estudio de carácter prospectivo y abierto en el que todos los pacientes recibieron el mismo tratamiento antibiótico y distribuidos en tres brazos (sin

adyuvante, dexametasona o pentoxifilina) no se encontró diferencias en términos de mortalidad o secuelas entre los 3 grupos. La consulta tardía así como la gravedad (18% ingresaron en choque y 32% con convulsiones) puede ser una causa de que no se hayan observado algún beneficio, dado que la cascada inflamatoria puede haber estado muy desarrollada al momento del ingreso, por lo que la medicación adyuvante ya no podría influenciar en la modulación de citocinas y en la interacción endotelio/neutrófilo. Estudios adicionales que incluyan un mayor número de pacientes y en los que por otra parte los pacientes estén categorizados desde el ingreso (buen pronóstico, pronóstico intermedio y mal pronóstico) para que pudieran ser comparables se requieren urgentemente dada la gravedad de la meningitis bacteriana.

Referencias bibliográficas

1. Sáez-Llorens X, George H McCracken GH. Bacterial meningitis in children. *Lancet* 2003; 361: 2139-48
2. Swartz MN. Bacterial meningitis-a view of the past 90 years. *N Engl J Med* 2004; 351: 1826-28.
3. Daoud AS, al-Sheyyab M, Batchoun RG, Rawashdeh MO, Nussair MM, et al. Bacterial meningitis: still a cause of high mortality and severe neurological morbidity in childhood. *J Trop Pediatr* 1995; 41: 308-10.
4. Lopez Castelblanco R, Lee MJ, Hasbun R. Epidemiology of bacterial meningitis in the USA from 1997 to 2010: a population-based observational study. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 813-19
5. Odio C., Faingezicht I., Paris M, et al. The beneficial effects of early dexamethasone administration in infants and children with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 1991; 324:1525-1531.
6. Brouwer MC, McIntyre P, Prasad K, van de Beek D. Corticosteroids for acute bacterial meningitis. *Cochrane Database of*

- Systematic Reviews 2015, Issue 9. Art. No.: CD004405. DOI: 10.1002/14651858.CD004405.pub5.
7. Peltola H, Roine I, Fernández J, Zavala I, González-Ayala S, González Mata A, Arbo A y col. Adjuvant glycerol and/or dexamethasone to improve the outcomes of childhood bacterial meningitis: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2007; 45:1277-86.
 8. Pelkonen T, Roine I, Leite Cruzeiro M, Pitkäranta A, Kataja M, Peltola H. Slow initial β -lactam infusion and oral paracetamol to treat childhood bacterial meningitis: a randomised, controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2011; 11:613-21.
 9. Peltola H, Roine I, Fernández J, González Mata A, Zavala I, González-Ayala S, Arbo A y col. Hearing impairment in childhood bacterial meningitis is little relieved by dexamethasone or glycerol. *Pediatrics* 2010;125:e1-e8.
 10. Peltola H, Leib SL. Performance of adjunctive therapy in bacterial meningitis depends on circumstances. *Pediatr Infect Dis J* 2013, 32:1381-2
 11. Spreer A, Gerber J, Hanssen M, et al. Dexamethasone increases hippocampal neuronal apoptosis in a rabbit model of *Escherichia coli* meningitis. *Pediatr Res.* 2006;60:210-15.
 12. van de Beek D, Farrar JJ, de Gans J, Mai NTH, Molyneux EM, Peltola P y col. Adjunctive dexamethasone in bacterial meningitis: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Neurol.* 2010; 9: 254-63.
 13. Bessler H, Gilgal R, Djaldetti M, Zahavi I. Effect of pentoxifylline on the phagocytic activity, cAMP levels, and superoxide anion production by monocytes and polymorphonuclear cells. *J Leukoc Biol* 1986; 40: 747-54.
 14. Coimbra R, Melbostad H, Hoyst DB. Effects of phosphodiesterase inhibition on the inflammatory response after shock: role of pentoxifylline. *J Trauma* 2004; 56: 442-449.
 15. Sáenz-Llorens X, Ramilo O, Mustafa M et al. Pentoxifylline modulates meningeal inflammation in experimental bacterial meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 837-843
-

Solicitud de Sobretiros:

Prof. Dr. Antonio Arbo

Departamento de Docencia e Investigación

Instituto de Medicina Tropical

Asunción, Paraguay

antonioarbo@hotmail.com

ARTÍCULO ORIGINAL

Incremento de la severidad del dengue en niños en epidemias sucesivas in Paraguay

Increasing severity of Dengue in children in successive epidemics in Paraguay

Dra. Soraya Araya, Dra. Dolores Lovera, Dra. Cyntia Avalos, Dra. Silvia Ledesma, Dra. María José Mesquita, Dr. Silvio Apodaca, Prof. Dr. Antonio Arbo. Servicio de Pediatría - Instituto de Medicina Tropical

Introducción: La expresión clínica de la infección por el virus del dengue (DENV) varía desde formas leves a graves, cuyo predominio puede variar en cada epidemia.

Objetivo: Caracterizar el comportamiento clínico del dengue en niños hospitalizados en un centro de referencia del Paraguay, durante los brotes (2007, 2009-10 y 2011).

Materiales y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo (años 2007-2009) y prospectivo (2011) basado en la revisión de las historias clínicas de pacientes (pts) internados en el Instituto de Medicina Tropical (IMT) con diagnóstico de egreso de dengue confirmado por laboratorio (IgM Elisa, NS1, RT-PCR) o nexa epidemiológico. Se analizaron y compararon datos demográficos, clínicos, laboratoriales y las complicaciones.

Resultados: Se hospitalizaron 270 niños con diagnóstico de dengue, correspondiendo 98 pts (36%) al brote del 2007, 49 pts (18%) al brote de 2009-10 y 123 pts (46%) al brote de 2011. Los serotipos predominantes por periodo fueron DENV-3, DENV-1 y DENV-2 respectivamente. No hubo diferencia significativa en cuanto a la edad de los pacientes por periodo (13 ± 3 años, $12,5 \pm 3,6$ años y 11 ± 3 años, respectivamente). La incidencia de complicaciones viscerales (encefalitis/miocarditis/hepatitis) fueron mayores en los brotes 2011 (54/123, 44%) y 2007 (24/98, 24%) respecto al 2009-10 (5/49, 10%) ($p < 0,01$), así como la frecuencia de hemorragia severa [18/123 pts (14,6%) en 2011 vs 1/49 (2%) en 2009/10, $p < 0,05$] y la trombocitopenia < 50000 (29% en el 2011 vs 12% en 2009/10, $p < 0,05$). La mortalidad fue baja en los tres periodos (1%, 2% y el 1,6%).

Conclusiones: La presente serie revela las características particulares de cada brote en relación a la severidad. Durante la circulación del DENV-3 y DENV-2 se observó mayor frecuencia de casos graves incluyendo mayor afectación visceral.

Palabras Claves: Dengue, dengue grave, niños

Abstract

Introduction: The clinical expression of infection with dengue virus (DENV) varies from mild to severe, the prevalence vary epidemic.

Objective: To characterize the clinical behavior of dengue in children hospitalized in a referral center of Paraguay, during outbreaks (2007, 2009-10 and 2011).

Materials and Methods: A descriptive, retrospective study based on a review of medical records of patients (pts) hospitalized at the Institute of Tropical Medicine (IMT) with discharge diagnosis of dengue confirmed (2007-2009) and prospective (2011) by lab (IgM Elisa, NS1, RT-PCR) or epidemiological link. They were analyzed and compared demographic, clinical, laboratory data and complications.

Results: 270 children were hospitalized with a diagnosis of dengue, corresponding 98 pts (36%) of the 2007 outbreak, 49 pts (18%) the outbreak of 2009-10 and 123 pts (46%) outbreak of 2011. The predominant serotypes by period were DENV-3, DENV-1 and DENV-2 respectively. There was no significant difference in age of patients per period (13 ± 3 years, 12.5 ± 3.6 years and 11 ± 3 years, respectively). The incidence of visceral complications (encephalitis / myocarditis / hepatitis) were higher in 2011 outbreaks (54/123, 44%) and 2,007 (24/98, 24%) compared to 2009-10 (5 / 49, 10%) ($p < 0.01$), and the frequency of severe bleeding [18/123 pts (14.6%) in 2011 vs. 1/49 (2%) in 2009/10, $p < 0.05$] and thrombocytopenia < 50000 (29% in 2011 vs. 12% in 2009/10, $p < 0.05$). Mortality was low in all three periods (1%, 2% and 1.6%).

Conclusions: This series reveals the particular characteristics of each sprout in relation to the severity. During the circulation of DENV-3 and DENV-2 more frequently more severe cases including visceral involvement it was observed.

Key words: dengue, severe dengue, children

Introducción

El dengue es una enfermedad viral causada por el virus del dengue (DENV), que es un virus ARN de la familia Flaviviridae con cuatro serotipos distintos (DENV1-4). Se trata de la Arbovirosis más común a nivel mundial, con gran impacto en la morbilidad, mortalidad y grandes consecuencias económicas a nivel mundial (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de 2.5 billones de personas viven en zonas de riesgo de contraer la enfermedad, y se calcula que anualmente ocurren más de 50 millones de casos, y aproximadamente 24.000 muertes, principalmente en población pediátrica (2).

El dengue además de lo inherente a la afectación de la salud, impone altos costos sociales y económicos a las regiones afectadas, y se estima que solo en las Américas el costo económico anual ocasionado por el dengue oscila entre 1 y 4 billones de dólares (3)

El Dengue posee un espectro de manifestaciones clínicas que van desde un síndrome inaparente, leve o no específico a una enfermedad hemorrágica grave, en ocasiones mortal. La fiebre clásica del dengue (FD) es una enfermedad febril aguda acompañada de cefalea, dolor retro-

orbitario, rash maculopapular, mialgia y artralgia, que evoca el término de "fiebre rompehuesos".

Las formas severas se caracterizan por signos de insuficiencia circulatoria y manifestaciones hemorrágicas, principalmente hemorragias cutáneas (Fiebre hemorrágica del dengue / síndrome de shock por dengue, DH / SCD). Esta etapa crítica suele producirse en el momento de la desaparición de la fiebre siendo el sustrato fisiopatológico la fuga capilar. En ocasiones, el virus del dengue afecta principalmente a los órganos internos (formas viscerales o atípicas), causando complicaciones como encefalitis, miocarditis o hepatitis, las cuales pueden tener un curso fatal (3).

Varios estudios han explorado diferentes factores que podrían determinar la progresión de la enfermedad de dengue clásico a dengue hemorrágico o DSS y/o complicaciones viscerales, tales como el estado inmunológico, la genética de poblaciones, los títulos de viremia, infección secundaria por serotipos heterólogos, entre otros (4)

La asociación probable de la gravedad del dengue con los serotipos DENV continúa siendo una pregunta sin resolver, a pesar de varios informes que han indicado que el DENV-2 y el DENV-3 pueden causar enfermedades más severas que las causadas por otros serotipos; no obstante los factores predictivos de la severidad de la enfermedad no han sido consistentes en todos los ámbitos (4, 5).

Los brotes epidémicos de dengue representan un gran desafío para los sistemas de salud en los países en vías de desarrollo. En Paraguay, la primera epidemia por el virus del dengue ocurrió en el año 1989, y afectó principalmente al área del Gran Asunción (capital del país y

ciudades aledañas) habiendo sido causada por el serotipo DENV-1, reportándose en esa ocasión 69.182 casos de dengue. Desde entonces aunque un número limitado de casos de dengue fueron registrándose año tras año, una gran epidemia fue desatada en el año 2007 al introducirse el serotipo 3, momento en el cual se registró un importante número de casos, con 28.143 casos oficiales registrados, 200.000 casos estimados, 89 casos de dengue hemorrágico y 7 desenlaces fatales.

Posteriormente los serotipos circulantes del virus del dengue han sido DENV-1 y DENV-2, con casos esporádicos de DENV-4; durante el primer semestre de 2011 se desató un nuevo brote epidémico, causado principalmente por DENV-2, con más de 20.000 casos y una tasa de incidencia de 325 casos por 100.000 habitantes (6)

Los brotes de dengue que han sucedido en Paraguay, causados por diferentes serotipos, nos han dado la oportunidad de observar el comportamiento clínico de la infección por el virus del dengue, en niños hospitalizados durante los brotes en Paraguay. De ahí el objetivo del presente estudio que fue caracterizar el comportamiento clínico de la infección por dengue en niños hospitalizados en un centro de referencia del Paraguay, durante los brotes (2007, 2009-10 y 2011).

Materiales y métodos

Sitio de Estudio: El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Pediatría del Instituto de Medicina Tropical situado en la ciudad de Asunción, Paraguay, el cual constituye el principal centro de referencia de enfermedades infecciosas y tropicales del país.

Diseño y población de estudio:

Estudio descriptivo, de diseño retrospectivo durante los años 2007 a 2009 y prospectivo durante el año 2011, basado en datos obtenidos de los registros médicos de pacientes niños (<15 años) ingresados en el Instituto de Medicina Tropical, con diagnóstico de dengue. El diagnóstico de dengue fue confirmado por métodos laboratoriales (determinación de IgM anti-dengue por ELISA, determinación de antígeno NS1 o RT-PCR) o por nexo epidemiológico.

Se incluyeron solamente pacientes menores de 15 años hospitalizados, excluyéndose los casos ambulatorios atendidos en la institución. Los pacientes fueron estratificados de acuerdo al año de hospitalización en tres períodos:

- Período I, constituido por pacientes hospitalizados durante el año 2007, en el cual se constató la circulación del serotipo 3;
- Período II, constituido por los pacientes ingresados durante los años 2009- 2010, en los que se determinó la circulación de los serotipos DEN-1 y DEN-2, siendo predominante el serotipo 1, (durante el año 2008 no se hospitalizaron niños con dengue en el servicio) y el
- Período III en el cual se incluyó a los pacientes hospitalizados durante el año 2011, con circulación predominante del serotipo DEN-2.

Los datos fueron recolectados en un formulario prediseñado en el que se registraron datos demográficos, datos clínicos [duración de la fiebre, así como también los signos y síntomas asociados (dolor de cuerpo, síntomas gastrointestinales, erupción cutánea, manifestaciones hemorrágicas, dolor abdominal, hipotensión, entre otros)] y datos laboratoriales [hematocrito,

recuento de plaquetas, enzimas hepáticas (ALT / AST)]. También se registraron las variables relacionadas a la evolución del paciente (ingreso a UCI, supervivencia / mortalidad) y las complicaciones (sobreinfección bacteriana, afectación de órganos). Igualmente los pacientes fueron clasificados según la última guía de clasificación de Dengue de la Organización Mundial de la Salud del año 2009 que clasifica a los pacientes como casos de Dengue con o sin signos de Alarma y casos de Dengue Grave.

Definiciones operativas:**Dengue con signos de alarma:**

Dengue con presencia de dolor abdominal intenso y continuo, vómito persistente, acumulación de líquidos, sangrado de mucosas, alteración del estado de conciencia, hepatomegalia, aumento progresivo del hematocrito.

Dengue Grave: Las formas graves de dengue se definen por uno o más de los siguientes criterios: Choque por extravasación de plasma, acumulación de líquido con dificultad respiratoria, sangrado profuso, compromiso de órganos.

Encefalitis por Dengue: Paciente con dengue que presentara cefalea, disminución de la consciencia y convulsiones, que no se explicara por insuficiencia hepática, shock, trastornos electrolíticos y / o hemorragia intracraneal.

Miocarditis por Dengue: Se define por la presencia de síntomas cardíacos (taquicardia / bradiarritmias en el electrocardiograma o hipotensión), con aumento significativo en la concentración de CPK-MB y signos de compromiso en la ecocardiografía (derrame pericárdico y / o disfunción diastólica).

Hepatitis por Dengue: Aumento de las enzimas hepáticas (ALT / AST) más de cinco veces el valor normal.

Hepatitis severa por Dengue: Cuando el aumento de las enzimas hepáticas fue mayor de 1000 UI / ml.

Análisis estadístico: Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete Epi Info®, versión 3.4. Se utilizó la prueba t de Student para el contraste de variables ordinales y la chi cuadrada para el contraste de proporciones. Se definió estadísticamente significativa cuando el valor $p < 0,05$.

Resultados

En el tiempo de estudio, consultaron en el servicio 2.250 pacientes con diagnóstico confirmado de dengue, de los cuales fueron hospitalizados 270 niños, correspondiendo 98 pacientes (36%) al Periodo I (año 2007), 49 pacientes (18%) al Periodo II (años 2009-10) y 123 pacientes (46%) al Periodo III (año 2011).

Los serotipos predominantes en los años 2007, 2009-10 y 2011 fueron DENV-3, DEN-1 y DENV-2 respectivamente.

Al comparar las características demográficas de los pacientes hospitalizados en cada Periodo, no se constató diferencias significativas en cuanto a la edad (13 ± 3 años, $12,5 \pm 3,6$ años y 11 ± 3 años, respectivamente) (Tabla 1).

Se registró mayor proporción de casos graves en los Periodos I y III en

comparación al Periodo II ($p < 0,05$) y un mayor número de pacientes con hipotensión al ingreso ($p < 0,05$).

La frecuencia de hemorragia grave fue [18/123 pts (14,6%) (Años 2009-10) frente al 2% (año 2007), $p < 0,05$]

Se observó mayor número de casos con extravasación de plasma y mayor número de pacientes con requerimiento de Cuidados Intensivos durante el año 2011 (Tabla 1).

Cuando se compararon la incidencia de complicaciones viscerales (encefalitis, miocarditis, hepatitis), se observó mayores incidencias en el año 2011 (54 / 123, 44%) y 2007 (24 / 98, 24%) que en los años 2009-2010 (5 / 49, 10%) ($p < 0,01$).

Los pacientes hospitalizados durante los Periodos I y III mostraron mayor frecuencia de trombocitopenia (plaquetas $< 50\,000$) en comparación al Periodo II (29% y 22%) vs (12%) ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Al valorar las características clínicas y laboratoriales de los pacientes con encefalitis, hepatitis y miocarditis, encontramos mayor leucopenia, menor recuento de plaquetas y mayor porcentaje de extravasación de plasma en el grupo de pacientes con miocarditis (Tabla 3).

Al comparar a los pacientes con compromiso visceral con aquellos sin compromiso visceral, la presencia de extravasación de plasma, hipotensión y mortalidad fueron significativamente mayores en los pacientes con compromiso visceral (Tabla 4)

Tabla 1. Características Clínicas de los niños hospitalizados por Dengue en los diversos periodos

	Periodo I (DENV 3) n= 98	Periodo II (DENV 1) n=49	Periodo III (DENV 2) n=123
Edad media (años) \pm DS	13 \pm 3	12,5 \pm 3,6	11 \pm 3
Edad por Grupos			
<5 años	2 (2%)	2 (4%)	8 (6,5%)
5-12 años	34 (35%)	20 (41%)	66 (53,7%)
13-17 años	62 (63%)	27 (55%)	49 (39,8%)
Femenino/Masculino	1,6:1	1,5:1	1:1,4
Población Urbana	72%	78%	90%
Días de hospitalización \pm DS	2,4 \pm 1,7	3,5 \pm 1,5	5 \pm 2
Dengue Grave (Denco)	21 (21%)*	7 (14%)	30 (24%)*
Hipotensión	16 (16%)	5 (10%)	27 (22%)*
Signos de extravasación	2 (2%)	5 (10%)	30 (24%)*
Hemorragia Leve	42 (42%)	15 (30%)	30 (24%)
Hemorragia Severa	2 (2%)	1 (2%)	18 (14,5%)*
Compromiso visceral	24 (24%)*	3 (6%)	54 (44%)*
UCI	9 (9%)	6 (12%)	20 (24%)*
Mortalidad	1 (1%)	1 (2%)	2 (1,6%)

*Diferencias estadísticamente significativas

Tabla 2. Distribución de los pacientes del estudio según edad y sexo

	Periodo I (DENV 3) n= 98	Periodo II (DENV 1) n=49	Periodo III (DENV 2) n=123
GB/mm ³ (\pm DS)	3200 \pm 2100	3377 \pm 2250	4270 \pm 2450
Hemoglobina X \pm DS (gr/dl)	11,75 \pm 1,56	13,9 \pm 1,2	13 \pm 1,3
Hematocrito medio \pm DS (%)	36 \pm 5	41,7 \pm 1,7	39 \pm 4
Plaquetas/mm ³ (\pm DS)	161000 \pm 78000	154277 \pm 110079	125950 \pm 75250
Plaquetas <100.000/mm ³	31 (31%)	10 (20%)	52 (42%)
Plaquetas <50.000/mm ³	29 (29%)	6 (12%)	27 (22%)

Tabla 3. Características Clínicas y Laboratoriales de los Pacientes con Compromiso Visceral

	Encefalitis n=15	Hepatitis n=65	Miocarditis n=3
Edad Media	12 ± 5	11,7 ± 3,6	8,5 ± 7*
Días de Enfermedad	3 ± 1,8	5,4±2,4	4,3 ± 1
Días de Internación	4,8 ± 3,1	5 ± 3	8 ± 4
Signos de Extravasación	7%	36%	66%*
GB mm ³	4300 ± 1800	3400 ± 1040	2750 ± 650*
Plaquetas mm ³	133.430 ± 60.250	136.350 ± 60.600	58.000 ± 15.000*
Mortalidad	2 (13%)	1 (1,2%)	2 (67%)

*Diferencias estadísticamente significativas

Tabla 4. Comparación entre Fiebre de Dengue con compromiso visceral vs sin compromiso visceral

Variable	Compromiso Visceral n= 81	Sin Compromiso Visceral n= 189	Valor p	OR	RR
Edad media	12,6 ± 3,2	13 ± 3,8	>0,05		
Femenino/Masculino	1,1:1	1:1,4	>0,05		
Días de enfermedad	4 ± 0,5	3,4 ± 1,7	>0,05		
GB/mm ³	3271 ± 1096	4051 ± 2364	>0,05		
Plaquetas <100000 mm ³	26	67	0,6	0,86	0,9
Extravasación de plasma	26	11	0,01	7,6	5,52
Hemoconcentración	22	58	0,56	0,84	0,89
Hipotensión	26	22	0,05	3,56	5,52
Mortalidad	4	0	0,05	-	-

Discusión

El dengue constituye una enfermedad sistémica y dinámica que puede cursar como una enfermedad inaparente, leve o grave y representa un problema de salud en crecimiento en la región de las Américas (7-8).

Numerosos estudios han investigado los factores que podrían incidir en la severidad de las manifestaciones clínicas del dengue,

desde el estado inmunológico, la genética de poblaciones, los títulos de viremia, infección secundaria por serotipos heterólogos, el serotipo viral, aunque los estudios no son concluyentes (9).

Nuestros hallazgos enfocados a la población pediátrica han podido demostrar que el grupo etáreo mayormente comprometido fue el de los pacientes mayores de 10 años, la mayoría procedente de poblaciones urbanas.

Esta distribución etaria del dengue en Paraguay lo ubica como un país en vías de transición epidemiológica al comparar con la epidemiología del dengue en países del sudeste asiático, países que están experimentando actividad sostenida del virus del dengue desde hace más de tres décadas y donde el grupo etario principal de afección son niños menores de 5 años, asemejándose la situación del Paraguay a países con reciente introducción del dengue (10).

En cuanto al comportamiento clínico y severidad de los pacientes en los diversos períodos, hemos constatado mayor severidad en el periodo III, donde predominó la circulación del serotipo 2 del virus del dengue, lo cual no es de extrañar dada la asociación ya previamente reportada de mayor frecuencia de hipotensión, extravasación y hemorragias severas con este serotipo.

Numerosos reportes han investigado estos aspectos (edad y serotipo) siendo nuestros hallazgos coincidentes con los mismos. En este sentido, la Dra. Crisanta Rocha y colaboradores, en base a estudios de dengue en Nicaragua describieron la asociación de DENV-2 con hemorragia severa e hipotensión (11).

Aunque el grupo etario puede relacionarse a la presentación de complicaciones, no hemos encontrado diferencias significativas en cuanto a la edad y la presencia o no de compromiso visceral, siendo la edad media en años de los pacientes con compromiso visceral similar al de los pacientes sin esta complicación ($12,6 \pm 3,2$ años vs $13 \pm 3,8$ años, $p > 0,05$). Sin embargo, al valorar a los pacientes con compromiso visceral entre sí, se encontró que la edad media de los pacientes que desarrollaron miocarditis fue significativamente menor.

Al analizar la presencia o no de compromiso visceral, fue durante la circulación de los serotipos DENV3 y DEN2 (Periodos I y III) que las manifestaciones de encefalitis, miocarditis o hepatitis fueron más frecuentes.

Numerosos reportes han investigado estos aspectos y nuestros hallazgos son coincidentes con los mismos. En este sentido, la presencia de compromiso visceral fue reportada por Vaughn y colaboradores. En Indonesia y por Pereira y colaboradores en Brasil, haciendo énfasis en la participación de DENV-3 en dichos casos (12).

Una medida de severidad de una epidemia de dengue se mide en base al requerimiento de hospitalización en unidad de cuidados intensivos, en la evaluación de la severidad, no resta importancia la magnitud de la trombocitopenia (13). En este sentido, una trombocitopenia profunda fue más común durante la circulación de DENV-2 y DEN-3. Además, una mayor frecuencia de hospitalización en unidad de cuidados intensivos se observó principalmente en el periodo de circulación del serotipo 2 (Periodo III), coincidente con estudios realizados por epidemiólogos del Brasil.

Las epidemias de dengue reportadas en esta serie han sido de mortalidad baja y similar en los 3 períodos (1%, 2% y 1,6%). Sin embargo, la mortalidad fue mayor en el grupo de pacientes con compromiso visceral ($p < 0,02$). Este grupo considerado como dengue con manifestaciones inusuales no están incluidos en la clasificación de dengue de la Organización Mundial de la Salud de 1997 (2), lo que ha llevado a la reconsideración de dicha clasificación y a la publicación de una nueva clasificación que contempla la mencionada debilidad.

Conclusión

En conclusión, este estudio demuestra las características particulares de cada brote de dengue en cuanto a gravedad. En la experiencia de nuestro país, durante los brotes causados por DENV-3 y DENV-2 se observó mayor frecuencia de casos graves (incluidos los casos con compromiso visceral) en comparación con el brote causado por DENV-1. Los hallazgos reportados en el presente estudio contribuirán a la mejor caracterización del potencial patogénico de los distintos serotipos de dengue en poblaciones humanas

Referencias

1. Eiros Bouza JM, Ochoa Sangrador C. Perfil Pediatric Dengue Vaccine Initiative, 2009. Global Burden of Dengue. Available at: http://www.pdvi.org/about_dengue/GBD.aspx.
2. WHO: Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva: WHO; 2009.
3. Srikiatkhachorn A, Rothman AL, Gibbons RV et al. Dengue-how best to classify it. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 563-7.
4. Shah I. Dengue and liver disease. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 993-4.
5. Guilarde AO, Turchi MD, Siqueira JB et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever among adults: clinical outcomes related to viremia, serotypes, and antibody response. *J Infect Dis* 2008; 197:817-24.
6. Sharp TW, Wallace MR, Hayes CG, et al. Dengue fever in U.S. troops during Operation Restore Hope, Somalia, 1992-1993. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53:89.
7. Endy TP, Chunsuttiwat S, Nisalak A, et al. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Epidemiol* 2002;
8. Araya S, Avalos C, Duarte M, Sanabria G, Apodaca S, Lovera D y Arbo A. Clinical Behavior of Dengue in children in recent years in Paraguay. *Rev Inst Med Trop* 2010; 51:13-18
9. Malik A, Earhart K et al. Dengue hemorrhagic fever outbreak in children in Port Sudan. *Journal of Infection and Public Health* (2011) 4; 1-6
10. Rocha et al Serotype specific differences in clinical manifestations of Dengue. *Am J Trop med hyg* 74(3) 2006: 449_456
11. Agarwal M, Giri S, Sharma V. Dengue causing fulminant hepatitis in a hepatitis B virus carrier. *BioScience Trends*. 2011; 5(1):44-45.
12. Khongphatthanayothin A, Suesaowalak M, Muangmingsook S, et al. Hemodynamic profiles of patients with dengue hemorrhagic fever during toxic stage: an echocardiographic study. *Intensive Care Med* 2003; 29:570-574
13. Lawn SD, Tilley R, Lloyd G et al. Dengue hemorrhagic fever with fulminant hepatic failure in an immigrant returning to Bangladesh. *Clinical Infectious Diseases* 2003. 37, e1-e4.

Fecha de recepción: 10 de diciembre de 2014

Fecha de aceptación: 07 de agosto de 2015

Solicitud de Sobretiros:

Dra. Soraya Araya
Servicio de Pediatría
Instituto de Medicina Tropical
sorayaraya@gmail.com

ARTÍCULO ORIGINAL

Colonización nasal de *Staphylococcus aureus* y su relación con afectación sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical

Nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its relationship with systemic involvement in adult patients admitted to the Institute of Tropical Medicine

Dra. Mirtha Calderini¹, Biol. Gabriela Sanabria², Dra. Aurelia Taboada¹, Dra. Stela Samaniego¹, Dr. Bq. Juan Irala³, Dr. Gustavo Benítez Estigarribia¹. ¹Servicio de Clínica Médica, ²Dirección de Investigación y docencia, ³Laboratorio de Bacteriología

Introducción: La diversidad del *S. aureus* como causante de infecciones diversas es mundialmente conocida, se estima 28 casos por cada 100.000 personas. Los últimos años los han mostrado como re-emergente en infecciones severas de piel y partes blandas en pacientes de la comunidad, pero con características fenotípicas y genotípicas diferentes. **Objetivo:** Determinar la relación entre la colonización nasal de *Staphylococcus aureus* y su relación con afección sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical. **Materiales y métodos:** Estudio prospectivo, analítico y de corte transversal en el que se incluyeron pacientes >16 años de la comunidad con infección de piel y partes blandas y/o infecciones invasivas a *S. aureus*, internados en el Instituto de Medicina Tropical. **Resultados:** Fueron incluidos 86 pacientes (pts). La edad media de los pacientes fue de 39 ± 17 años, 53 (62%) de sexo masculino, los diagnósticos frecuentes fueron: celulitis 43 pts (52%), forunculosis 12 pts (14%) y absceso 8 pts (10%). De 73 cultivos realizados, 28 retornaron positivo para *S. aureus* (38%, 50% SAMR), 33 pts tuvieron tratamiento (tto.) previo (38%), 15 pts (17%) requirieron cambio de tto. 18 pts presentaron complicaciones (33% neumonía, 17% osteomielitis). Dos pacientes fallecieron (2%), ambos SAMS. Tres pacientes (3%) fueron recurrentes de infección, inmunosuprimidos 4 pacientes (5%), hemos encontrado 40 pacientes con retorno negativo (46,5%) asociación $p=0.29$. **Conclusión:** En la relación de la colonización nasal de *S. aureus* con afección sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical no existe una asociación significativa. **Palabras claves:** infecciones de piel y partes blandas, pacientes adultos,

Abstract

Introduction: The diversity of *S. aureus* to cause various infections is known worldwide, it is estimated 28 cases per 100,000 people. Recent years have shown how re-emerging in severe skin and soft tissue infections in patients in the community parties, but with different genotypic and phenotypic characteristics.

Aim: To determine the relationship between nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its relationship with systemic disease in adult patients admitted to the Institute of Tropical Medicine.

Materials and Methods: Prospective, analytic and cross-sectional study in which patients > 16 years of the community were included with skin and soft tissue infection and / or invasive *S. aureus* infections parties admitted to the Institute of Tropical Medicine.

Results: We included 86 patients (pts). The mean age of patients was 39 ± 17 , 53 (62%) male, frequent diagnoses jurisdiction: cellulite 43 pts (52%), forunculosis 12 sts (14%) and abscess 8 pts (10%). Crops grown 73, 28 returned positive for *S. aureus* (38%, 50% MRSA), 33 pts had treatment (tto.) Previous (38%), 15 pts (17%) required tto change. 18 pts had complications (pneumonia 33%, 17% osteomyelitis). Two patients died (2%), both SAMS. Three patients (3%) were recurrent infection, 4 (5%) immunosuppressed patients, we found 40 patients with negative return (46,5%) $p = 0,29$ association.

Conclusion: In the relation of nasal colonization of *S. aureus* with systemic disease in adult patients admitted to the Institute of Tropical Medicine no significant association

Key words: adults patiens, skin and soft tissue infections.

Introducción

Staphylococcus aureus es un patógeno que causa infecciones de diversa gravedad tanto en niños como en pacientes adultos. Su frecuencia es alta (se estima 28,4 casos por cada 100.000 personas). En los últimos años reemergió como patógeno de infecciones severas de piel y partes blandas en pacientes de la comunidad, pero con características fenotípicas y genotípicas diferentes (1).

Staphylococcus aureus coloniza normalmente piel; sin embargo, es un importante patógeno humano causante de enfermedades hospitalarias y de la comunidad, debido a su distribución cada vez más amplia y frecuente (2).

Causa habitualmente serias infecciones crónicas, las cuales pueden ser refractarias al tratamiento antimicrobiano. Las infecciones estafilocócicas muchas veces están asociadas a síndromes leves como foliculitis e intoxicaciones alimentarias, hasta otros de elevada mortalidad, como neumonía, endocarditis y síndrome de shock tóxico, etc (2)

La incidencia de las infecciones causadas por SARM no deja de aumentar en la mayoría de países, como manifestación de la transmisión del microorganismo a pacientes predispuestos sometidos a procedimientos invasores. La morbilidad asociada a algunas infecciones causadas por SARM es considerable. En los últimos años, además, estamos asistiendo a la emergencia de dos nuevos problemas asociados a SARM: la disminución de la sensibilidad a

glicopéptidos y la aparición de casos de infección comunitaria por cepas de SARM distintas de las causantes de infecciones nosocomiales.

Se buscaron asociaciones estadísticamente significativas y se expresaron las variables en medias y porcentajes.

Materiales y métodos

Estudio prospectivo, analítico y de corte transversal en el que se incluyeron pacientes >16 años de la comunidad con infección de piel y partes blandas y/o infecciones invasivas a *S. aureus*, internados en el Instituto de Medicina Tropical.

Se han identificado a los pacientes con infección sistémica por *S. aureus* con el fin de buscar colonización nasal por *S. aureus* y analizar las características clínicas de pacientes y asociar las infecciones sistémicas con la portación nasal.

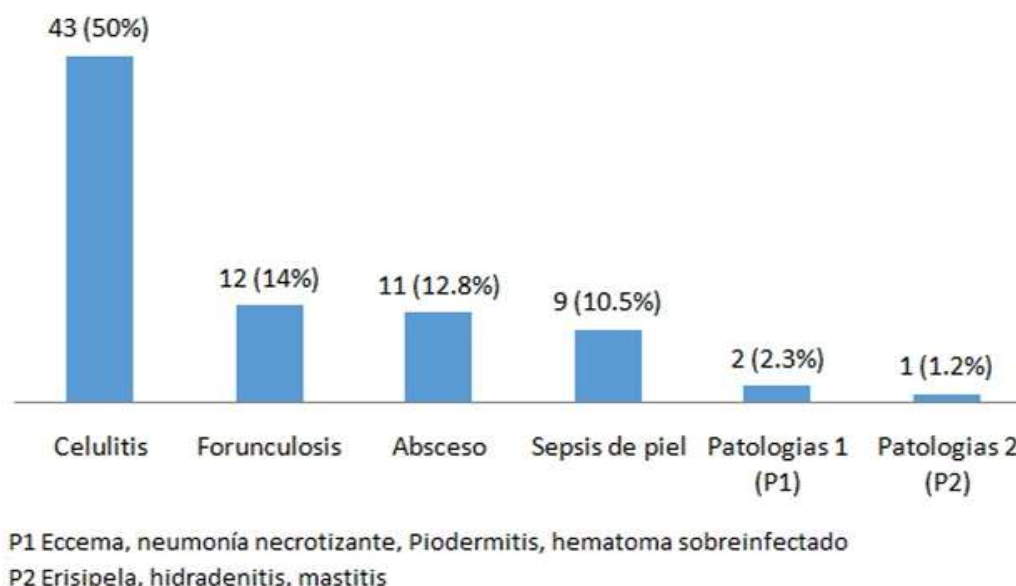
Resultados

En el tiempo de estudio un total de 86 pacientes (pts) cursaron con infección sistémica por *S. aureus*.

La edad media de los pacientes fue de 39 ± 17 años, 53 (62%) de sexo masculino.

Los diagnósticos frecuentes fueron: celulitis 43 pts (52%), forunculosis 12 pts (14%) y absceso 8 pts (10%) (Grafico 1).

Grafico 1. Diagnósticos encontrados en los pacientes con infección sistémica por *S. aureus*



De los cultivos de hisopados nasales realizados, 28 retornaron positivo para *S. aureus* obteniendo un retorno del 38%, al analizar el estado de sensibilidad a la oxacilina, el 50% de ellos resultaron ser resistentes a la oxacilina.

El tratamiento previo fue observado en 33 pacientes (38%), debido a la evolución durante la internación, 15 pacientes requirieron cambios en el tratamiento (17%).

La presencia de complicaciones en el grupo con hisopado nasal positivo fue de 5 pacientes, siendo las más frecuentes la neumonía (33%) y la osteomielitis (17%).

Se constató que dos pacientes fallecieron, ambos SAMS con hisopado nasal positivo (Tabla 1).

Tres pacientes (3%) fueron recurrentes de infección, se observó que 4 pacientes (5%) eran inmunosuprimidos.

Tabla 1. Asociación de variables en pacientes con infección sistémica por *S. aureus* con hisopado nasal.

	Hisopado Nasal (+) n= 28	Hisopado Nasal (-) n= 60	p	RR	OR
Masculinos	19 (68%)	34 (56%)	0,3	1,1 (0,8-1,6)	1,6 (0,6-4)
Edad media	37 ± 20	39 ± 16			
Cambio de Tto*	1 (3,5%)	14 (23%)	0,03	0,1 (0,02-1,1)	0,1 (0,01-0,9)
Complicaciones	5 (18%)	25 (42%)	0,03	0,4 (0,1-1)	0,3 (0,1-0,9)
Óbito	2 (7%)	0	0,09	0	0
Reurrencia	2 (7%)	1 (2%)	0,2	4,2 (0,4-45)	4,5 (0,3-52)

* Tratamiento

Hemos encontrado 40 pacientes con retorno del cultivo de portación nasal negativo (46,5%) asociación p=0,29

Conclusión

En la relación de la colonización nasal de *S. aureus* con afección sistémica en pacientes adultos internados en el Instituto de Medicina Tropical no existe una asociación significativa.

H, Soto A, Matos L, Serrano E, Roig MA editores. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. 1ª ed. Barcelona (España): Marge Books ed.; 2009: 15-29.

- Rodríguez Baño J, Pascual A, Ramírez E. et al, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina endémico: control tras la implantación de un programa de control específico. X Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Sevilla, 2002

Referencias

- Lamas C, Tiscornia J, Cornistein W, Arias M, Abelda A. Community metilicine resistant *Staphylococcus aureus* skin infection in a family setting. *Dermatol Argent* 2010;16(2):126-128
- Cueto M, Pascual A. Microbiología y Patogenia de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. En: Pahissa A, Soler

Fecha de recepción: 13 de julio de 2015

Fecha de aceptación: 10 de septiembre de 2015

Solicitud de Sobretiros:

Dra. Mirtha Calderini

Investigación_docencia@imt.edu.py

Servicio de Clínica Médica - IMT

ARTÍCULO ORIGINAL

Pentoxifylline as Adjunctive Therapy in Children with Acute Bacterial Meningitis

Pentoxifilina como terapia adjunta en niños con Meningitis Bacteriana Aguda

Prof. Dra. Celia Martínez de Cuellar, Dra. Dolores Lovera, Prof. Dr. Antonio Arbo. Servicio de Pediatría. Instituto de Medicina Tropical

Introduction. *Pentoxifylline, an inhibitor of tumor necrosis factor, has been shown in animal models of acute bacterial meningitis that reduce the host inflammatory response.*

Objective. *To evaluate the effect of pentoxifylline administrated as adjunctive therapy in the treatment of acute bacterial meningitis in children.*

Material and methods. *Prospective and open study that included children, between 3 months to 15 years old hospitalized in the Institute of Tropical Medicine, of Asunción, Paraguay, with the diagnosis of acute bacterial meningitis. Patients were randomly assigned, to receive in addition to antibiotic therapy (cefotaxime or ceftriaxone) pentoxifylline, dexamethasone, or neither. The presenting status was recorded and the course of disease monitored with preset criteria. The primary endpoints comprised death and severe neurological sequelae.*

Results. *Eighty seven children received as adjunctive drug pentoxifylline (n=35), dexamethasone (n=30) and neither (n=22). At admission, the demographic, clinical and laboratory characteristics of the patients were comparable. There were no significant differences among the three groups regarding to the duration of fever and meningeal symptoms after admission. The mortality were comparable (11% in pentoxifylline, 13% in dexamethasone and 9% in control group) ($p>0.6$). Among the survivor patients, unfavorable outcome (severe sequelae) was observed in 13%, 20% and 15% for pentoxifylline-, dexamethasone- and control-group, respectively ($p>0.5$).*

Conclusion. *The data of the present study do not support the routine use of pentoxifylline as adjunctive therapy for bacterial meningitis in children.*

Key words: *Acute bacterial meningitis; children; pentoxifylline; adjunctive therapy*

Resumen

Introducción. La pentoxifilina, un inhibidor del factor de necrosis tumoral, se ha demostrado en modelos animales de la meningitis bacteriana aguda que reducen la respuesta inflamatoria del huésped.

Objetivo. Para evaluar el efecto de la pentoxifilina se administra como terapia auxiliar en el tratamiento de la meningitis bacteriana aguda en niños.

Material y métodos. Estudio prospectivo y abierto que incluyó a los niños, entre 3 meses a 15 años de edad hospitalizado en el Instituto de Medicina Tropical, de Asunción, Paraguay, con el diagnóstico de la meningitis bacteriana aguda. Los pacientes fueron asignados al azar para recibir, además de la terapia con antibióticos (cefotaxima o ceftriaxona) pentoxifilina, dexametasona, o ninguno. El estado de presentación se registró y el curso de la enfermedad monitorizó con criterios preestablecidos. Los criterios de valoración primarios comprenden la muerte y secuelas neurológicas graves.

Resultados: Ochenta y siete niños recibieron pentoxifilina drogas como adyuvante ($n = 35$), dexametasona ($n = 30$) y no ($n = 22$). Al ingreso, las características demográficas, clínicas y analíticas de los pacientes eran comparables. No hubo diferencias significativas entre los tres grupos en cuanto a la duración de la fiebre y los síntomas meníngeos después de la admisión. La mortalidad fue comparable (11% en pentoxifilina, 13% en dexametasona y 9% en el grupo control) ($p > 0,6$). Entre los pacientes sobrevivientes, se observó un resultado desfavorable (secuelas graves) en el 13%, 20% y 15% para pentoxifylline-, dexamethasone- y el control de grupos, respectivamente ($p > 0,5$).

Conclusión. Los datos del presente estudio no apoyan el uso rutinario de la pentoxifilina como tratamiento adyuvante para la meningitis bacteriana en niños.

Palabras claves: La meningitis bacteriana aguda; niños; pentoxifilina; tratamiento adyuvante

Introduction

Bacterial meningitis is one of the major causes of morbidity and mortality among children throughout the world. Despite potent antibiotics and aggressive care support, mortality rates remain high, mainly in developing world (up to 25-40%) (1), and up to 50% who survive are left with significant neurological sequelae, (1, 2).

Different studies have demonstrated that cytokines play a central role in the pathogenesis of bacterial meningitis. High levels of TNF, IL-1 α , and others such as macrophage inflammatory protein 1 (MIP-1) and macrophage inflammatory protein 2 (MIP-2) induce enhanced blood brain barrier permeability, leukocytosis in cerebrospinal fluid, and brain edema (2). Because the degree of inflammation in the subarachnoid space correlates inversely with outcome, different drugs that can decrease the release of cytokines were proposed as adjunctive therapy in infants and children with meningitis in an attempt to reduce the inflammatory response in the CSF and to improve the outcome (3).

Previous studies have shown that dexamethasone used as adjunctive therapy for bacterial meningitis in childhood has a beneficial effect (4). However, although several studies have reported that dexamethasone reduces significantly the case fatality rate in bacterial meningitis (5),

others work showed different conclusions (6). In addition, the effect appeared to be pathogen specific (*Haemophilus influenzae* type b, Hib) and limited to hearing loss (4). More recently, several reports from developing countries showed that children with bacterial meningitis treated with dexamethasone exhibit greater mortality (7) or any beneficial effect (8). Also, a recent multicenter observational study including children with meningitis hospitalized in 18 US states found that adjuvant corticosteroid therapy was not associated with survival or time to hospital discharge (9). Thus, the clinical effects of dexamethasone on childhood meningitis remain unclear, and indicate the necessity to explore new alternatives in order to reduce the terrible consequences of bacterial meningitis.

Pentoxifylline (1-[5-oxohexyl]-3,7-dimethylxanthine), a methylxanthine derivative and nonspecific phosphodiesterase inhibitor, has been used for several years for the treatment of intermittent claudication in patients with peripheral and cerebrovascular atherosclerotic disease (10). It has been shown that pentoxifylline can reverse many of the effects of endotoxin and endotoxin-induced cytokines on neutrophil function, eg. superoxide production, degranulation, and adherence to endothelial cells (11). In addition, recent evidence indicates that pentoxifylline inhibits TNF synthesis via the inhibition of phosphodiesterase and the increase of intracellular cyclic adenosine monophosphate (12). In human volunteers, under controlled conditions of endotoxemia, pentoxifylline totally abolished the endotoxin-induced rise of TNF (13), and multiple works show that pentoxifylline have a beneficial effects on complications where this cytokine plays a role, such as after cardiopulmonary bypass in open-heart surgery, sepsis, acute respiratory distress syndrome or cerebral malaria (14).

In experimental model of bacterial meningitis by Hib, the administration of pentoxifylline decrease the peak of TNF concentration in the cerebrospinal fluid (CSF) and modulate in significant degree the meningeal inflammation, reducing significantly the CSF concentrations of leukocytes, protein and lactate (15). Moreover, in experimental model of bacterial meningitis by *S. pneumoniae*, pentoxifylline failed to reduce neuronal damage although showed some anti-inflammatory activity (16).

The pentoxifylline regimen has been used previously as an ancillary treatment for cerebral malaria (17). In this work, we evaluate the effect of pentoxifylline, used as adjunctive therapy, in the treatment of acute bacterial meningitis in children.

Material and methods

Site of the Study. This study was performed at the Pediatric Service of the Institute of Tropical Medicine, located in Asunción, the capital of Paraguay. Asuncion is a city of 750,000 inhabitants, but with an influence area of 1,500,000 persons. The institution is one of the major reference centers of infectious diseases of the country, and provides medical assistance to low socioeconomical level patients.

Elegible patients. This prospective study included infants of both sexes, between 3 months to 15 years old hospitalized in the institution from January 1996 to January 1999, with the diagnosis of bacterial meningitis. Bacterial meningitis was defined by a positive culture of the CSF and/or blood culture with CSF pleocytosis (>10 cells/ul). Patients with clinical symptoms of meningitis and findings characteristic of bacterial infection on

examination of the cerebrospinal fluid (pleocytosis $>1000/\mu\text{l}$, hypoglucorrachia $<10\text{ mg/dl}$ and hyperalbuminorrachia $>100\text{ mg/dl}$), but with negative cultures were also included.

Infants less than 3 months of age or with clinical conditions considered as underlying disease, including infection due to human immunodeficiency virus with a CD4 count less than $1000/\text{mm}^3$, neoplasm, diabetes, congenital cyanotic cardiopathy, chronic suppurative otitis, CSF fistula, hydrocephalus, asplenia, Down syndrome, previous transplant, and chronic (>15 days) use of steroids or other immunosuppressive medication were excluded. Patients with previous episodes of bacterial meningitis, aseptic meningitis, as well as patients who had received parenteral antibiotics before admission were also excluded. The study was approved by the ethics committee of the institution. The aim of the study was explained to the guardian accompanying the child on admission.

Treatment. All patients received as antibiotic cefotaxime (200 mg/kg/day every 6 hs) or ceftriaxone (100 mg/kg/day every 24 hs) and the same fluid hydration schedule. At admission patients were openly randomized into three groups on the basis of a randomized number table. Group I was given a pentoxifylline (Hoechst-Roussel Pharmaceuticals Inc) at the doses of 8 mg/kg/day , through continuous intravenous (IV) infusion. Group II was given dexamethasone sodium phosphate at a dose of 0.15 mg per kilogram every six hours IV and group III any adjuvant drugs (control group). Pentoxifylline and dexamethasone were begun 15 to 20 minutes before the intravenous administration of antibiotics, and was administered for four days. Due the way of administration of the study drugs were different (one continuous and the other intermittent infusion), this study was not

blind. Antibiotics were continued for 10 days in all cases except meningococcal meningitis when the course was 7 days. Intravenous fluids were given in maintenance volumes, calculated according to bodyweight, until the patients were able to feed.

Clinical Evaluation. At the time of enrollment and thereafter, all patients were clinically evaluated using a standardized method of data collection. Shock was defined as the finding of a systolic blood pressure lower than the 5th centile for age. Presence of severe coma was defined according to Glasgow score; those patients admitted with a Glasgow score less than 9 were including in this category. Fever was defined as the presence of an axillary temperature $\geq 37.8^\circ\text{C}$ or a rectal temperature $\geq 38^\circ\text{C}$. After admission, febrile days were considered those with a temperature exceeding mentioned limits. Nutritional status was evaluated by the Gómez scale (weight deficit according to age) (17).

Every child was assessed before discharge for neurological, developmental, visual and hearing difficulties. Hearing was assessed to determine whether behavioral responses were appropriate for age; auditory brainstem responses (ABR) were not carried out systematically. Presence of neurologic sequelae due to meningitis was analyzed using coding system ICD-9 (International Disease Classification, 9th revision) and Herson & Todd criteria (18). Severe sequelae was defined as those that implied incapacity to be by his / her own, as blindness, non-compensated hydrocephalus, quadriplegia, severe mental deficit and seizures refractory to conventional treatment. Presence of hearing impairment, hemiparesis, hyperactivity, peripheral facial paralysis or subdural collection was considered as minor sequelae (18).

Laboratory Studies. Cerebrospinal fluid from all patients was examined at the time of the diagnosis and 24 hours after the first dose of the antibiotic. Besides cytochemical analysis, all specimens of cerebrospinal fluid were routinely cultured on blood and chocolate agar plates and thioglycolate broth. Blood samples for culture were obtained from all patients before they began antibiotic therapy.

Statistical analysis. Differences in discrete variables among the treatment groups were evaluated with 2-way contingency tables. The standard χ^2 test was used for comparison of proportions between groups, with the use of Yates' continuity correction in 2×2 tables. In the

event of low expected frequencies, exact P values were obtained from STATA® version 8.2 (STATA corp. LP, College Station, Texas). Differences in continuous variables among the treatment groups were tested by analysis of variance. $P < 0.05$ (2-tailed) was considered significant.

Results

Eighty-seven patients were enrolled during the study. After randomization, 35 patients received pentoxifylline, 30 dexamethasone and 22 no adjuvant drug. At baseline, the demographic, clinical and laboratory characteristics of the patients were comparable (Table 1).

Tabla 1. Baseline demographic and clinical characteristics of the patients at admission*

	Pentoxifylline N=35	Dexamethasone N=30	Control N=22	P value
Age (months), SD	20,7 ± 37,4	22 ± 35	38 ± 55	0.16
Sex				
Female	15 (43%)	11 (37%)	8 (36%)	0.62
Male	20 (67%)	19 (63%)	14 (64%)	0.62
Duration of disease pre-admission (days)	3,3 ± 4,3	3.5 ± 4,4	2.3 ± 2	0.39
Previous antibiotic therapy	8 (23%)	7 (20%)	5 (23%)	0.99
Fever	32 (92%)	27 (89%)	21 (91%)	0.84
Neck stiffness	24 (68%)	20 (65%)	16 (73%)	0.73
Seizures	10 (29%)	8 (27%)	10 (45%)	0.19
Glasgow coma scale, SD	13.1 ± 2.6	12.8 ± 2.3	13.4 ± 1.5	0.64
Severe coma (Glasgow<9)	2 (6%)	2 (7%)	1 (5%)	0.84
Shock	6 (17%)	4 (13%)	6 (27%)	0.36
Laboratory data				
Hemoglobin < 9 gr/dl	14 (38%)	11 (53%)	9 (41%)	0.78
WBC/mm ³ (mean, SD)	15645 ±10123	17323 ±12180	13771±68590.29	

* For definitions of groups, see text; WBC=white blood cell

The mean age of the patients were $20,7 \pm 37,4$ months, 22 ± 35 months, and 38 ± 55 months, for pentoxifylline, dexamethasone and control groups, respectively ($p > 0.1$). Classic symptoms and signs of meningitis were present in a large proportion of the patients (fever in 92%, 89%, and 91%, respectively; vomits in 78%, 73%, and 82%, and neck stiffness in 68%, 65%, and 73%, respectively). Similarly, the rate of seizures before admission was comparable in the three groups [9 patients (26%) in the pentoxifylline group vs 8 (27%) in dexamethasone group vs 10 (45%) in control group] ($p > 0.1$)

One microorganism was isolated in 40%, 53% and 53% of the patients in the pentoxifylline, dexamethasone and control-groups, respectively. The main microorganisms cultured in these groups were *H. influenzae* type b (in 23%, 43% and 45%) and *S. pneumoniae* (in 14%, 10% and 9%).

Clinical course and outcome. The mean number of days with fever after beginning antibiotic therapy was comparable: 3.4 ± 2.9 days in the pentoxifylline group vs 3.1 ± 2.6 days in the dexamethasone group vs 2.8 ± 3.6 days in the control group ($p > 0.1$). More patients in the dexamethasone group had seizures after admission (53%) as compared with the pentoxifylline group (17%) and control patients (35%) ($p < 0.05$).

During hospitalization there was no significant difference among the three groups regarding to the incidence of secondary fever which was observed in 21%, 17% and 35% of the patients from

pentoxifylline, dexamethasone, and control-groups, respectively ($p > 0.2$). Also the duration of meningeal symptoms in the three groups was similar: 4 ± 3 days vs 4.5 ± 3.8 days vs 4.3 ± 2.7 days, for pentoxifylline, dexamethasone, and control-groups, respectively. Ten patients died (11%): four (11%) in the pentoxifylline group, four (13%) in the dexamethasone group and two (9%) in the control group (no differences among the different groups) ($p > 0.6$).

Among the survivor patients, unfavorable outcome, defined as the presence of severe sequelae, was observed 13%, 20% and 15% for pentoxifylline, dexamethasone and control-groups, respectively ($p > 0.5$). Similarly, the frequency of any sequelae (severe plus minor) was similar in the three groups: 40% vs 43% vs 44%, for pentoxifylline, dexamethasone and control-groups, respectively.

Cytochemical changes of CSF. In the table 2 are shown the changes in WBC, glucose and albumin in the CSF taken after 24 hours of initial treatment. A significant difference was observed when the number of CSF WBC of the second sample in pentoxifylline and control groups was compared with CSF WBC count in dexamethasone group. In the first two groups the number of WBC CSF increased (mean of 4%) compared with a remarkable decrease observed in dexamethasone group (from $5.6 \pm 9.6 \times 10^3/\text{mm}^3$ to $1.3 \pm 2.7 \times 10^3/\text{mm}^3$, a diminution of 77%) ($p < 0.05$). Moreover, the magnitude of change in the level of glucorrachia and albuminorrachia in second CSF sample was no different among the three groups (table 2).

Tabla 2. Cytochemical characteristics of CSF in the different study groups

Group	Leukocytes (x10 ⁹ /L)		Glucose (mg/dL)		Protein (mg/dl)	
	At admission	At 24 hs	At admission	At 24 hs	At admission	At 24 hs
PTX	3.3 ± 5.2	3.4 ± 5.9	10 ± 22	41 ± 17	196 ± 198	114 ± 86
DX	5.6 ± 9.6	1.3 ± 2.7*	15 ± 15	27 ± 30	240 ± 208	112 ± 82
Control	2.6 ± 2.9	4.1 ± 5.4	17 ± 24	35 ± 25	191 ± 80	130 ± 87

Values are the mean ± SD. PTX=pentoxifylline; DX=dexamethasone;

* p<0.05 against other groups.

Discussion and Conclusión

To improve the prognosis of bacterial meningitis, various experimental and clinical studies have focused on adjunctive therapy-including dexamethasone, monoclonal antibodies against endotoxin, and non-steroids anti-inflammatory drugs. Pentoxifylline, a methylxanthine that exerts multiple beneficial effects on the inflammatory cascade by increasing intracellular cyclic adenosine monophosphate (12), has been shown to inhibit in vitro the release of TNF- α by human leukocytes during stimulation with Hib or endotoxin (18), and reduce in animal model of meningitis by Hib the peak TNF concentrations in CSF as well as different CSF inflammatory indices (CSF leukocytes, lactate and protein) (19). Compared to dexamethasone, the approved drugs for adjunctive treatment of bacterial meningitis, pentoxifylline offers advantages: does not affect the penetration of antibiotics in the CSF as was reported with dexamethasone in the setting of decreased inflammation, does not mask signs such as fever that would identify the non-responsive patient, and lack the multiple adverse effects that have been reported with steroids. Besides these, dexamethasone has the potential to increase the apoptosis neuronal (20). Thus pentoxifylline appear as a good candidate for clinical use.

The results of our clinical trials revealed no evidence of benefit from the use of pentoxifylline for ancillary treatment of bacterial meningitis. There were no differences in the clinical evolution, the mortality as well as the rate of severe sequelae among the three groups of patients. This clinical outcome relates with the absence of improvement in the CSF meningeal inflammation indices by effect of pentoxifylline (as compared to the control group). Although Saez-Llorens et al (17) in animal model of Hib meningitis have found that pentoxifylline decrease faster different indices of meningeal inflammation, in the present study, patients treated with pentoxifylline did not exhibit after 24 hours of initial treatment a significant decreased in the CSF leukocyte count, reduction in albumin CSF level or increasement of glucorrachia.

To our knowledge there are not previous studies that have evaluated pentoxifylline alone as adjuvant drug in bacterial meningitis. Bociaga-Jasik et al (21) in a small study including 42 patients compared the effect of dexamethasone vs dexamethasone plus pentoxifylline on the course of this disease, and found that the combination significantly decrease the mortality and reduce the neurological sequelae of patients with bacterial meningitis; however any patients received pentoxifylline alone.

The possible reason for not showing any benefit with pentoxifylline in our study when the theoretical arguments look so convincing could be various. First, a significant proportion of patients were admitted to hospital with longer duration of illness (three days vs one day in the Odio et al study) (4) and had received oral courses of antibiotics before presentation (>20% of the patients). It is possible that the inflammatory cascade was very developed for the time of admission of patients that pentoxifylline could not influence in significant degree in the modulation of cytokines or neutrophil/endothelial cell interaction. However, longer preadmission evolution is the most common scenario in developing world. Second, is probable also that the effect of pentoxifylline would be pathogen specific, since in animal model of *Escherichia coli* o *S. pneumoniae* meningitis pentoxifylline showed very weak anti-inflammatory effects (22). Third, we did not evaluate systematically the audiologic outcome on/after discharge in the patients included in the study. Since a reduction in sensorineural hearing loss with early administration of adjuvant drugs appear as the most significant finding observed in children with bacterial meningitis, we could not evaluate the eventual benefit of pentoxifylline and/or dexamethasone on these important sequelae. The possibility of selection bias was a matter of concern in the study. But the base-line characteristics of the enrolled patients were similar, including one of the most important indicators of severity of bacterial meningitis, the Glasgow coma scale. Although the statistical power of the study was enough to detect a difference of 25% or more in mortality among the groups, minor differences could be undetected and the results need to be confirmed in a larger study. However, the mortality in the control group was in the range observed in previous studies of our institution (23).

Although patients treated with dexamethasone exhibited faster decrease in the CSF WBC count (one of the most sensible inflammatory indexes of meningeal infection), this laboratory observation did not have clinical impact, since children on adjunctive treatment with dexamethasone did not show less mortality and neurological sequelae. Further, although previous works (5) have reported that the administration of dexamethasone decrease the case fatality rate in patients with bacterial meningitis, other studies (6) showed different conclusions, including greater mortality (2). The same explanation offer for the absence of beneficial effects of pentoxifylline as adjuvant drug in meningitis can be apply for dexamethasone.

The results of our clinical trial in children with bacterial meningitis do not support the use of pentoxifylline as ancillary treatment in bacterial meningitis in children. Similarly, in settings such as ours, in which presentation to hospital is delayed in children who are very sick, adjuvant steroid treatment does not improve outcome, at least the severe neurological sequelae and mortality.

References

1. Lovera D, Arbo A. Risk factors for mortality in Paraguayan children with pneumococcal bacterial meningitis. Trop Med Int Health. 2005 10:1235-41
2. Basualdo W, Arbo A. Invasive *Haemophilus influenzae* type b infections in children in Paraguay. Arch Med Res 2004 35: 126-133.
3. Lovera D, Gamarra C, Arbo A. Prevalencia de secuelas auditivas en niños sobrevivientes de meningitis bacteriana aguda, Pediatría (Asunción) 2004; 31:10-15.
4. Odio C., Faingezicht I., Paris M, Nassar M., Baltodano A., Rogers J., Saez-Llorens X, Olsen K., McCracken G H. The beneficial effects of early dexamethasone

- administration in infants and children with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 1991;324:1525-1531
5. Saukkonen K, Sande S, Cioffe C et al. The role of cytokines in the generation of inflammation and tissue damage in experimental gram-positive meningitis. *J Exp Med* 1990. 171: 439-448
 6. Girgis NI, Farid Z, Mikhail IA, Farrag I, Sultan Y, Kilpatrick ME. Dexamethasone treatment for bacterial meningitis in children and adults. *Pediatr Infect Dis J* 1989. 8: 848-851.
 7. Molyneux EM, Walsh AL, Forsyth H et al. Dexamethasone treatment in childhood bacterial meningitis in Malawi: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002. 360: 211-218.
 8. Kanra GY, Secmer G, Ceylan M, Ecevit Z, Belgin E. Beneficial effects of dexamethasone in children with pneumococcal meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1995. 14: 490-494.
 9. Qazi SA, Khan MA, Mughai N et al. Dexamethasone and bacterial meningitis in Pakistan. *Arch Dis Child* 1996. 75: 482-488.
 10. Peltola H, Roine I, Fernández J, et al. Oral glycerol *vs.* intravenous dexamethasone to improve the prognosis of childhood bacterial meningitis. A placebo-controlled double-blind trial of 654 patients in Latin America. *Clin Infect Dis* 2007. 45: 1277-1286.
 11. Mongelluzzo J, Mohamad Z, Ten Have TR, Shah SS. Corticosteroids and mortality in children with bacterial meningitis. *JAMA* 2008. 299: 2048-2055.
 12. van Leenen D, van der Poll T, Levi M et al. Pentoxifylline attenuates neutrophil activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J Immunol* 1993 151: 2318-2325.
 13. Strieter RM, Remick DG, Ward PA et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor alpha production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988 155: 1230-1236.
 14. Endres S, Fulle HJ, Sinha B, et al. Cyclic nucleotides differentially regulate the synthesis of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta by human mononuclear cells. *Immunology* 1991 72: 56-60.
 15. Zeni F, Pain P, Vindimian M, Gay J-P, Gery P, Bertrand M, Page Y, Page D, Vermesch, Bertran J-C. Effects of pentoxifylline on circulating cytokine concentrations and hemodynamics in patients with septic shock: Results from a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Crit Care Med* 1996 24:207-214.
 16. Coimbra R, Melbostad H, Hoyst DB. Effects of of phosphodiesterase inhibition on the inflammatory response after shock: role of pentoxifylline. *J Trauma* 2004 56: 442-449.
 17. Sáenz-Llorens X, Ramilo O, Mustafa M et al. Pentoxifylline modulates meningeal inflammation in experimental bacterial meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990 34: 837-843.
 18. Bruck ZG, Fisher FR, Mader M, Rieckmann P, Nau R. Limited efficacy of pentoxifylline as anti-inflammatory agent in experimental pneumococcal meningitis. *Clin Exp Immunol* 1997 107: 458-461
 19. Di Perri G, Di Perri IG, Monteiro GB et al. Pentoxifylline as a supportive agent in the treatment of cerebral malaria in children. *J Infect Dis* 1995 171:1317-1322.
 20. van Furth AM, Steenwijk TA, Langermans AM, van Furth R. In vitro effect of dexamethasone, pentoxifylline and anti-endotoxin monoclonal antibody on the release of proinflammatory mediators by human leukocytes stimulated with *Haemophilus influenzae* type b. *Pediatr Res* 1994 35: 725-728.
 21. Bociaga-Jasik M, Kalinowska-Nowak A, Garlicki A, Mach T. The effect of antiinflammatory therapy with dexamethasone and dexamethasone with pentoxifylline on the course of bacterial meningitis. *Przegl Lek.* 2003 60:710-715.

Fecha de recepción: 06 de abril de 2015

Fecha de aceptación: 13 de agosto de 2015

Solicitud de Sobretiros:

Prof. Dr. Antonio Arbo

Universidad Nacional de Asunción -
Instituto de Medicina Tropical

CASO CLÍNICO

Caracterización molecular de caso fatal por *Streptococcus pyogenes*

Molecular characterization of fatal cases by *Streptococcus pyogenes*

Dr. Fernando Galeano¹, Biol. Gabriela Sanabria¹, Dra. Dolores Lovera¹, Dra. Bq. Patricia Araújo¹, Dr. Bq. Juan D. Irala J¹, Dra. Rosa Guillén², Dra. F. Rodríguez², Prof. Dr. Antonio Arbo¹. ¹Instituto de Medicina Tropical – ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud (ICCS)

Streptococcus pyogenes es ampliamente conocido como uno de los patógenos bacterianos más importantes en seres humanos. Este caso reporta a una paciente femenina de 3 años de edad, procedente de Lambaré, sin patología de base conocida, consultó en el Servicio de Urgencias del Instituto de Medicina Tropical por una lesión en cara externa de pierna derecha de 3 días de evolución que se extendió progresivamente, agregándose tumefacción y flictenas violáceas. Además vómitos 24 hs antes del ingreso en varias ocasiones. La paciente presentó cultivo de lesión por punción infiltrativa de zona afecta del miembro inferior derecho positivo a *Streptococcus pyogenes* multisensible que fue derivado al Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud para caracterización molecular en el que se detectó la portación de los factores de virulencia *speA*, *speB* y *speC*.

Palabras claves: *Streptococcus pyogenes*, factores de virulencia, choque séptico

Abstract

Streptococcus pyogenes is widely known as one of the most important bacterial pathogens in humans.

This case report of a female patient age 3, from Lambaré, no known pathology base, consulted in the emergency

department of the Institute of Tropical Medicine with an injured right leg outer face of 3 days of evolution that progressively expanded, adding purple swelling and blisters. In addition vomiting 24 hours before admission several times. The patient developed culture of lesion

infiltration puncture affected area of the right leg positive for Streptococcus pyogenes multisusceptible which was referred to the Department of Molecular Biology and Biotechnology Research Institute in Health Sciences for molecular characterization in which the bearing was detected virulence factors speA, speB and speC.

Key words: *Streptococcus pyogenes, virulence factors, shock septic*

Introducción

Streptococcus pyogenes (estreptococco del grupo A de Lancefield), un coco Gram positivo aerobio, es uno de los patógenos bacterianos más importantes en seres humanos, agente causal más frecuente de faringitis agudas bacterianas, además infecciones cutáneas incluidas erisipela, impétigo, celulitis y cuadros sistémicos severos como fascitis necrosante, miositis y síndrome del shock tóxico. También puede desencadenar secuelas no supurativas como la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda postestreptocócica (1-4,6).

Este microorganismo es conocido por la gran cantidad de proteínas extracelulares que produce, factores de virulencia, que incrementan la patogenicidad del mismo, al desencadenar una respuesta inespecífica y exacerbada en el sistema inmunológico del paciente.

Estos factores de virulencia facilitan la colonización del microorganismo, la infección y la evasión de la respuesta inmune, permitiendo al microorganismo sobrevivir por más tiempo dentro del huésped. La presencia y diseminación de estos factores produjo, en las últimas décadas un resurgimiento a nivel mundial de casos de enfermedad invasora y

síndrome de shock tóxico estreptocócico (SSTE) (4,6).

Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas (*Spe*) constituyen una familia de superantígenos bacterianos, que se cree se asocian al SSTE, a la fascitis necrosante y a otras infecciones graves. Esta familia incluye la *SpeA* codificada por un bacteriófago8 y la *SpeC*, conocidas históricamente como las toxinas de la escarlatina, debido a su asociación con ésta, así como a la cisteína-proteasa *SpeB*, y otras muchas exotoxinas pirógenas; por ejemplo, el factor mitógeno (FM, *SpeF*) y el superantígeno estreptocócico (SSA) identificados recientemente (7,9).

Caso Clínico

Paciente pre-escolar femenino de 3 años de edad, procedente de Lambaré (Paraguay), no conocida portadora de patología de base, consulta en el Servicio de Urgencias del Instituto de Medicina Tropical por una lesión en cara externa de pierna derecha de 3 días de evolución que se extiende progresivamente, agregándose tumefacción y flictenas violáceas. Además vómitos 24 hs antes del ingreso en varias ocasiones.

Al ingreso se encuentra en mal estado general, afebril, con frecuencia cardiaca de 180 latidos por minuto, pulsos filiformes, frecuencia respiratoria de 29 por minuto, llenado capilar de 4 segundos e hipotensión arterial (77/40 milímetros de mercurio); además tendencia a la somnolencia. En el examen de los miembros inferiores presenta tumefacción eritematosa importante en cara externa de pierna derecha, con flictenas violáceas, que progresan con el correr de las horas.

El examen laboratorial revela leucocitosis con neutrofilia (recuento de glóbulos blancos: 24.800/mm³ (rango:

4.500-10.500 células/mm³), a predominio de granulocitos, con desviación a la izquierda. Proteína C reactiva positiva. Velocidad de sedimentación globular: 55 mm (rango hasta 20 mm).

Función renal alterada con creatininemia 2,2 mg/dL (rango: 0,24 - 0,87 mg/dL). Acidosis metabólica descompensada. Discrasia sanguínea con Tiempo de protrombina: 36 % (rango: 70-100 %), tiempo de tromboplastina parcial activada: 36 seg (25 - 45 segundos), fibrinogenemia normal. Hipoalbuminemia, con valor de: 2,85 g/dL (rango: 3,4 a 4,8 g/dL).

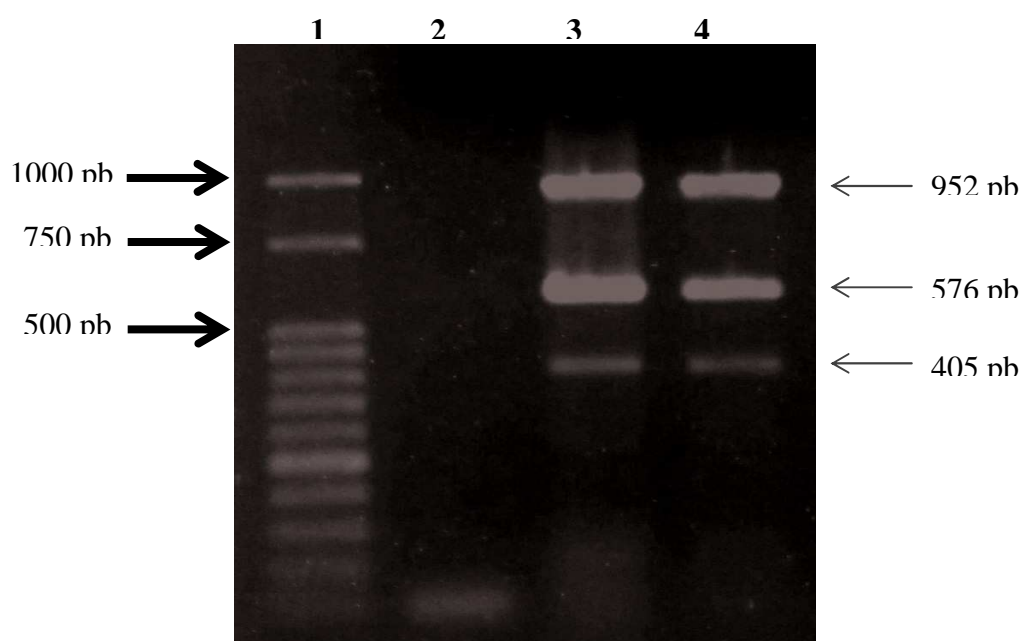
Electrolitos en rango normal. Ecocardiografía con fracción de eyección: 66 % y fracción de acortamiento: 35 %. Retornó cultivo de lesión de miembro inferior derecho por punción infiltrativa positivo a *Streptococcus pyogenes* multisensible y *Staphylococcus aureus* multisensible.

La paciente recibió expansiones con solución fisiológica hasta, con mala respuesta, antibióticos (ceftazidima (150 mg/kg/día) + vancomicina (60 mg/kg/día) + clindamicina (40 mg/kg/día), drogas vasoactivas (dopamina + noradrenalina + milrinona), hidrocortisona en contexto de choque séptico refractario a aminas e inmunoglobulina humana (400 mg/kg/dosis), con mala evolución, requerimiento de asistencia respiratoria mecánica, correcciones de medio interno. La paciente falleció a las 24 hs de su ingreso al hospital.

Caracterización molecular

El aislado de *Streptococcus pyogenes* multisensible fue derivado al Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud con el fin de caracterizarlo molecularmente (Figura 1). La extracción de ADN a partir del aislado se realizó por el método de ebullición.

Figura 1. Productos de amplificación de PCR para la detección de los genes *speA*, *speB*, *speC*.



Electroforesis gel de agarosa 2%, tinción con bromuro de etidio. Carriles: 1. Marcador de pesos moleculares 50pb (Embiotec, Argentina), 2. Control negativo de la reacción de PCR (agua tridestilada), 3. Cepa control *speA*+ (576pb), *speB*+ (952pb), *speC*+ (405pb), 4. Aislado de *S. pyogenes* obtenido de la muestra proveniente de la paciente reportada en este caso.

Se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa para detección de genes codificantes de factores de virulencia *speA*, *speB* y *speC*, empleando oligonucleótidos específicos, así como condiciones de ciclado descritas por Boreck et al (2). Se emplearon controles negativos y positivos para la reacción de amplificación y se obtuvieron productos de amplificación específicos para cada gen con tamaños respectivos de 576 pb para *speA*, 952 pb para *speB* y 405 pb para *speC*.

En la muestra en estudio se detectó la portación de la totalidad de los factores de virulencia incluidos en este estudio (Figura 1), apuntando hacia la extremada virulencia de la cepa a pesar de su multisensibilidad.

Discusión

Varios factores se asocian con infecciones invasivas por *Streptococcus pyogenes* a infecciones invasivas GABHS, infecciones virales como varicela zoster e influenza, traumas, quemaduras y cirugías previas, inmunodeficiencia, neoplasia maligna, edad menor a 1 año, uso de antiinflamatorios no esteroideos (10,11). Nuestro paciente no poseía patología crónica conocida de base, ni había antecedente de cuadro viral previo.

La agresividad del *Streptococcus pyogenes* puede asociarse a la presencia de diversos factores de virulencia como la proteína M o el factor de opacidad (FO) del suero. Además la presencia de exotoxinas pirógenas estreptocócicas (Spe) se asocia al SSTE, a la fascitis necrosante y a otras infecciones graves (1,11). Es notable la presencia en el caso en cuestión la presencia de 3 de esas exotoxinas, la *SpeA*, *SpeB*, *SpeC*; factor involucrado probablemente en la agresividad y la tórpida evolución del cuadro.

El debridamiento quirúrgico constituye uno de los pilares del tratamiento de las infecciones musculares necrosantes por *Streptococcus pyogenes*; la rápida extensión del eritema en miembros inferiores y las lesiones flictenulares hablaban de una infección severa progresiva. El compromiso hemodinámico severo e irreversible de la paciente impidió el abordaje quirúrgico oportuno en este caso fatal.

Es además, un factor a tener en cuenta, el aislamiento simultáneo de *Staphylococcus aureus* multisensible de la misma muestra del sitio de lesión en miembro inferior. No se realizó la caracterización molecular de dicho germen, por lo que ignoramos la presencia en el mismo de factores de virulencia como la leucocidina de Panton Valentine (LPV). Puede verse la asociación de gérmenes en las fascitis necrosante (1).

Referencias bibliográficas

1. Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica. Séptima Edición. 2012 Elsevier España, S.L.198:2597-2611.
2. Borek, Anna L., et al. "Detection of *Streptococcus pyogenes* virulence factors by multiplex PCR." *Virulence* 3.6. 2012: 529-533.
3. Bourlon Cuellar, R. A., Bourlon de los Ríos, M. T., López Nuche, M., Bourlon de los Ríos, C., Vera Urquiza, R., Camacho, J. L., & Arcos Acosta, L. Síndrome de choque tóxico secundario a fascitis necrosante por *Streptococcus pyogenes*: informe de un caso clínico. *Medicina interna de México*, 2010, 26(4), 397-400.
4. Ferretti, Joseph J., et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98.8. 2001: 4658-4663.
5. Koneman, Elmer W., and Stephen Allen. Koneman. *Diagnostico Microbiologico* /

- Microbiological diagnosis: Texto y Atlas En Color/Text and Color Atlas. Ed. Médica Panamericana, 2008.
6. Kreikemeyer, Bernd, Kevin S. McIver, and Andreas Podbielski. Virulence factor regulation and regulatory networks in *Streptococcus pyogenes* and their impact on pathogen–host interactions. *Trends in microbiology* 11.5. 2003: 224-232.
 7. Traverso, F., Sparo, M., Rubio, V., Sáez-Nieto J.A. Caracterización molecular de *Streptococcus pyogenes* causantes de enfermedad invasora y síndrome de shock tóxico estreptocócico. *Revista argentina de microbiología* 42.1. 2010: 41-45.
 8. Baker M, Gutman DM, Papageorgiou AC, et al. Structural features of a zinc binding site in the superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin A (SpeA1): Implications for MHC class II recognition. *Protein Sci* 2001;10:1268-73.
 9. Biano AI, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. *Lancet Infect Dis* 2003;3:191-200.
 10. Stevens D, Kaplan S. Group A streptococcal (*Streptococcus pyogenes*) bacteremia in children. UptoDate 2015.
 11. Zervas S, et al. *Streptococcus pyogenes* pyomyositis. *Pediatr Infect Dis J*, 2002;21:166–8.

Fecha de recepción: 10 de octubre de 2015

Fecha de aceptación: 16 de noviembre de 2015

Solicitud de Sobretiros:

Dr. Fernando Galeano

Servicio de Pediatría

Instituto de Medicina Tropical

fergaleano58@yahoo.com.ar

Instrucciones para los autores

La *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, de Asunción – Paraguay, acepta para su publicación trabajos referentes a la medicina y ciencias afines. La revista publica artículos originales, casos clínicos, artículos de revisión y cartas al editor, tanto en español como en inglés.

Los trabajos enviados deberán ser inéditos. El Instituto de Medicina Tropical se reserva todos los derechos de programación, impresión o reproducción (*copyright*) total o parcial del material que reciba, dando en todo caso el crédito correspondiente a los autores del mismo. Si el autor desea volver a publicar lo ya aparecido en la *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, requiere autorización previa por escrito del editor de *Revista del Instituto de Medicina Tropical*.

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Presentación general

El manuscrito debe tener una portada indicando claramente el TÍTULO COMPLETO del artículo, los NOMBRES DE LOS AUTORES y sus AFILIACIONES (Nombre de la Universidad, Fundación, Instituto o Dependencia, Hospital, dirección completa de la misma y ciudad). También se debe incluir en la portada el nombre del autor a quien se deberá dirigir toda la correspondencia y su e-mail, si lo posee.

La primera página debe contener, un **resumen** del artículo, con un máximo de 200 palabras, y **4 a 6 palabras clave ordenadas alfabéticamente**. La segunda página debe contener un **Abstract** con un máximo de 200 palabras (en inglés) y 4 a 6 (**Keywords**) ordenadas alfabéticamente.

Todo el texto deberá estar escrito a doble espacio en papel tamaño carta y dejando por lo menos 2 cm de margen a los lados.

La impresión debe ser clara y el tamaño de la letra debe ser de 12 puntos (Times New Roman / Arial). La redacción del texto debe ser en voz PASIVA. Para abreviaturas, se debe utilizarla nomenclatura aprobada por la unión internacional de la respectiva disciplina.

El artículo debe comprender las siguientes secciones:

- Introducción
- Materiales y métodos (el área de estudio debe ir incluida para estudios de campo)
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura citada
- Leyenda de las figuras
- Figuras
- Tablas

Después del título del artículo debe aparecer el nombre del autor o de los autores de la siguiente forma:

- a) Nombre y Apellido, (ejemplo: Juan Pérez),
- b) Si el autor quiere escribir dos apellidos estos deben estar unidos por un guión (ejemplo: Juan Lozano–Torres).

Cuando se citen otros trabajos dentro del texto, se seguirá el siguiente formato: Un autor: (López, 1995) o "...en el trabajo de López (1995)...".

Dos autores: (Andrade y Ruiz, 1992). Más de dos autores: (Rivas et al., 1993).

Más de una cita: (López, 1995; Andrade y Ruiz, 1992).

La presentación de la literatura citada se hará de la siguiente manera según Normas de Vancouver:

Libros

Andrade, G.; Ruíz, J.P. y Gómez, R. Biodiversidad, conservación y uso de recursos naturales. Primera edición. CEREC - Fundación Fiedrich Ebert de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia. 1992. págs 126.

Artículos en revistas

Augsburger, C.K. Seed dispersal of the tropical tree, *Platypodium elegans*, and the escape of its seedlings from fungal pathogens. *Journal of Ecology* 1983. 71: 759-771.

Libros editados

Rivas, L.I.; Chicharro, C. y Díaz, P. Sistemas de unión parásito-célula hospedadora en Trypanosomatidae. En: Rivas, L.I. y López, M.C. (eds.). Nuevas tendencias de parasitología molecular. Consejo Superior de Investigaciones

Científicas. Madrid, España. 1993. págs. 185-216.

Tamayo, M. (Trabajos de grado) Efecto de la perturbación de los bosques fragmentados sobre el comportamiento y tamaño de una comunidad de primates en el pie de montellanero. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 1997
Gutierrez, H. Utilización del canto como característica filogenética en los cucaracheros (Troglydytidae: Aves). Tesis de Maestría. Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 1990

Notas a pie de página

Evite el uso de notas a pie de página. La mayor parte de esta información puede ser incluida en el texto principal del artículo para el beneficio de lectores, editores e impresores.

Figuras y tablas

Las figuras no deben estar incluidas dentro del texto del artículo. Cada figura debe ir en una página aparte sin la correspondiente leyenda, pero con los ejes y señaladores claros y grandes. Se deben utilizar unidades de SI (Sistema Internacional de unidades).

Si se envían fotos, éstas deben ser en blanco y negro y de tamaño media carta o carta en papel de alto contraste. Cada figura debe llenar toda una página ya sea en sentido horizontal o vertical, dependiendo de su estructura. Coloque detrás de la página donde está la figura el número correspondiente de la misma en lápiz (por ej. Figura 3). Las figuras originales se envían únicamente cuando el artículo haya sido aceptado para su publicación, mientras tanto se deben enviar fotocopias claras. Incluya en una hoja aparte la leyenda de todas las figuras del artículo. Las tablas tampoco deben ser incluidas en el texto principal del manuscrito.

ARTÍCULOS DE OPINIÓN Y REVISIONES DE LIBROS

La revista acepta artículos de opinión sobre cualquier tema relacionado con las ciencias médicas y afines. Los artículos de opinión deben incluir portada y resumen en inglés y en español, siguiendo las mismas indicaciones que los artículos científicos.

Sin embargo, el texto debe ser continuo, sin secciones (en forma de ensayo), y no excederse en 10 páginas de longitud (sin incluir portada y hojas de resumen). Si el artículo incluye figuras o tablas, éstas se deben elaborar y anexar de la misma manera que para los artículos científicos. Lo mismo se aplica para la literatura citada, notas de pie de página y ecuaciones. Si se envía la revisión de un libro, se debe incluir en la portada una reseña bibliográfica, utilizando el formato para citar libros de la revista (véase arriba). Las revisiones de libros no deben incluir resumen, pero sí un título.

Aplique las demás normas para escribir artículos de opinión en las revisiones de libros.

ENVÍO DE LOS ARTÍCULOS

Los artículos deberán ser enviados (1 copia en papel y un formato electrónico (CD, pen drive), incluyendo fotocopias de las figuras, ilustraciones o fotografías) a la siguiente dirección:

Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical

Venezuela casi Florida. Instituto de Medicina Tropical. Asunción – Paraguay.

Tel: (+595 21) 292 654 Interno 2030

Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical

O por correo electrónico a la dirección de e-mail: **investigacion_docencia@imt.edu.py**

A nombre del:

Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa, Editor de la Revista del Instituto de Medicina Tropical.

Una vez el artículo sea aceptado para su publicación, el autor debe remitir a la oficina editorial los originales de figuras y fotos, así como una versión del artículo en procesador de palabra (Word 7.0 o superior).

Proceso de revisión: La primera revisión la realiza el editor para definir si el artículo corresponde a la línea editorial y cumple con los requisitos señalados en estas instrucciones. La segunda revisión la realizan dos árbitros independientes en calidad de revisores pares. La identidad de autores y revisores es confidencial.



Instituto de Medicina Tropical
Avda. Venezuela y Tte. Ecurra
Tel/Fax: +595 21 292 654 - 292 164
Asunción - Paraguay
www.imt.edu.py