

Características de la resistencia antimicrobiana de una colección clínica de *Streptococcus pyogenes*

Romeo S. Rodríguez, M.C.,⁽¹⁾ Ernesto Calderón-Jaimes, M.C., M.S.P.,⁽¹⁾
Demóstenes Gómez-Barreto, M.C.,⁽¹⁾ Luz Elena Espinosa-de los Monteros, Dr. en C.⁽¹⁾

Rodríguez RS, Calderón-Jaimes E, Gómez-Barreto D, Espinosa-de los Monteros LE. Características de la resistencia antimicrobiana de una colección clínica de *Streptococcus pyogenes*. Salud Publica Mex 2000;42:226-229.

Rodríguez RS, Calderón-Jaimes E, Gómez-Barreto D, Espinosa-de los Monteros LE. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pyogenes* clinical strains. Salud Publica Mex 2000;42:226-229.

Resumen

Objetivo. Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pyogenes* con el fin de estimar la prevalencia de los fenotipos de resistencia a los macrólidos. **Material y métodos.** Se realizó un estudio de tipo transversal, en 1999, en el que se evaluaron 100 cepas de *S. pyogenes*, aislados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el lapso comprendido entre 1992 y 1998, procedentes de niños con faringoamigdalitis, conservadas en congelación en el laboratorio de bacteriología hasta su procesamiento. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana a algunos β -lactámicos, macrólidos y clindamicina. La resistencia a eritromicina se probó por medio de la prueba de difusión de doble disco. Se calcularon medidas de tendencia central. **Resultados.** Todas las cepas fueron sensibles a los β -lactámicos y clindamicina; 16% fueron resistentes a los macrólidos, y todas correspondieron al fenotipo M. **Conclusiones.** Es conveniente realizar periódicamente pruebas de escrutinio para conocer los posibles cambios en los patrones de sensibilidad estreptocócica.

Palabras clave: *Streptococcus pyogenes*/resistencia microbiana a las drogas; hospitales públicos; hospitales pediátricos; México

Abstract

Objective. To determine the antibiotic susceptibility of recent isolates of *Streptococcus pyogenes* and to evaluate the prevalence of macrolide-resistant phenotypes. **Material and methods.** In 1999, we conducted a cross-sectional study at Mexico Children's Hospital "Federico Gomez", to analyze one hundred strains of *S. pyogenes* isolated from 1992 to 1998, in children with uncomplicated pharyngotonsillitis. Strains were frozen at the bacteriology lab until they were analyzed. Strains were tested for susceptibility against some β -lactams, macrolides and clindamycin. Double-disk testing was carried out to evaluate erythromycin-resistant phenotypes. Data are presented using central tendency measures. **Results.** All tested strains were not resistant to β -lactams and clindamycin; 16% of the strains were resistant to macrolides and all of them belonged to phenotype M. **Conclusions.** Susceptibility testing is recommended to identify possible changes in antibiotic resistance to streptococci.

Key words: *Streptococcus pyogenes*/drug resistance, microbial; hospitals, public; hospitals, pediatric; Mexico

(1) Departamento de Infectología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F., México.

Los cambios en la epidemiología de las infecciones y secuelas producidas por el *Streptococcus pyogenes* β -hemolítico grupo A (SBHA) se han relacionado estrechamente con la disponibilidad de antibióticos y la mejora en el acceso a la atención médica para precisar con oportunidad el diagnóstico de las infecciones estreptocócicas.

Aun cuando la penicilina es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones por SBHA,¹ la eritromicina o alguno de los nuevos macrólidos es la elección de segunda línea y de preferencia en pacientes con hipersensibilidad a la penicilina.²

En los últimos años, en muchos países se ha incrementado el uso de eritromicina y aún más el de los nuevos macrólidos, promocionados para el tratamiento empírico de las infecciones respiratorias como la otitis media, la faringoamigdalitis, la sinusitis y la neumonía. En consecuencia ha habido un aumento alarmante en la resistencia del *Streptococcus pyogenes* β -hemolítico grupo A a los macrólidos.³⁻⁵

Se han encontrado por lo menos dos mecanismos de resistencia bacteriana a los macrólidos, a las lincosamidas y a la estreptogramina B (MLS): el primero, una modificación en el sitio receptor vía el gene *erm*. La resistencia puede ser expresada en forma constitutiva con el fenotipo MLSb CR, o ser inducida por esos fármacos con el fenotipo MLSb IR. El segundo, cuando el fenotipo M codificado en el gene *mefA* dependiente de energía, activa un sistema de expulsión para que la célula elimine a los macrólidos y exprese su resistencia.⁶

El propósito de este estudio fue determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes*, con el fin de estimar la prevalencia de los fenotipos de resistencia a la eritromicina y otros macrólidos en cepas de SBHA aisladas de pacientes con faringoamigdalitis aguda.

Material y métodos

Se trata de un estudio transversal realizado en 1999. Cepas de *Streptococcus pyogenes*. Los aislamientos correspondieron a 100 pacientes con diagnóstico de faringoamigdalitis, de acuerdo con criterios previamente establecidos,⁷ que acudieron al Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el lapso comprendido entre 1992 y 1998. Los aislamientos fueron identificados con base en su morfología colonial en gelosa sangre de borrego a 5%, beta hemólisis característica, reacción a la catalasa y pirrolidonil aminopeptidasa positivos,⁶ posteriormente fueron mantenidas en glicerol en congelación a -70 °C.

Antimicrobianos. Se probaron 11 antimicrobianos: penicilina y eritromicina (Sigma Chemical Co. St. Luis

Mo., United States of America); amoxicilina y amoxicilina-clavulanato (Sanfer, México); cefaclor (E. Lilly, México), cefotaxima y roxitromicina (Roussel, México); cefepime (Bristol, México), clindamicina (Farmacia Upjohn, México); claritromicina (Abbott, México), y azitromicina (Pfizer, México).

Perfiles de sensibilidad. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada uno de los fármacos probados fue determinada por el método de dilución en agar, de acuerdo con los estándares del Comité Nacional para el Laboratorio Clínico (NCCLS, por sus siglas en inglés).^{8,9} Se utilizó como control de calidad la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC-49619 y de *S. pyogenes* ATCC-10389.

Los antimicrobianos fueron probados a una concentración final (preparados por dilución al doble), variando desde 0.03 a 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de penicilina y los otros β -lactámicos y desde 0.03 a 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de los macrólidos y clindamicina.

Puntos de corte en $\mu\text{g}/\text{mL}$: penicilina y otros β -lactámicos, susceptible(S): ≤ 0.12 , intermedia (I): 0.25-2.0; resistente (R): ≥ 4.0 ; eritromicina, claritromicina y roxitromicina, S: ≤ 0.25 , I: 0.5, R: ≥ 1.0 ; azitromicina, S: ≤ 0.5 , I: 1.0, R: ≥ 2.0 ; clindamicina S: ≤ 0.25 , I: 0.5, R: ≥ 1.0 ; cefaclor, S: ≤ 0.12 , I: 0.25-2.0; R: ≥ 4.0 .

Determinación de resistencia a los macrólidos y fenotipos. Se utilizó el sistema de doble disco¹⁰ de eritromicina con 15 μg y de clindamicina con 2 μg , colocados en agar de Mueller-Hinton (BBL, México), suplementado con 5% de sangre de borrego, el cual fue inoculado mediante hisopo con una suspensión bacteriana equivalente a 0.5 del estándar de turbidez de McFarland. Los discos se colocaron en la placa a una distancia de 20 mm sobre el agar. Después de 18-24 horas de incubación a 37 °C, la lectura se realizó visualmente. La ausencia de una zona significativa de inhibición alrededor de los dos discos se consideró indicativa de resistencia constitutiva a todos los macrólidos (MLSb RC). La irregularidad en la zona de inhibición entre los dos discos, próxima al disco de eritromicina, fue considerada como resistencia inducida por la eritromicina (MLSb RI). La resistencia a eritromicina con halo de inhibición discreto, correspondiente a CMI ≤ 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sin alteración en los bordes que rodean el halo de inhibición del disco de clindamicina, fue indicativa del fenotipo M.³

Resultados

En el cuadro I se presenta el porcentaje acumulado de la sensibilidad-resistencia del SBHA a los antimicrobianos probados. Todas las cepas fueron sensibles a la penicilina y a los otros β -lactámicos, la CMI₅₀ y la CMI₉₀ para la penicilina fue menor a 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ce-

Cuadro I
 PORCENTAJE ACUMULADO DE SENSIBILIDAD (EN $\mu\text{g}/\text{mL}$) DE 100 CEPAS DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* A DIVERSOS ANTIMICROBIANOS.* HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ, MÉXICO, 1999

Fármacos	≤ 0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	% R
Penicilina	97	3												0
Amoxicilina	0	71	0	0	29									0
Amoxicilina-clavulanato	0	0	0	99	1									0
Cefaclor	0	0	0	0	0	100								0
Cefepime	0	99	0	0	1									0
Cefotaxima	0	99	0	0	1									0
Eritromicina	80	4	0	0	0	2	1	7	6					16
Claritromicina	55	29	0	0	0	2	7	7						16
Roxitromicina	23	48	13	2	0	0	0	1	2	6	4	1		14
Azitromicina	0	80	4	0	0	0	0	12	3	1				16
Clindamicina	74	21	4	1										0

* Puntos de corte en $\mu\text{g}/\text{mL}$ para resistencia de los fármacos probados; penicilina, amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, cefaclor, cefepime y cefotaxima ≥ 4.0 ; eritromicina, claritromicina, roxitromicina y clindamicina ≥ 1.0 ; azitromicina ≥ 2.0

factor, una cefalosporina semisintética, fue efectiva contra todas las cepas examinadas; sin embargo, el valor de la CMI₉₀ fue $\leq 1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$, por lo menos ocho veces más alto que el requerido por la penicilina. La amoxicilina y la amoxicilina-clavulanato requirieron CMI un poco mayores a las de la penicilina y fueron, igualmente, eficientes contra esas cepas.

El 16% de las cepas fue resistente a la eritromicina y asimismo con resistencia cruzada a los nuevos macrólidos. La CMI acumulada para 89% de las cepas ante eritromicina y claritromicina fue $\leq 0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$. Las cifras más altas se observaron con roxitromicina y azitromicina. No se observó resistencia a la clindamicina, coincidente con los resultados obtenidos con la prueba del doble disco.

En el cuadro II se presenta el resultado de la prueba con doble disco de eritromicina-clindamicina, donde en forma homogénea todas las cepas correspondieron al fenotipo M: cepas con resistencia a eritromicina con CMI₉₀ que, en su gran mayoría, fueron $\leq 32 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Discusión

En el laboratorio clínico no se considera como rutina realizar sensibilidad antimicrobiana a las cepas de *S. pyogenes* del grupo A, ya que se acepta que es un procedimiento innecesario debido a la sensibilidad total a la penicilina y otros β -lactámicos. Esta es una razón del desconocimiento del perfil de sensibilidad del *S. pyogenes* a otros grupos de fármacos antimicrobianos y,

Cuadro II
 FENOTIPOS* DE 16 CEPAS DE *S. PYOGENES* RESISTENTES A ERITROMICINA. HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ, 1999

Fenotipos	No.
MLSb RC [†]	0
MLSb RI [§]	0
M	16

* Cepas con el fenotipo M, mostraron resistencia a los macrólidos de 14- y 15- elementos y sensibilidad a clindamicina

[†] MLSb RC= Resistencia constitutiva a MLSb

[§] MLSb RI= Resistencia inducida a MLSb

Nota: MLSb= macrólidos, lincosamidas, estreptogramina b

obviamente, para tener información sobre sus patrones de cambio.

Tradicionalmente se ha considerado que la eritromicina y la lincosamida son antibióticos de segunda línea, utilizados en el tratamiento de infecciones en individuos alérgicos a la penicilina, así como en aquellos pacientes que fallan a un tratamiento previo con penicilina u otros β -lactámicos orales;² sin embargo, la disponibilidad de nuevos macrólidos en todo el mundo ha conducido a un uso indiscriminado para el tratamiento empírico de las infecciones respiratorias.

Durante los últimos años, la literatura médica ha venido registrando el aumento dramático y progresivo de la resistencia del estreptococo β -hemolítico del

grupo A, a la eritromicina y a los nuevos macrólidos que reciben extensa promoción publicitaria como la claritromicina, la roxitromicina y la azitromicina. La utilización masiva de esos productos está estrechamente relacionada con las cifras elevadas de resistencia, tal como ha sido demostrado en varios países que han seguido los cambios incluso antes y después de la liberación de los nuevos macrólidos.³⁻⁵

En nuestro estudio encontramos que la resistencia de 16% a los macrólidos es intermedia cuando se compara con otras cifras informadas en publicaciones previas, que varían desde menos de 5% hasta cifras mayores a 50% en algunos países.³⁻¹¹ Esta resistencia podría estar relacionada con el hecho de que los macrólidos son la clase de antimicrobianos que más se prescriben después de los β -lactámicos, tanto por el médico general como por el pediatra para el tratamiento empírico de las infecciones respiratorias.*

Los fenotipos de resistencia constitutiva o inducida tienen una distribución geográfica muy variable; sin embargo, hay tendencia en algunos países de que la mayoría puedan pertenecer al fenotipo M.³⁻⁵

La ausencia en este trabajo de los fenotipos constitutivos e inducidos no se puede explicar y podría estar en relación con el pequeño número de cepas probadas, ya que esos fenotipos se consideran como los clásicos en la resistencia de *S. pyogenes*, donde las CMI₉₀ son por lo general ≥ 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La presencia del fenotipo M puede representar una resistencia selectiva y clonal a los macrólidos, semejante a la que se ha informado en Finlandia.^{3,11}

La clindamicina permanece activa contra las cepas resistentes a la eritromicina y otros macrólidos, lo que puede ser una alternativa para el tratamiento de pacientes con falla clínica después de la administración de fenoximetil penicilina, así como en individuos alérgicos a las penicilinas. Ante la presencia de la resistencia de *S. pyogenes* demostrada en este estudio, sería recomendable que el laboratorio clínico incluyera las pruebas de susceptibilidad de difusión con discos tanto

de eritromicina como de clindamicina con fines de escrutinio periódico.

La resistencia del *S. pyogenes* a los macrólidos es un problema serio. No se puede concebir un posible camino para controlar este problema clínico, excepto reducir su uso, definiendo con mayor precisión sus indicaciones y evitar al máximo la administración empírica sobre todo en las infecciones respiratorias que, por otro lado, tienen una elevada etiología viral.

Referencias

1. Horn DL, Zabriskie KB, Austrian R, Cleary PP, Ferretti JJ, Fischetti VA et al. Why have group A *Streptococci* remained susceptible to penicillin? Report on a symposium. Clin Infect Dis 1998;26:1341-1345.
2. Shulman ST. Evaluation of penicillin, cephalosporin and macrolides for therapy on streptococcal pharyngitis. Pediatrics 1990;97:955-959.
3. Seppala H, Nissinen A, Jarvinen H, Huovinen S, Henriksson T, Herva E et al. Resistance to erythromycin in group A *Streptococci*. N Engl J Med 1992;326:292-297.
4. Baquero F, Garcia-Rodríguez JA, García de Lomas J, Aguilar L. The Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:178-180.
5. York MK, Gibbs L, Perdreaux-Remington F, Brooks GF. Characterization of antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* isolates from the San Francisco Bay area of Northern California. J Clin Microbiol 1999; 37: 1727-1731.
6. Ruoff KL, Whitley RA, Beighton D. *Streptococcus*. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, ed. Manual of Clinical Microbiology, 7ª edición. Washington, D.C.: American Society for Microbiology 1999; 283-296.
7. Rodríguez SR. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones estreptocócicas. Bol Med Hosp Infant Mex 1969;26:493-502.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 4ª edición. Approved Standard M7-A4. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eight information supplement M100-S8. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998.
10. Seppala H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. J Antimicrob Chemother 1993;32:885-891.
11. Seppala H, Klankka T, Vuopio-Sarkila J, Muotiala A, Helenius H, Lagerk EA. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. N Engl J Med 1997;337:441-446.

* Datos de la International Medical Statistics, 1991-1999.