

## COMUNICACIONES CORTAS

### SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DEL *Streptococcus pneumoniae* DETERMINANDO LA CONCENTRACION INHIBITORIA MÍNIMA, 1999

Sara Morales de Santa Gadea<sup>1</sup>, Carmen Díaz V<sup>1</sup>, Dana Gonzáles Q<sup>1</sup>, Blanca Huapaya C<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Bacteriología Especial, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.

<sup>2</sup> Laboratorio de Enteropatógenos, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.

#### RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la concentración inhibitoria mínima de *S. pneumoniae* frente a los antibióticos recomendados por OPS/OMS en el tratamiento de infecciones respiratorias agudas. **Materiales y métodos:** Estudio descriptivo de cultivos de *S. pneumoniae* aislados de niños menores de 5 años de edad con diagnóstico de neumonía y meningitis procedentes de siete hospitales del país. Se realizó el método de microdilución en placa para penicilina, cloranfenicol y cotrimoxazol siguiendo las pautas del Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS). **Resultados:** De las 30 muestras aisladas (18 de sangre y 12 de líquido cefalorraquídeo) se observó susceptibilidad disminuida a penicilina en 8 (26,7%), sensibilidad intermedia en 4 (13,3%) y resistencia alta en 4 (13,3%). En 21 aislamientos (70,0%) se observó resistencia a cotrimoxazol (sulfametoxazol+trimetoprim) y en 10 (33,0%) a cloranfenicol. En 12 aislamientos (40,0%) se observó resistencia a dos antimicrobianos y multirresistencia en 2 (6,7%). **Conclusiones:** Se logró determinar la presencia de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina y a otros antimicrobianos, lo que nos obliga a mantener su vigilancia epidemiológica.

**Palabras claves:** *Streptococcus pneumoniae*; Antibióticos; Tests de sensibilidad microbiana (Fuente: BIREME).

#### ABSTRACT

**Objective:** To determine minimum inhibitory concentration of *S. pneumoniae* against the antibiotics recommended by PAHO/WHO in the treatment of acute respiratory infections. **Materials and Methods:** Descriptive study of *S. pneumoniae* cultures isolated from children under 5 years of age diagnosed with pneumonia and meningitis in 7 hospitals of the country. The microdilution method for penicillin, chloramphenicol and cotrimoxazol was performed following the guidelines given by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). **Results:** Of 30 isolates, 8(26,7%) showed diminished susceptibility to penicillin, 4(13.33%) showed intermediate resistance and 4 (13,3%) high resistance. Twenty one (70,0%) isolates showed resistance to the combination of trimethoprim and sulfamethoxazole and 10 (33,0%) showed resistance to chloramphenicol. Resistance to two antimicrobial agents was observed in 12 (40,0%) and multiple resistance was found in 2 (6,7%). **Conclusions:** This study shows the presence of strains of *S. pneumoniae* resistant to penicillin and other antimicrobial agents, which shows us the need to maintain an epidemiological surveillance on this bacteria.

**Key words:** *Streptococcus pneumoniae*; Antibiotics; Microbial sensitivity tests (source: BIREME).

#### INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de antibióticos en el mundo, seguido de la aparición de resistencia de los microorganismos a los antibióticos, son graves problemas de salud pública. La resistencia creciente de *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina y a otros antimicrobianos a nivel mundial<sup>1</sup>, obliga a mantener una vigilancia permanente para orientar el tratamiento. Por presentar las cepas de *S. pneumoniae*, desde el inicio de la era antibiótica, alta sensibilidad a la penicilina, ha

sido éste el antibiótico de elección para el tratamiento de la infección neumocócica, pero desde el primer reporte de cepas resistentes a penicilina en 1967, países como Hungría y España, han reportado cepas altamente resistentes a este antimicrobiano<sup>2-3</sup>. Asimismo, en Estados Unidos, Francia, España y Brasil, se han reportado cepas de *S. pneumoniae* con cierto grado de resistencia a otros antimicrobianos como cloranfenicol y cotrimoxazol (TMP/SMX)<sup>4-7</sup>.

En el Perú, al no contar con información al respecto, se planteó realizar el presente estudio con el objetivo de determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae* frente a

**Correspondencia:** Sara Morales de Santa Gadea. Instituto Nacional de Salud. Calle Cápac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú. Apartado postal 471. Telf.: (0511) 4719920 - Fax: (0511) 4710179. E-mail: bespecial@ins.sld.pe

los antibióticos recomendados por la Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) en el tratamiento de las infecciones respiratorias agudas, siendo esta información indispensable para orientar el tratamiento y establecer un programa nacional de vigilancia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo que consideró 30 cultivos de *S. pneumoniae* aislados de muestras de sangre (18) y líquido cefalorraquídeo (12), obtenidas durante el año 1999, de niños menores de 5 años de edad con diagnóstico de neumonía y meningitis procedentes de 7 hospitales integrantes de la Vigilancia de *H. influenzae* y *S. pneumoniae*: 4 de Lima (Instituto de Salud del Niño, Hospital Madre-Niño San Bartolomé, Hospital Nacional María Auxiliadora, Hospital Nacional Sergio Bernales) y 3 de provincias (Hospital Regional Docente de Trujillo, Hospital Regional del Cusco y Hospital Honorio Delgado de Arequipa).

Las muestras fueron remitidas en tubos de agar chocolate suplementado o de medio de transporte Amies con carbón, al Laboratorio de Bacteriología Especial del Instituto Nacional de Salud (INS) para determinar su susceptibilidad antimicrobiana.

En el INS, los neumococos fueron identificados utilizando métodos descritos en el Manual de la Organización Mundial de la Salud (OPS)<sup>8</sup>. Para determinar la susceptibilidad antimicrobiana, la totalidad de los aislamientos de *S. pneumoniae* fueron sometidos a la prueba tamiz para la penicilina, mediante la utilización de discos comerciales (Difco) siguiendo las pautas señaladas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)<sup>9</sup>. Como cepa control se utilizó *S. pneumoniae* ATCC 49619.

Los aislamientos que presentaron un halo de inhibición  $\geq 20$  mm se consideraron sensibles a penicilina y los que presentaron halo de inhibición  $\leq 19$  mm fueron considerados con sensibilidad disminuida a penicilina. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de penicilina, cloranfenicol y cotrimoxazol por el método de microdilución en placa, siguiendo las pautas señaladas por el NCCLS<sup>9-10</sup>. Para realizar las determinaciones de la CIM se utilizó caldo Mueller Hinton ajustado con cationes (BBL) y suplementado con 5% de sangre lisada de caballo. Para la sensibilización de las microplacas, se inoculó 50  $\mu$ L de cada una de las diluciones del antibiótico en los pocillos del 1 al 10, correspondiendo a penicilina concentraciones de 8 a 0,015 mg/mL, a cloranfenicol de 50 a 0,125 mg/mL, y a cotrimoxazol de 32/608 a 0,062/1,187 mg/mL. Los antibióticos usados fueron obtenidos de Sigma Chemical Co. A cada uno de los pocillos, se inoculó 50 mL de la dilución 1:100 preparada en caldo Mueller Hinton con sangre lisada de caballo a partir de una suspensión bacteriana 0,5 de McFarland; el pocillo 12 se empleó como control de crecimiento, conteniendo solo suspensión bacteriana. Las microplacas se incubaron en aerobiosis durante 20-24 horas a 35°C. La CIM fue determinada como la concentración más baja

del antibiótico que inhibió el crecimiento. La interpretación de sensible-resistente se obtuvo comparando los resultados obtenidos con los valores de las tablas del NCCLS para *S. pneumoniae*<sup>10</sup>. Como cepa control se utilizó *S. pneumoniae* ATCC 49619.

## RESULTADOS

De las 30 cepas de *S. pneumoniae*, 7 (23,0%) fueron sensibles a los antibióticos usados (penicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol) y 23 (77,0%) presentaron sensibilidad disminuida a uno o más antibióticos.

Al evaluar la penicilina se encontró sensibilidad disminuida en 8 cepas (26,6%): 4 (13,3%) con sensibilidad intermedia (CIM de 0,125 a 1 mg/mL) y 4 (13,33%) fueron resistentes (CIM de 2 a 8 mg/mL). En el caso del cotrimoxazol (sulfametoxazol+trimetoprim) se encontraron 21 cepas resistentes (70,0%): 11 (37,0%) con resistencia intermedia (CIM 1/19 a 2/38 mg/mL) y 10 (33,0%) con resistencia alta (CIM 4/76 a 32/608 mg/mL). Y finalmente, al evaluar el cloranfenicol se encontró resistencia en 10 cepas (33,0%), con un rango de CIM entre 8 y 32 mg/mL (Figura 1).

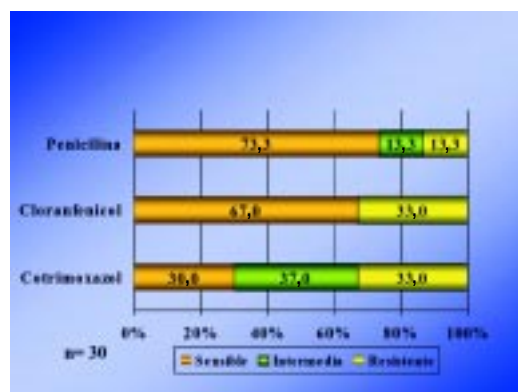


Figura 1. Susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae* determinando la CIM.

Se establecieron 5 patrones de resistencia (Figura 2): 9 (30,0%) cepas fueron resistentes a un solo antibiótico (cloranfenicol, cotrimoxazol), 12 (40,0%) a 2 antibióticos (penicilina-cotrimoxazol, cloranfenicol-cotrimoxazol) y 2 (6,7%) a 3 antibióticos (penicilina-cloranfenicol-cotrimoxazol).

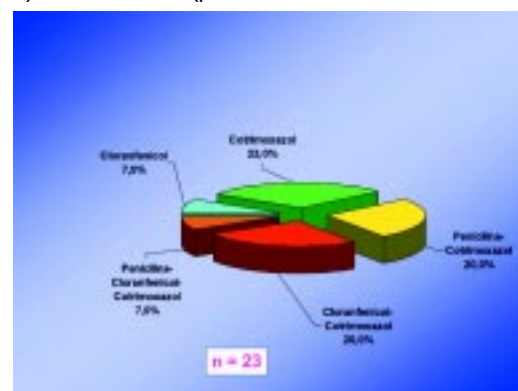


Figura 2. Patrones de resistencia y sensibilidad antibiótica de *S. pneumoniae*.

## DISCUSIÓN

Nuestras determinaciones de sensibilidad a los antibióticos comúnmente usados en el tratamiento de las infecciones por *S. pneumoniae*, nos permite concluir que existe sensibilidad disminuida a penicilina (26,6%), correspondiendo 13,3% a intermedio y 13,3% a resistente; siendo también importante la resistencia a cloranfenicol (33,0%) y a cotrimoxazol (70,0%). De acuerdo a los resultados obtenidos por Carrillo<sup>11</sup>, en Lima (1995), se observa que existe un incremento de la resistencia a la penicilina (de 3,3% a 26,7%). Este incremento también se ha encontrado en otros países de América Latina y Europa: España (de 4,3% a 40,0%)<sup>12</sup>, Francia (de 13,0 a 48,0%)<sup>13</sup>, Suiza(7%)<sup>14</sup>, Argentina (18,0%)<sup>15</sup> y Colombia (de 12,0% a 17,0%)<sup>16</sup>.

La resistencia de *S. pneumoniae* a cloranfenicol (33,0%) hallada en nuestro estudio es tan alta como la encontrada en España (29,4-56,5%)<sup>12</sup> y aún mayor que en Argentina (7,0%)<sup>15</sup>, Brasil (0,5%)<sup>4</sup>, Colombia (5,0-15,1%)<sup>17</sup> y Alemania (1,9%)<sup>18</sup>. Asimismo, la resistencia a cotrimoxazol es muy alta (70,0%) si se compara con países como Colombia (24,7-40,0%)<sup>17</sup> y España (40,0%)<sup>12</sup>.

La resistencia a dos antibióticos: penicilina-cotrimoxazol (20,0%) y a cloranfenicol-cotrimoxazol (20,%) es también alta, en relación a datos de otros países como Colombia (9,6%)<sup>16</sup>.

El número de aislamientos de *S. pneumoniae* examinados (30) es relativamente pequeño; sin embargo, los resultados nos indican la importancia de realizar estudios de sensibilidad a los antibióticos más usados, principalmente penicilina que ha mostrado alto grado de resistencia.

La mayoría de los estudios de sensibilidad a los antibióticos se realiza utilizando el método de difusión en disco que es una prueba que se complementa con la determinación de la concentración inhibitoria mínima que permite determinar con mayor precisión los niveles de resistencia según la concentración de antibiótico, dando una mayor aproximación al grado de sensibilidad-resistencia antimicrobiana de *S. pneumoniae*.

Los resultados obtenidos señalan que los esquemas de tratamiento a las drogas de elección deberían ser elegidos en relación con los niveles de sensibilidad-resistencia de los cultivos aislados de *S. pneumoniae* que aporten estudios como éste, por lo que es necesario mantener un programa de vigilancia con el fin de desarrollar políticas adecuadas sobre el uso racional de antibióticos.

## AGRADECIMIENTOS

A la Oficina Panamericana de la Salud y al Proyecto Vígia-USAID por el apoyo técnico y financiero brindado. Al Dr. César Náquira Velarde (Instituto Nacional de Salud), por sus valiosos aportes en la elaboración del artículo.

## REFERENCIAS

1. **Appelbaum PC.** Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. Clin Infect Dis 1992; 15(1): 77-83.
2. **Marton A, Gulyad M, Muñoz R, Tomasz A.** Extremely high incidence of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hungary. J Infect Dis 1991; 163(3): 542-8.

3. **Liñares J, Pallares R, Alonso T, Perez JL, Ayats J, Gudiol F, et al.** Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1979-1990). Clin Infect Dis 1992; 15(1): 99-105.
4. **Furian J, Levin A, Levy C, Asensi M, Facklam R, Martins L.** Distribution of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Brazil from 1988 to 1992. J Clin Microbiol 1994; 32(4): 906-911.
5. **Geslin P, Buu-Hoy A, Frémaux A, Acar JF.** Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an epidemiological survey in France, 1970-1990. Clin Infect Dis 1992; 15(7): 95-9.
6. **Lovgren M, Dell'Acqua L, Palacio R, Echániz-Aviles G, Soto-Noguerón A, Castañeda E, et al.** Determination of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance in *Streptococcus pneumoniae* by using the E test with Mueller-Hinton agar supplemented with sheep or horse blood may be unreliable. J Clin Microbiol 1999; 37(1): 215-7.
7. **Aisa ML, Esteban A, Villuendas C, López C.** Pneumococcal pneumonia. 6 year review. J Clin Microbiol 1991; 9(5): 277-82.
8. **World Health Organization.** Manual for the national surveillance of antimicrobial resistance of *S. pneumoniae* and *H. influenzae*: epidemiological and microbiology methods. Centers for Disease Control. Programme for control of acute respiratory infections; 1994.
9. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A5. Sixth edition. Villanova, Pennsylvania; 1996.
10. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A6. Sixth edition. Villanova, Pennsylvania; 1997.
11. **Carrillo C, Fukuda J, Echevarría J, Llanos F, Yi A, Palominos S, et al.** Estudio transversal sobre resistencia a penicilina de *Streptococcus pneumoniae* en Lima. Libro de Resúmenes: IV Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales 1995; 4(2): 55.
12. **Fenoll A, Martín Bourgon C, Muñoz R, Vicioso D, Casal J.** Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Spain, 1979-1989. Rev Infect Dis 1991; 13:56-60.
13. **Bédos J, Chevret S, Chastang C, Geslin P, Régnier B and the French Cooperative Pneumococcus Study Group.** Epidemiological features and risk factors for infection by *Streptococcus pneumoniae* strains with diminished susceptibility to penicillin: Finding of a French Survey. Clin Infect Dis 1996; 22: 63-72.
14. **Wust J, Huf E, Kayser FH.** Antimicrobial susceptibilities and serotypes of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains in Switzerland. J Clin Microbiol 1995; 33(12): 3159-63.
15. **Rossi A, Tokumoto M, Galas M, Soloaga R, Corso A y Red Nacional de Laboratorios del Programa WHONET.** Vigilancia de la resistencia a los antibacterianos en Argentina. Programa WHONET, 1995-1996. Rev Panam Salud Pública 1999; 6(4): 234-41.
16. **Leal A, Castañeda E y Grupo Colombiano de Trabajo en Streptococcus pneumoniae.** Susceptibilidad a antimicrobianos en aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* invasor en Colombia. Rev Panam Salud Pública 1999; 5(3): 157-63.
17. **Leal A, Castañeda E.** Susceptibilidad antimicrobiana de colonizante en niños colombianos con neumonía. Rev Panam Salud Pública 1997; 1(4): 266-73.
18. **Reinert R, Queck A, Kauffhold A, Kresken M, Lutticken R.** Antimicrobial resistance and type distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Germany, 1992-1994. Clin Inf Dis 1995; 21: 1398-401.