

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Streptococcus pyogenes*
AISLADOS DE FARINGE EN EL HOSPITAL
INFANTIL MUNICIPAL DE CÓRDOBA DURANTE EL PERÍODO 2006-2008.

Cossutta, S; González, L; Medina, R; Corres, ME.

INSTITUCIÓN: Hospital Infantil Municipalidad de Córdoba.
CORRESPONDENCIA: Sandra Lorena Cossutta. Lavalleja 3000 (5000).
Córdoba. Argentina
MAIL: lorenacossutta11@yahoo.com.ar
TELÉFONOS: 0351-152298891 o 03521-15407177.

RESUMEN

Streptococcus pyogenes (*S. pyogenes*) es uno de los patógenos bacterianos más frecuentemente aislado en casos de faringoamigdalitis que también origina distintas infecciones cutáneas y sistémicas. El tratamiento de elección en las faringitis es la penicilina, ya que hasta el momento no se encontraron cepas resistentes. Los macrólidos y la clindamicina son una opción en pacientes alérgicos a los β -lactámicos. El objetivo fue evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de *S. pyogenes* aislados de faringe, determinar el porcentaje de resistencia frente a eritromicina y clindamicina e inferir el tipo de mecanismo de resistencia en cepas aisladas durante el período enero de 2006 a diciembre 2008 en el Hospital Infantil Municipal de Córdoba. Se estudiaron 104 cepas de *S. pyogenes* provenientes de hisopados faríngeos. No se observó resistencia a penicilina, mientras que 2,9% fue resistente a eritromicina y 1% a clindamicina. Estos datos sugieren que los macrólidos siguen siendo una buena opción terapéutica en los pacientes alérgicos a la penicilina.

Palabras claves: *Streptococcus pyogenes*, faringitis, resistencia, eritromicina, penicilina, clindamicina.

INTRODUCCIÓN

S. pyogenes es uno de los patógenos bacterianos más importantes de los seres humanos. La infección más frecuente que produce es la faringitis estreptocócica y también origina distintas infecciones cutáneas y sistémicas (1,2). Éste microorganismo causa enfermedades invasivas como fascitis necrotizante, síndrome de shock tóxico estreptocócico, bacteriemias, y meningitis (3, 4, 5). La faringoamigdalitis ocurre principalmente en niños entre 5 y 15 años, pero todos los grupos etáreos son susceptibles (6, 7).

El aislamiento e identificación de *S. pyogenes* se realiza para confirmar la etiología del agente causante de la faringitis e instaurar un tratamiento que evite el riesgo de complicaciones supurativas (otitis, sinusitis, abscesos periamigdalinos) y no supurativas (fiebre reumática aguda y glomerulonefritis aguda post estreptocócicas). Estas dos secuelas no supurativas, hacen que la faringitis ocupe un lugar singular en la microbiología médica. El tratamiento de elección es la penicilina ya que hasta el momento no se ha constatado la aparición de cepas resistentes (8,9).

Los macrólidos y la clindamicina son una opción en aquellos pacientes que son alérgicos a los β -lactámicos. La adquisición de resistencia a los macrólidos ocurre mediante dos mecanismos de resistencia: modificación del sitio blanco y eflujo activo. El mecanismo de modificación del sitio blanco se produce por la adquisición de un gen *erm* (erythromycin ribosome methylase) que codifica una enzima metilasa, produciendo un cambio conformacional en el ribosoma que disminuye la afinidad a macrólidos, lincosamidas y streptogramina B. Esta resistencia cruzada se conoce como resistencia fenotípica MLSb y se expresa en forma constitutiva (MLSc) o inducible (MLSi).

El eflujo activo se produce por la presencia de un gen *mef* (macrolide efflux) que codifica la síntesis de una bomba que media el eflujo en forma activa. Este eflujo activo

sólo confiere resistencia a macrólidos por lo que se conoce como resistencia fenotípica M; siendo éste el mecanismo más frecuentemente encontrado en este microorganismo (10).

El objetivo fue evaluar la susceptibilidad antimicrobiana en *S. pyogenes* aislados de faringe y determinar el porcentaje de resistencia frente a eritromicina y clindamicina e inferir el tipo de mecanismo de resistencia en cepas aisladas durante el período enero de 2006 a diciembre de 2008 en el Hospital Infantil Municipal de Córdoba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras obtenidas

Se realizó un estudio retrospectivo en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Infantil Municipal de Córdoba desde enero 2006 a diciembre de 2008 sobre un total de 104 aislamientos de *S. pyogenes* provenientes de hisopado faríngeo, obtenidos de pacientes ambulatorios.

Análisis microbiológico

Se realizaron cultivos para la búsqueda de Streptococcus β -hemolíticos en las muestras obtenidas. Éstas fueron procesadas dentro de las 2 hs de extraídas. Los hisopados faríngeos fueron sembrados en agar sangre de carnero al 5 %. Las placas fueron incubadas durante 48 hs a 35-37°C en aerobiosis. La identificación se realizó según la metodología convencional (11,12).

Para los aislamientos β -hemolíticos se realizó la coloración de Gram, prueba de catalasa, discos de bacitracina 0.04 U y la prueba de hidrólisis de pyrrolidonyl arylamidasa (PYR) (13). Todos los resultados fueron informados entre las 24 y 72 hs de ingresada la muestra.

Las pruebas de sensibilidad se realizaron de acuerdo a las normas del Clinical Laboratory Standart Institute (CLSI) empleando el método de difusión por disco (14). Los antibióticos ensayados para todos los aislamientos fueron penicilina, eritromicina y clindamicina. Para detectar los diferentes fenotipos de resistencia se utilizó el método de doble disco que consiste en colocar los discos de eritromicina (15µg) y clindamicina (2µg) a 15 mm de distancia de borde a borde para favorecer la inducción de resistencia a clindamicina.

De esta manera se obtiene un patrón de antibiograma característico para cada fenotipo. El fenotipo M confiere sólo resistencia a eritromicina, entonces el halo de inhibición de clindamicina es redondo y simétrico. El fenotipo MLSb constitutivo (MLSc) otorga resistencia a eritromicina y clindamicina, se observan 2 halos pequeños y el fenotipo MLSb inducible (MLSi) dará un halo de inhibición de eritromicina de resistencia y un halo de clindamicina asimétrico con un aplanamiento de su halo hacia el lado de la eritromicina con lo que demuestra que eritromicina indujo la expresión de la resistencia a clindamicina (10).

RESULTADOS

Se obtuvieron 104 aislamientos de *S. pyogenes* a los que se les realizaron pruebas de sensibilidad. El número de aislamientos y el porcentaje de resistencia se observa en tabla 1.

No se detectó resistencia a penicilina, mientras que 3 cepas de *S. pyogenes* (2,9%) fueron resistentes a eritromicina, de las cuales 2 de éstas presentaron fenotipo MLSi y 1 cepa fenotipo M. Se detectó 1 cepa con resistencia intermedia a eritromicina (1%). El porcentaje de resistencia a clindamicina fue 1%.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

S. pyogenes es responsable de un amplio número de infecciones leves como así también graves que, por orden de frecuencia, son: faringitis, infecciones cutáneas (impétigo y erisipela) y de tejidos blandos, sepsis puerperal, neumonía, endocarditis, meningitis y artritis (15). Incluso origina cuadros de fiebre escarlatiniforme y el síndrome del shock tóxico, debido a cepas productoras de toxinas (8,16,17). En pediatría, la faringitis representa una de las enfermedades que más consultas ocasiona (18).

Durante el período de estudio se observó sensibilidad a penicilina en todos los aislamientos cuyos datos son coincidentes con otros autores argentinos (19). Los macrólidos se consideran el tratamiento alternativo, por ser tan eficaces y seguros como la penicilina, además tienen bajos niveles de resistencia, aunque algunos trabajos realizados en nuestro país encuentran porcentajes de resistencia entre el 6 al 12 %, como es el caso de Mendoza (11,1%), Neuquén y Cipolletti (12%) (19,20). Comparando nuestros datos con otros países vemos que el porcentaje de resistencia a eritromicina es mayor; en Finlandia (7,4%), Polonia (12%), Alemania (14%), Francia (22,4%), España (29,7%) y Grecia (38%) (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28).

En nuestras cepas encontramos una resistencia a eritromicina de 2,9 %, valor un poco más elevado que lo reportado en la ciudad de Buenos Aires, del 1,6 % sobre un total de 126 aislamientos (29).

Los mecanismos que encontramos en las cepas estudiadas fueron: fenotipo MLSi (2/104 cepas) y fenotipo M (1/104 cepas), distintos a los encontrados en un trabajo realizado en la ciudad de Paraná presentando fenotipo MLSc (5/150 cepas) y fenotipo M (1/150 cepas) (30).

En general, la etiología de las faringitis es de origen viral, aunque en un tercio de los casos son de origen bacteriano y requieren tratamiento antimicrobiano (7).

Como se mencionó, el tratamiento de elección es la penicilina y de acuerdo a nuestros datos podemos concluir que *S. pyogenes* continúa siendo sensible, pero debemos tener presente que los macrólidos son drogas de segunda elección para aquellos pacientes alérgicos a los β -lactámicos.

El nivel de resistencia a eritromicina encontrado en nuestro estudio es bajo comparado con otros lugares del país y el mundo en donde tienen un incremento marcado. Es por ello que alertamos sobre el riesgo del uso empírico de macrólidos en faringitis estreptocócica para prevenir las complicaciones de éstas, así como de infecciones graves que presentan una alta morbimortalidad.

Sugerimos la realización de pruebas de sensibilidad a macrólidos ante los aislamientos de *S. pyogenes* provenientes de hisopados faríngeos para efectuar vigilancia epidemiológica.

Tabla 1. Porcentaje de resistencia en 104 aislamientos de *S. pyogenes* en el Hospital Infantil Municipal de Córdoba.

Nombre del antibiótico	Puntos de corte	%R	%I	%S	%R 95%I.C.
Clindamicina	16 - 18	1	0	99	0.1-6.1
Eritromicina	16 - 20	2,9	1	96,1	0.8-8.8
Penicilina G	S \geq 24	0	0	100	0.0-4.5

Bibliografía

1. **Bogdan Luca-Harari, Kim Ekelund, Mark van der Linden, Margit Staum-Kaltoft, Anette M. Hammerum, and Aftab Jasir.** Clinical and Epidemiological Aspects of Invasive *Streptococcus pyogenes* Infections in Denmark during 2003 and 2004. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(1):79-86.
2. **Lucilla Baldassarri, Roberta Creti, Mónica Imperi, Simona Recchia, Marco Pataracchia, and Graziella Orefici.** Detection of Genes Encoding Internalization-Associated Proteins in *Streptococcus pyogenes* Isolates from Patients with Invasive Diseases and Asymptomatic Carriers. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(4): 1284-1287.
3. **Philippe Bidet, Céline Courroux, Christophe Salgueiro, Agnés Carol, Patricia Mariani-Kurkdjian, Stéphane Bonacorsi, and Edouard Bingen.** Molecular Epidemiology of the *sil* Streptococcal Invasive Locus in Group A Streptococci Causing Invasive Infections in French Children. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(6): 2002-2004.
4. **Dewan Sakhawat Billal, Muneki Hotomi, June Shimada, Keiji Fujihara, Kimiko Ubukata, Rinya Sugita, Noboru Yamanaka.** Prevalence of *Streptococcus* Invasive Locus (*sil*) and Its Relationship with Macrolide Resistance among Group A *Streptococcus* Strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(4): 1563-1564.
5. **Roger Meisal, E. Arne Hoiby, Ingeborg S. Aaberge, and Dominique A. Caugant.** Sequence Type and *emm* Type Diversity in *Streptococcus pyogenes* Isolates Causing Invasive Disease in Norway between 1988 and 2003. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(6): 2102-2105.

6. **Gwaltney JM, Bisno AL** Pharyngitis. En: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE (Eds) Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. New York, Churchill Livingstone, 2000; 656-662.
7. **Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, Kaplan EL, Schwartz RH.** Practice guidelines for the diagnosis and management of group A Streptococcal pharyngitis. Clin. Infect. Dis. 2002; 35:113-125.
8. **Alós JI, Aracil B, Oteo J, Torres C, Gómez-Garcés JL and the Spanish Group for the Study of Infection in the Primary Health Care Setting.** High prevalence of erythromycin-resistant and miconazole-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes*: results of multicenter study performed in 1998 in Spain. J. Antimicrob Chemother 2000; 45:605-609.
9. **Castro Rodríguez JA, Ochoa Sangrador C.** Pautas de una o dos dosis diarias de amoxicilina muestran similares porcentajes de fracaso bacteriológico en el tratamiento de faringitis estreptocócicas. Evid Pediatr. 2006; 2: 74.
10. **Rossana Camponovo C. Laboratorio de Microbiología, Integramédica.** Problemas de resistencia en *Streptococcus pyogenes*. Rev. Chil Infect 2002; 19 (2): 5107-110.
11. **Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Tenover FC, Tenover HC, Shadomy HJ.** Manual of Clinical microbiology. Washington DC; American Society of Microbiology, 1991; 299-314.
12. **Mc Fadin JF.** Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia Clínica. Editorial panamericana, Buenos Aires. 1980.
13. **Elmer W Koneman, M.D., Stephen D. Allen, M.D., William M. Janda, Ph.D., Paul C. Schreckenberger, Ph.D., M.S., Washington C. Winn, (h.), M.D. M.B.A.** Los cocos gram positivo: Parte II: Estreptococos, Enterococos y

- Bacterias similares a *Streptococcus* .cap. 12.Diagnóstico Microbiológico. Texto y ATLAS COLOR.Editorial Medica panamericana. Buenos Aires-Bogotá-Caracas-Madrid-Mexico-Saopaulo. Talleres de Compañía Gráfica Internacional S.A.Av. Amancin ALCORTA 1695, Buenos Aires. Argentina. 2004; 590-596.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Streptococcus spp.* Other Than *S. pneumoniae*. Tabla 2H M2-Disk Diffusion. January 2007 Vol.27 N°.1
15. **Shona Neal, Bernard Beall, Kim Ekelund, Birgitta Henriques-Normark, Aftab Jasir, Dwight Johnson, Edward Kaplan, Marguerite Lovgren, Ralf Rene Reinert, Members of the Strep-EURO Study Group and International Streptococcus Reference Laboratories, and Androulla Efstratiou.** International Quality Assurance Study for Characterization of *Streptococcus pyogenes*. J. Clin. Microbiol. 2007; 45(4): 1175-1179.
16. **A. Friaes, M. Ramirez, J. Melo-Cristino, and the Portuguese Group for the Study of Streptococcal Infections.** Nonoutbreak Surveillance of Group A Streptococci Causing Invasive Disease in Portugal Identified Internationally Disseminated Clones among Members of a Genetically Heterogeneous Population. J. Clin. Microbiol. 2007; 45(6): 2044-2047.
17. **Roberta Creti, Monica Imperi, Lucilla Baldassarri, Marco Pataracchia, Simona Recchia, Giovanna Alfarone, and Graziella Orefici.** *emm* Types, Virulence Factors, and Antibiotic Resistance of Invasive *Streptococcus pyogenes* Isolates from Italy: What Has Changed in 11 Years?. J.Clin. Microbiol. 2007; 45(7): 2249-2256.

18. **Vukmir RB.** Adult and pediatric pharyngitis: a review. *J Emerg Med* 1991; 10:607-616.
19. **Soriano SV, Brasili S, Saiz M, et al.** *Streptococcus pyogenes*: penicillin and erythromycin Susceptibility in the Cities of Neuquen and Cipolletti. *Medicina (Buenos Aires)* 2000; 60 (4): 487-90.
20. **Lopardo HA, Hernandez C, Vidal P, et al.** Erythromycin resistant *Streptococcus pyogenes* in Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 2004; 64 (2): 143-145.
21. **Edouard Bingen, Philippe Bidet, Liliana Maihaila_ Amrouche, Catherine Doit, Samuel Forcet, Naima Brahimi, Anne Bouvet and Robert Cohen.** Emergence of Macrolide Resistant *Streptococcus pyogenes* Strains in French Children. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2004; 48 (9): 3559-3562.
22. **Alos, J.I, B. Aracil, J Oteo, and J.L. Gomez-Garces.** Significant increase In the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miocamycin-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes* in Spain. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003; 51: 333-337.
23. **Bergman, M., S. Huikko, M. Pihlajamaki, P. Laippala, E. Palva, P. Houvinen, and H. Seppala.** Effect of macrolide consumption on erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Finland in 1997-2001. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38: 1236-1251.
24. **Nielsen, H.U., A. M. Hammerum, K. Ekelund, D. Bang, L.V. Pallesen, and N. Frimodt Moller.** Tetracycline and macrolide co-resistance in *Streptococcus pyogenes*: Co-seletion as a reason for increase in macrolide-resistant *S. pyogenes*. *Microb. Drug. Resist.* 2004; 10:231-238.

25. **Reinert, R. R. , C. Franken, M. Van der Linden, R. Lutticken, M. Gil, and A. Al Lahham.** Molecular characterisation of macrolide resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated in Germany, 2002-2003. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2004; 24: 43-47.
26. **Syrogianopoulos, G. A., I. N. Grives, F. Fitoussi, C. D. Katopodis, E. Bingen, and N. G. Beratis.** High prevalence of erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes* in Greek children. *Pediatric. Infect. Dis.* 2001; 20: 863-868.
27. **Szczypa, K., E. Sadowy, R. Izdebski, and W. Hryniewicz.** A rapid increase in macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* isolated in Poland during 1996-2002. *J. Antimicrob. Chemother* 2004; 54: 828-831.
28. **Weiss, K., J. De Azvedo, C. Restieri, L. A. Galarneau, M. Gourdeau, P. Harvey, J. F. Paradis, K. Salim, and D. E. Low.** Phenotypic and genotypic characterization in the province of Quebec, Canada. *J. Antimicrob. Chemother* 2001; 47:345-348.
29. **Hugo E. Villar, Monica B. Jugo, Gabriela Santana, Marisa Baserni, Juan Manuel Reil. Laboratorio Hidalgo, Buenos Aires.** Aumento en la prevalencia de *Streptococcus* beta hemolítico en hisopados faríngeos en Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 2005; 65: 311-314.
30. **Preturussi, N; Petrilli, S ; Salamone, F ; Mobilia, L; Boleas, M ; Almara , A ; Splendore, C .Hospital San Martín_Hospital San Roque. Paraná, Argentina.** Resistencia frente a eritromicina y clindamicina de *Streptococcus pyogenes* en dos Hospitales de la Ciudad de Paraná. *Rev. Argent. Microbiol.* 2007; 39(1): 108.

