

Original

Sensibilidad de *Streptococcus pyogenes* a los macrólidos y las quinolonas en Guadalajara (España)

M.E. Rodríguez Zurita, S. Solís del Baño, P. Robres Guillén, A. González Praetorius, C. Gimeno Fernández, M.T. Pérez Pomata y J. Bisquert Santiago

Sección de Microbiología, Hospital General Universitario de Guadalajara, C/ Donantes de Sangre s/n, Guadalajara

RESUMEN

Se estudió retrospectivamente la sensibilidad a penicilina, eritromicina, clindamicina y ofloxacino de 104 cepas de *Streptococcus pyogenes* aisladas durante los años 2000 y 2001 de muestras clínicas procedentes de distintas localizaciones. En las cepas resistentes a ofloxacino se estudió también la sensibilidad a levofloxacino utilizando el método de difusión en agar y siguiendo las normas del NCCLS. Ningún aislamiento fue resistente a penicilina ni clindamicina; en cambio, se detectaron 11 cepas resistentes a eritromicina (10,6%) y 4 resistentes a ofloxacino (3,8%). Se estudiaron los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas empleando discos de eritromicina y clindamicina. Nueve de las 11 cepas resistentes a eritromicina mostraron un fenotipo M, mientras que las dos restantes presentaron resistencia inducible frente a clindamicina, sugiriendo un fenotipo MLS_B inducible. No se encontraron cepas con fenotipo de resistencia constitutiva a eritromicina y clindamicina (fenotipo MLS_B constitutivo). La penicilina sigue siendo uniformemente activa frente a *S. pyogenes*, mientras que en el área sanitaria de Guadalajara existe un 10,6% de cepas resistentes a los macrólidos de 14 y 15 átomos.

Palabras clave: *Streptococcus pyogenes* - Fenotipos de resistencia a macrólidos

Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to macrolides and quinolones in Guadalajara, Spain

SUMMARY

We carried out a retrospective study of the susceptibility of 104 *Streptococcus pyogenes* strains, which were isolated in 2000 and 2001 from clinical samples of different origins, to penicillin, erythromycin, clindamycin, ofloxacin and levofloxacin. The susceptibility testing was performed using the agar diffusion method according to the guidelines of the NCCLS. All of the isolates showed susceptibility to penicillin and clindamycin. However, we detected 11 strains that were resistant to erythromycin (10.6%) and 4 strains resistant to ofloxacin (3.8%). We studied the resistance phenotypes of macrolides and lincosamides using erythromycin and clindamycin discs. Nine of the eleven strains that were resistant to erythromycin showed an M phenotype, while the remaining two showed inducible resistance to clindamycin, thus suggesting an MLS_B inducible phenotype. No strains with constitutive resistance to erythromycin or clindamycin (MLS_B constitutive phenotype) were identified. While penicillin is still uniformly active against *S. pyogenes*, in Guadalajara, there are 10.6% strains that are resistant to 14- and 15-atoms macrolides.

Key words: *Streptococcus pyogenes* - Macrolide resistance phenotypes

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pyogenes es la causa más frecuente de faringitis bacteriana y también produce impétigo, erisipela, infecciones de heridas y enfermedad invasiva grave (1). La penicilina ha sido y sigue siendo el tratamiento de elección de la faringitis estreptocócica, ya que *S. pyogenes* es uniformemente sensible. Para los pacientes alérgicos a la penicilina, los macrólidos (tradicionalmente la eritromicina) se consideran el tratamiento alternativo de la faringitis y otras infecciones menores (2).

Se sabe que la prevalencia de la resistencia a los antibióticos depende en parte de su uso en la comunidad y, si bien el uso de penicilina no ha originado la aparición de resistencia *in vitro* en *S. pyogenes*, se ha establecido una relación directa entre el consumo de macrólidos y la diseminación de resistencias en esta especie (3). Así, en distintos países, entre los que se encuentra España (2-8), se ha observado un aumento de la resistencia de *S. pyogenes* a los macrólidos, posiblemente relacionado con el aumento del consumo de estos antimicrobianos.

Los mecanismos que confieren resistencia a los macrólidos y las lincosamidas son la modificación del lugar de unión del antibiótico al ribosoma y la expulsión activa de éste. El primer mecanismo consiste en la modificación de la subunidad 23S del RNAr mediada por una RNAr-adenina-metilasa codificada por los genes *erm* (*erythromycin ribosome methylase*), principalmente *ermB* y *ermTR*. Este mecanismo confiere resistencia cruzada a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (fenotipo MLS_B), y puede ser constitutivo o inducible, según se exprese en ausencia o presencia del antibiótico inductor, respectivamente (9, 10). La expulsión del antibiótico está asociada a la presencia de un sistema de bombeo activo del macrólido y está codificado por genes *mef* (principalmente *mefA*). Este sistema actúa sobre los macrólidos de 14 y 15 átomos, pero no sobre los de 16 ni sobre las lincosamidas y la estreptogramina B (fenotipo M) (9-11).

El objetivo de nuestro estudio fue conocer la prevalencia de la resistencia a la penicilina, los macrólidos, las lincosamidas y las fluoroquinolonas en *S. pyogenes* del área sanitaria de Guadalajara en los años 2000 y 2001, así como los distintos fenotipos de resistencia a los macrólidos y las lincosamidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 104 *S. pyogenes* aislados durante los años 2000 y 2001 de 77 exudados faríngeos, diez heridas, ocho

exudados vaginales, dos exudados óticos, una muestra de sangre y seis muestras clínicas de origen desconocido. Las muestras procedían de 72 niños y 32 adultos.

El estudio de sensibilidad se realizó por el método de difusión en agar. Se emplearon placas de agar Mueller-Hinton sangre (Biomédics) y discos de 15 µg de eritromicina, 2 µg de clindamicina, 10 µg de penicilina G, 5 µg de ofloxacino (Mast) y 15 µg de levofloxacino (Becton Dickinson). Las placas se incubaron a 37 °C en atmósfera con un 5% de CO₂ durante 18 a 24 horas. Se incluyó como control de calidad la cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Para la interpretación de los resultados se siguieron los criterios del NCCLS (12).

En las cepas resistentes a la eritromicina se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) en Mueller-Hinton mediante *E-test*[®] (AB Biodisk Solna, Suecia), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Para estudiar el fenotipo de resistencia, los discos de eritromicina y clindamicina se colocaron a 20 mm de distancia (13). Se identificó el fenotipo MLS_B constitutivo cuando existía crecimiento alrededor de los discos de eritromicina y clindamicina; fenotipo MLS_B inducible cuando había crecimiento alrededor del disco de eritromicina y aparecía una distorsión en el halo de la clindamicina próxima al disco de eritromicina; y fenotipo M cuando existía resistencia a la eritromicina y sensibilidad a la clindamicina sin distorsión en su halo.

El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de χ^2 .

RESULTADOS

Todas las cepas estudiadas fueron sensibles a la penicilina. Se encontraron 11 cepas (10,6%) resistentes a la eritromicina y ninguna resistente a la clindamicina. De las resistentes a la eritromicina, nueve mostraron un patrón de resistencia compatible con el fenotipo M y dos con el fenotipo MLS_B inducible. No se encontraron cepas con fenotipo MLS_B constitutivo (Tabla 1).

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.5$) entre el número de cepas resistentes a la eritromicina procedentes de niños (11%) y de adultos (9,4%).

La resistencia a la eritromicina fue del 10,4% en las cepas de origen faríngeo y del 14,2% en las cepas procedentes de otras localizaciones ($p > 0.5$).

Se encontró una cepa resistente al ofloxacino y tres con sensibilidad disminuida a este antibiótico. En estas cuatro cepas se estudió la sensibilidad al levofloxacino, resultando todas ellas sensibles.

Tabla 1. Patrones de resistencia a los macrólidos y las lincosamidas en *S. pyogenes*.

Fenotipo compatible	Patrón de resistencia	Nº cepas	Rango de CMI (mg/l) de eritromicina
Sensible	Sensible a eritromicina y clindamicina	93	NR
M	Resistente a eritromicina y sensible a clindamicina	8	1-16
	Sensibilidad intermedia a eritromicina y sensible a clindamicina	1	0,5
MLS _B inducible	Resistente a eritromicina y sensible a clindamicina	2	1-2
MLS _B constitutivo	Resistente a eritromicina y clindamicina	0	NR

NR: no realizado.

DISCUSIÓN

Al igual que en otros estudios (2, 6-8), todas las cepas de *S. pyogenes* estudiadas fueron sensibles a la penicilina, por lo que ésta sigue siendo el tratamiento de elección de la faringitis estreptocócica.

El porcentaje de resistencia a los macrólidos de 14 y 15 átomos encontrado en nuestra área sanitaria es inferior al hallado en otras áreas de España (2, 3, 6-8), que varía entre el 18% y el 29%, y en otros países (4, 5), que oscila entre el 18% y el 45%.

En España, hasta el año 1990 había una baja tasa de resistencia de *S. pyogenes* a la eritromicina (2, 3), pero a partir de entonces, con la introducción de los nuevos derivados de administración una o dos veces al día y el consiguiente incremento del consumo de macrólidos, aumentaron las resistencias (3). En nuestra área sanitaria, sin embargo, en 1996 se estudió la sensibilidad de 39 cepas de *S. pyogenes* aisladas de muestras clínicas procedentes de distintas localizaciones mediante dilución en agar siguiendo las normas del NCCLS, y se halló un 10% de resistencia a la eritromicina (datos no publicados), cifra que se ha mantenido constante hasta la actualidad.

Distintos estudios han comunicado una estrecha relación entre la resistencia a los macrólidos de *S. pyogenes* y de *S. pneumoniae* (14). En el área sanitaria de Guadalajara, hasta 1992 había menos de un 2% de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a la eritromicina, y entre 1992 y 1999 esta cifra aumentó al 8,3% (15), porcentaje similar al 10,6% encontrado para *S. pyogenes* en nuestro estudio, siendo ambas cifras inferiores a lo comunicado en otras zonas de España (14, 16).

Nueve de las 11 cepas resistentes a la eritromicina mostraron un patrón de resistencia compatible con el fenotipo M, que es también el más común en otros estudios españoles (2, 3, 6, 7). Las cepas que presentan fenotipo M son sensibles a los macrólidos de 16 átomos de carbono y a las lincosamidas, pudiendo estos antimicrobianos ser una alternativa de tratamiento (17), aunque se necesitan más estudios para confirmar su eficacia clínica (2).

Sólo dos de las cepas resistentes a la eritromicina presentaron un patrón de resistencia compatible con el fenotipo MLS_B inducible, ya que fueron resistentes a los macrólidos de 14 y 15 átomos de carbono y en presencia de éstos mostraron resistencia inducible a los de 16 átomos y a las lincosamidas.

Las fluoroquinolonas de tercera generación tienen un espectro de actividad que incluye a los microorganismos grampositivos causantes de infecciones de vías respiratorias. Ya se han encontrado *S. pyogenes* con resistencia a diversas fluoroquinolonas debido a mutaciones en la DNA girasa codificadas por los genes *gyrA* y *parC* (18). En nuestro caso se encontraron cuatro cepas resistentes al ofloxacino, pero ninguna de ellas lo era al levofloxacino.

Considerando la existencia de resistencia a la eritromicina en nuestra área sanitaria, recomendamos que cuando no se pueda emplear penicilina en el tratamiento empírico de la faringitis estreptocócica se evite el empleo de macrólidos de 14 y 15 átomos y se prescriban preferiblemente macrólidos de 16 átomos o lincosamidas (17, 19).

Debido al aumento general de las resistencias y a las variaciones geográficas existentes, en cada área sanitaria se deben hacer estudios periódicos de sensibilidad y de los mecanismos implicados en la resistencia para poder adecuar el tratamiento empírico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bisno, A.L., Stevens, D.L. *Streptococcus pyogenes (including streptococcal toxin shock syndrom and necrotizing fasciitis)*. Mandell G., Bennett, J.E., Dolin, R. (Eds.). En: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Pennsylvania 2000; 2: 2101-2117.
2. Alós, J.I., Aracil, B., Oteo, J., Torres, J.L., Gómez-Garcés, J.L. and the Spanish Group for the Study of Infection in the Primary Health Care Setting. *High prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin/miocomycin-susceptible (M phenotype) Streptococcus pyogenes: Result of a Spanish multicentre study in 1998*. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 605-609.

3. Granizo, J.J., Aguilar, L., Casal, J., Dal-Ré, R., Baquero, F. *Streptococcus pyogenes* resistance in relation to macrolide consumption in Spain (1986-1997). *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 959-964.
4. Kataja, J., Huovinen, P., Muotiala, A. y cols. *Clonal spread of group A Streptococcus with the new type of erythromycin resistance. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance.* *J Infect Dis* 1998; 177: 786-789.
5. Savoia, D., Avanzini, C., Bosio, K. y cols. *Macrolide resistance in group A streptococci.* *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 41-47.
6. García-Bermejo, I., Cacho, J., Orden, B., Alós, J.L., Gómez-Garcés, J.L. *Emergence of erythromycin-resistant, clindamycin-susceptible Streptococcus pyogenes isolates in Madrid, Spain.* *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 989-990.
7. Baquero, F., García-Rodríguez, J.A., García de Lomas, J., Aguilar, L., the Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. *Antimicrobial resistance of 914 beta-hemolytic streptococci isolate from pharyngeal swabs in Spain: Results of a 1-year (1996-1997) multi-center surveillance study.* *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 178-180.
8. Pérez-Trallero, E., Urbietta, M., Montes, M., Ayestaran, I., Marimón, J.M. *Emergence of Streptococcus pyogenes strain resistant to erythromycin in Gipuzcoa, Spain.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 25-31.
9. Rice, L., Bonomo, R.A. *Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents.* En: Lorian, V. (Ed.). *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore 1996: 451-453.
10. Cresti, S., Lattanzi, M., Zanchi, A. y cols. *Resistance determinants and clonal diversity in group A Streptococci collected during a period of increasing macrolide resistance.* *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1816-1822.
11. Clancy, J., Petitpas, J., Dib-Hajj, F. y cols. *Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, mefA, from Streptococcus pyogenes.* *Mol Microbiol* 1996; 22: 867-879.
12. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standards, fifth edition. Pennsylvania 2002; 22: 68-70.
13. Seppälä, H., Nissinen, A., Harvinen, H. y cols. *Resistance to erythromycin in group A streptococci.* *New Engl J Med* 1992; 326: 292-297.
14. Gómez-Lus, R., Granizo, J.J., Aguilar, L., Bouza, E., Gutiérrez, A., García-de Lomas, J. *Is there an ecological relationship between rates of antibiotic resistance of species of the genus Streptococcus?* *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3384-3386.
15. Alén, M.J., Tena, D., Robres, P. y cols. *Sensibilidad de Streptococcus pneumoniae a penicilina, eritromicina y ofloxacino.* *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18 (Supl. 1): 4-5.
16. Granizo, J.J., Aguilar, L., Casal, J., García-Rey, C., Dal-Ré, R., Baquero, F. *Streptococcus pneumoniae resistance to erythromycin and penicillin in relation to macrolide consumption in Spain (1979-1997).* *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 767-773.
17. Mensa, J., Gatell, J.M., Jiménez de Anta, M.T., Prats, G., Domínguez-Gil, A. *Etiología, exploraciones y tratamiento empírico: Faringitis.* En: Mensa, J., Gatell, J.M., Jiménez de Anta, M.T., Prats, G., Domínguez-Gil, A., Escofet, M.A., Martínez, J.A. (Eds.). *Guía de Terapéutica Antimicrobiana* 2002, Masson, Barcelona 2002: 319-321.
18. Yan, S.S., Fox, M.L., Holland, S.M., Stock, F., Gill, V.J., Fedorko, D.P. *Resistance to multiple fluorquinolones in a clinical isolate of Streptococcus pyogenes: Identification of gyrA and parC and specification of point mutations associated with resistance.* *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3196-3198.
19. Bisno, A.L., Gerber, M.A., Gwaltney, J.M., Kaplan, E.L., Schwartz, R.H. *Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis.* *Clin Infect Dis* 2002; 35: 113-125.