

Correlación de serotipos, sensibilidad y resistencia antimicrobiana en niños con infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae* en un centro de referencia de Asunción-Paraguay. Revisión de 6 años.

Correlation of serotypes, antimicrobial sensitivity and resistance in children with invasive infections by *Streptococcus pneumoniae* in a reference center of Asuncion-Paraguay. Review 6 years.

Biol. Gabriela Sanabria¹, Dra. Soraya Araya², Dr. Bq. Gustavo Chamorro³, Dra. Dolores Lovera², Prof. Dr. Antonio Arbo^{1,2}

¹Departamento de Investigación y Docencia Instituto de Medicina Tropical.

²Servicio de Pediatría. Instituto de Medicina Tropical. ³Laboratorio de Bacteriología Referencial. Lab. Central de Salud Pública.

***Streptococcus pneumoniae* is the main agent in extra-hospital pneumonia, meningitis in adults and acute otitis media in children. Aim: To determine the susceptibility, antibiotic resistance and serotypes of strains of *S. pneumoniae* isolated from patients admitted to the pediatric ward of the Institute of Tropical Medicine and correlate with the severe clinical picture presented. Results: We evaluated a total of 95 strains over a period of six years. 98% corresponded to samples from invasive infections. Of the 78 isolates, susceptibility testing was performed in 73 of them (94%) of which 37% (27/73) had decreased susceptibility to penicillin by Kirby-Bauer method, 10% of the strains were resistant to erythromycin, tetracycline 12%, 59% to cotrimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole) and 3% to chloramphenicol. We performed the minimum inhibitory concentration (MIC) to 69 strains (88%) where it was found highly resistant to penicillin in 13% (9 / 69), intermediate resistance in 6% (4/69) and cefotaxime resistance in 3 % of isolates. All strains tested were sensitive to vancomycin. It found 13 different serotypes. The 14, 5, 1 were common in all diseases studied. Conclusion: The strains of *S. pneumoniae* that have a higher percentage of resistance to penicillin belong to serotype 14 as well as strains with multidrug resistance. We isolated a single strain 23F to penicillin MIC 0.015 to 0.03 and cefotaxime.**

Key words: multiresistance, serotypes, *Streptococcus pneumoniae*

Resumen

Streptococcus pneumoniae es el principal agente etiológico en la neumonía extra hospitalaria, la meningitis en adultos y la otitis media aguda en los niños.

Objetivo: Determinar la susceptibilidad, la resistencia antibiótica y los serotipos de las cepas de *S. pneumoniae* aisladas de pacientes internados en el servicio de pediatría del Instituto de Medicina Tropical y correlacionarlos con la gravedad del cuadro clínico que presentaron. **Resultados:** Se evaluaron un total de 95 cepas en un periodo de seis años. El 98% correspondieron a muestras procedentes de infecciones invasivas. De los 78 aislamientos, se realizó antibiograma en 73 de ellas (94%) de las cuales el 37% (27/73) tuvieron sensibilidad disminuida a la penicilina por el método de Kirbi-Bauer, el 10% de las cepas fueron resistentes a la eritromicina, el 12% a la tetraciclina, el 59% a cotrimoxazol (trimetoprim-sulfametoxazol) y el 3% al cloranfenicol. Se realizó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a 69 cepas (88%) en donde se halló alta resistencia a la Penicilina en 13% (9/69), resistencia intermedia en 6% (4/69) y resistencia a cefotaxima en 3% de los aislamientos. Todas las cepas estudiadas fueron sensibles a la vancomicina. Se encontraron 13 serotipos diferentes. Los serotipos 14, 5, 1 fueron los más frecuentes en todas las patologías estudiadas. **Conclusión:** Un sostenido incremento en la resistencia a antibióticos del *Streptococcus pneumoniae* se ha observado en un centro hospitalario de referencia. Algunos serotipo del neumococo muestran asociación significativa con resistencia. Es mandatoria la vigilancia continua de la sensibilidad de cepas de *S. pneumoniae*.

Palabras claves: multirresistencia, serotipos, *Streptococcus pneumoniae*

Introducción

En Paraguay, como en otras partes del mundo, las infecciones de vías respiratorias continúan siendo una de las 10 primeras causas de morbilidad y mortalidad en los menores de cinco años de edad. En las infecciones de origen comunitario los principales agentes etiológicos son virus y bacterias. Dentro de las bacterias, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella catharralis* son las que se aíslan con mayor frecuencia (1-4).

En niños menores de cinco años, *S. pneumoniae* causa infecciones como otitis media, sinusitis o neumonía, que pueden ir acompañadas de otras enfermedades invasoras como meningitis, neumonía y bacteriemia (5-8).

S. pneumoniae habita la faringe y nasofaringe de individuos sanos. La frecuencia de portadores es variable pero se estima entre 5 a 75% (7). La colonización inicia en la etapa de lactancia y la proporción de portadores disminuye en forma inversamente proporcional a la edad; se encuentra de 38 a 45% en menores de cinco años, de 29 a 39% en niños de 5 a 9 años y de 9 a 25% en niños de 9 a 14 años (3, 7-9).

A partir de la puerta de entrada respiratoria, *S. pneumoniae* es capaz de producir diferentes cuadros clínicos que afectan al tracto respiratorio superior, como la otitis media, mastoiditis y sinusitis, o al tracto respiratorio inferior, como la neumonía.

Entre los cuadros clínicos extrarrespiratorios destaca la meningitis, que puede ser debida a la entrada directa del microorganismo a través de una fístula que comunique la nasofaringe con el espacio meníngeo o bien puede ser una complicación de la neumonía bacteriémica (10).

S. pneumoniae es el agente etiológico de aproximadamente el 60% de las neumonías bacterianas adquiridas en la comunidad, con una incidencia estimada de 68-260 casos por 100.000 habitantes y año. Después de *Neisseria meningitidis*, es el segundo agente causal de meningitis bacteriana en la población adulta y la causa de más de la mitad de casos de otitis media aguda en la población infantil (11).

Objetivos: Determinar la frecuencia, serotipos, susceptibilidad y resistencia a antimicrobianos en *Streptococcus pneumoniae* aislados de muestras de pacientes menores internados en el servicio de pediatría del Instituto de Medicina Tropical (IMT).

Determinar la prevalencia de los serotipos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* que causan enfermedad invasiva.

Establecer la relación entre el serotipo y la resistencia o multirresistencia antimicrobiana en neumonías y meningitis.

Asociar el serotipo y la resistencia antimicrobiana con la mortalidad en pacientes con meningitis y neumonía.

Materiales y Métodos

Estudio retrospectivo de corte transversal, hecho de enero de 2002 a agosto de 2007. Se incluyeron niños menores de 14 años con cultivos positivos para *Streptococcus pneumoniae* de muestras aisladas de pacientes internados en el Servicio de Pediatría del Instituto de Medicina Tropical en el que se aislaron 78 cepas de *S. pneumoniae*.

La muestra fue sembrada en medios de gelosa chocolate enriquecido y gelosa sangre de carnero a 5%, y se incubó en atmósfera parcial de CO₂ (5-10%) a 35°C durante 18-24 horas. La identificación del *S. pneumoniae* se llevó a cabo mediante morfología colonial, observación de hemólisis parcial, solubilidad en bilis, sensibilidad a la optoquina y tinción de Gram.

La tipificación se realizó por reacción capsular con un pool de antisueros y posteriormente antisueros para grupo, tipo y sueros de factores para diferenciar tipos dentro de los grupos.

Se realizó susceptibilidad a cinco antimicrobianos por el método de dilución en agar de acuerdo con los criterios del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (12).

Para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana en hospitales se realizaron pruebas de difusión en disco, utilizando discos comerciales. Para *S. pneumoniae*: oxacilina (1 mg), cloranfenicol (30 mg), eritromicina (30 mg), tetraciclina (30 mg), vancomicina (5 mg).

Las cepas aisladas e identificadas de *S. pneumoniae* por el laboratorio de bacteriología del Instituto de Medicina Tropical y fueron enviadas al Laboratorio de Bacteriología del Laboratorio Central de Salud Pública para: a) confirmación de la identificación etiológica; b) determinación de serotipos; y c) determinación de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana mediante la concentración inhibitoria mínima (CIM) (13)

La determinación de serotipos de *S. pneumoniae* se realizó mediante la prueba de Neufeld-Quellung, utilizando 12 pools de antiseros polivalentes (A, B, C, D, E, F, H, P, Q, R, S, T). Como cepa control se utilizó *S. pneumoniae* ATCC 49619. Para realizar la determinación de serotipos/subtipos se utilizó cultivo puro de 24 horas de incubación, aislado de agar tripticasa de soya con 0,45% de extracto de levadura suplementado con sangre de carnero al 10%.

Todas las cepas fueron inicialmente examinadas con cada uno de los antiseros polivalentes A, B, C, D, E, F, H (título >1:8), luego con cada uno de los antiseros polivalentes P, Q, R, S, T (título <1:16), y finalmente con los factores de suero para la identificación de los subtipos.

Se identificó el serotipo por la visualización microscópica (100x) de la reacción capsular de Quellung, hinchamiento y aglutinación de las bacterias). Los resultados se muestran mediante estadística descriptiva, prueba de ji cuadrada y razón de momios con intervalos a 95% para los factores de riesgo.

Resultados

Se aislaron 78 muestras de *Streptococcus pneumoniae* el cual la relación del sexo fue de 1:1 para ambos sexos (39/39). El rango etario fue dividido en >2, de 3 a 5 años y de 6 a 14 (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la población de estudio

Sexo	n=78	%
Femenino	39	50
Masculino	39	50
Edad		
≤ 2 años	45	58
3 - 5 años	11	14
6 - 14 años	20	26
Sin datos	2	2

Aislamiento de Bacterias

Se obtuvieron en total 78 aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, de los cuales correspondieron a hemocultivos (37%), líquido cefalorraquídeo (23%), líquido pleural (32%) y punción pulmonar (8%). El 71% de los pacientes tenía diagnóstico de neumonía, 27% de meningitis y 2% otros procesos invasivos (bacteriemia, sepsis)

De los pacientes ingresados al servicio de pediatría con diagnóstico de neumonía se aisló *S. pneumoniae* en 64/874 ver en total desde el 2002 (7%) casos, en pacientes con meningitis se aisló *S. pneumoniae* en 28/478 (6%). De los procesos invasivos causados por *S. pneumoniae* se observa que acorde para los años la cantidad de aislamientos en infecciones causadas por este germen va en aumento, como se puede observar en la Tabla 2.

Tabla 2 Aislamientos de *S. pneumoniae* en menores de 14 años.

Diagnostico	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Neumonía 64	7 (11%)	7 (11%)	8 (13%)	14 (22%)	26 (41%)	2 (3%)
Meningitis 28	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	9 (32%)	15 (54%)	4 (14%)
Otros 3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (67%)	1 (33%)	0 (0%)

Identificación de serotipos

Se realizó la serotipificación en 69/78 (88%) de las cepas aisladas. De las 69 cepas de *S. pneumoniae*, se identificaron los serotipos 1 (10%), 3 (1,5%), 4 (1,5%), 5 (15%), 6B (3%), 7F (4%), 9V (4%), 12F (1,5%), 14 (33%), 18 (1,5%), 19A (3%), 19F (1,5%) y 23F (1,5%).

En los casos de neumonía se identificaron los serotipos 1, 3, 4, 5, 14, 18, 12F, 19A, 19F, 6B, 7F y 9V y en los casos de meningitis se identificaron los serotipos 1, 5, 14 y 23F (Cuadro 1).

Cuadro I
Serotipos más frecuentes aislados en
Streptococcus pneumoniae

Serotipos	Número	Porcentaje
14	23	33
5	10	15
1	7	10

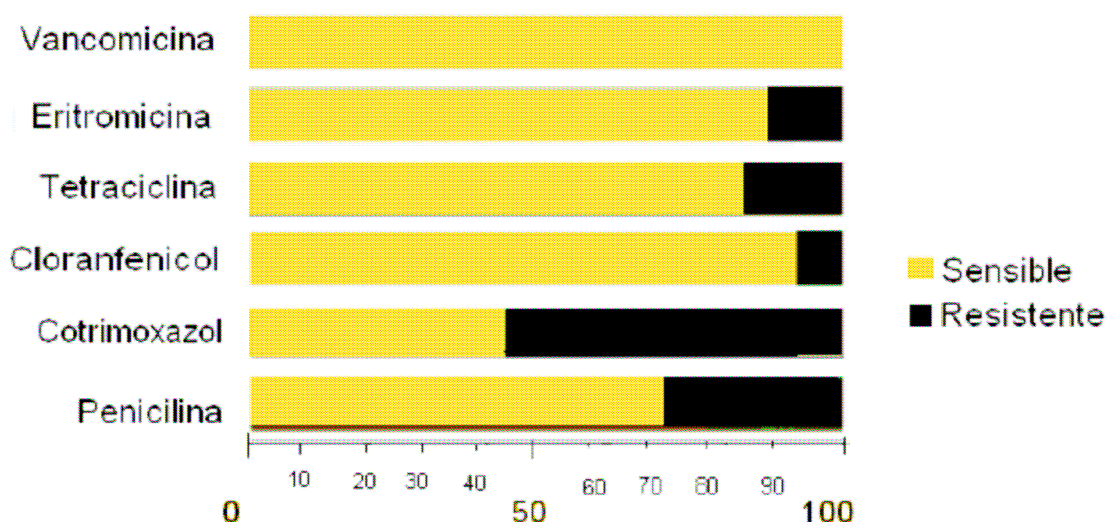
En los casos fallecidos se identificaron los serotipos 14 (80%) todos ellos con diagnóstico de meningitis y serotipo 5 (20%) con diagnóstico de neumonía.

Susceptibilidad a antimicrobianos

Se realizaron pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos por el método de Kirby-Bauer en 73/78 (94%) de las cepas aisladas y por CIM en 69/78 (88%).

La resistencia a cotrimoxazol 59% (43/73) a eritromicina 10% (7/73), a tetraciclina 9% (12/73) y a cloranfenicol 3% (2/73) por el método de Kirby-Bauer, 27 cepas de *S. pneumoniae* se identificaron con sensibilidad disminuida a la penicilina por el método de Kirby-Bauer (37%) a los que se realizó la CIM para Penicilina y Cefotaxima, encontrándose 13% cepas con alta resistencia a penicilina, 6% con resistencia intermedia y 3% a Cefotaxima (una sola cepa). La asociación de resistencia antimicrobiana a penicilina, cotrimoxazol y tetraciclina fue encontrada en cinco cepas (serotipo 14). Fue encontrada una cepa resistente a penicilina, cotrimoxazol, cloranfenicol y tetraciclina cuyo serotipo también correspondió al 14 con el diagnóstico de neumonía (Figura 1). Una asociación muy importante clínicamente está dada entre penicilina y cotrimoxazol que en nuestro trabajo es de 21 aislamientos.

Figura 1. Susceptibilidad de *S. pneumoniae* a los antimicrobianos por el método de Kirby-Bauer (n= 89)



Mortalidad por neumonía y meningitis

Durante el periodo de estudio fallecieron 1/64 (2%) pacientes con neumonía por *S. pneumoniae* y 4/28 (14%) pacientes con meningitis neumocócica. El riesgo de morir por meningitis entre los casos estudiados fue más alto que el de neumonía (OR=13,4; IC95%: 4,74-37,5; $p < 0,05$) y en relación al sexo las niñas tienen mayor riesgo con una relación 4:1 (F:M).

La edad de mayor riesgo de morir fue la de menores de 1 año (OR=5,38; IC95%: 1,47-23,3; $p < 0,05$). Los aislamientos de las muestras correspondieron a líquido cefalorraquídeo 4/5 (80%) y sangre 1/5 (20%) (Tabla 3).

Tabla 3 . Características demográficas de los obitos. enero 2002 - agosto 2007

Variables	Muertes	%
Enfermedad		
Neumonía	1	20
Meningitis	4	80
Sexo		
Masculino	1	20
Femenino	4	80
Edad		
< 6 meses	1	20
7 - 12 meses	3	60
Sin datos	1	20

Discusión

Este es un estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal de los últimos 6 años de pacientes internados en el servicio de pediatría del Instituto de Medicina Tropical con diagnóstico de meningitis, neumonía u otra enfermedad invasiva con aislamiento positivo para *Streptococcus pneumoniae*. Fueron aislados 78 cultivos positivos de *S. pneumoniae* en muestras de cultivos que deberían ser estériles.

El rápido incremento de la resistencia de *S. pneumoniae* a penicilina en numerosos países de América, África, Asia y Europa, excepto Alemania (14), donde el nivel de resistencia se mantiene bajo, ha complicado la elección del antibiótico para el tratamiento de enfermedades neumocócicas, especialmente en infecciones invasivas. Más alarmante resulta la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, tan utilizadas en meningitis bacterianas (15).

De los 69 aislamientos serotipificados, prevaleció el 14, siguiéndole en frecuencia, el 5 y el 1, similar a los datos de Uruguay (16). La distribución de los serotipos no presentó modificaciones durante los años en que duró el estudio. El 33% de las cepas resistentes correspondieron al serotipo 14, mostrando una significativa asociación con resistencia a penicilina en coincidencia con los estudios de otros centros del país y en coincidencia con datos de otros países como Brasil (17), sin embargo en México (18) y Colombia (19) la mayoría de las cepas resistentes correspondieron al serotipo 23F, que ha sido claramente asociado con resistencia a penicilina tanto como a múltiple resistencia.

La resistencia a penicilina y a cefalosporina de tercera generación se ha convertido en un serio problema terapéutico en nuestro país y en el mundo. Bradley JS, Kaplan S.L. y cols. (20) advierten, sin embargo, que el fracaso

terapéutico es menos probable en casos de neumonías que en aquellos de meningitis causadas por *S. pneumoniae* con igual grado de resistencia. En nuestro Hospital penicilina, amoxicilina o cefuroxima siguen siendo, con algunas excepciones, las drogas de elección en el tratamiento empírico de neumonías. Es de nuestro interés, continuar con la vigilancia epidemiológica del *S. pneumoniae*, especialmente de su resistencia, a fin de adecuar el tratamiento empírico de las infecciones invasivas producidas por este microorganismo y de los cambios en la distribución de serotipos para que las vacunas que se utilicen incluyan en su formulación los serotipos prevalentes en todo el país.

Sensibilidad a los betalactámicos

Durante muchos años, la penicilina ha sido el tratamiento de elección de las infecciones neumocócicas, debido a su excelente actividad bactericida y a las bajas concentraciones inhibitorias mínimas (CMI < 0,01 µg/ml) que presenta frente a la mayoría de las cepas (20).

Sin embargo, en 1967 se describe en Australia el primer neumococo con resistencia intermedia o moderada a la penicilina (CMI entre 0,1 y 1 µg/ml), aislado en un paciente con hipogammaglobulinemia. Posteriormente, en Nueva Guinea, se detectan cepas con este tipo de resistencia en pacientes y en un estudio de portadores. Diez años después, se describe en Sudáfrica un brote epidémico causado por cepas con resistencia elevada a la penicilina (CMI > 2 µg/ml) con una elevada mortalidad entre los pacientes con infecciones neumocócicas graves (6). Basándose en estos y otros datos posteriores, el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), considera sensibles a la penicilina las cepas con CMI 0,06 µg/ml, con resistencia intermedia o moderada aquellas cuyas CMI están comprendidas entre 0,12 y 1 µg/ml y como resistentes (resistencia elevada) las cepas con CMI > 2 µg/ml.

La prevalencia de cepas resistentes a la penicilina ha ido aumentando en todo el mundo, con una distribución irregular según los países, grupos de edad y localización de la infección. En este sentido, España es uno de los países con porcentajes de resistencia a la penicilina más altos (18). Las cepas aisladas en los niños presentan con mayor frecuencia resistencia a la penicilina que las cepas aisladas en los adultos. Lo mismo ocurre con las procedentes del tracto respiratorio superior en comparación con las que se aíslan en los hemocultivos. Los neumococos resistentes a la penicilina presentan, en mayor o menor grado, resistencia cruzada con todos los antibióticos betalactámicos. Sin embargo, la actividad in vitro varía de unos compuestos a otros.

En cuanto a las cefalosporinas parenterales de tercera generación, la situación varía en función de cada compuesto en particular. Así, la ceftazidima y la ceftizoxima, tienen escasa actividad, ya que se necesitan concentraciones entre 4 y 32 veces superiores a las de la penicilina para inhibir el crecimiento de estas cepas. Por el contrario, la cefotaxima y la ceftriaxona son más activas, pues sus respectivas CMI suelen ser 1-2 veces inferiores a las de la

penicilina. Las cefalosporinas de cuarta generación, como la cefpiroma y la cefepima, presentan una actividad similar a la cefotaxima o la ceftriaxona, mientras que los carbapenemes como el imipenem y el meropenem suelen tener CMI de 2 a 4 veces más bajas a las de la penicilina (4).

El mecanismo de resistencia a la penicilina y al resto de los antibióticos betalactámicos se debe Únicamente a alteraciones en las proteínas fijadoras de la penicilina (Penicillin Binding Proteins-PBP). Hasta el momento no se ha descrito ninguna cepa productora de betalactamasa. Dichas alteraciones condicionan una disminución de la afinidad de las PBP por la penicilina y demás betalactámicos y por lo tanto una menor actividad de estos antibióticos. Las principales PBP alteradas en los neumococos resistentes a la penicilina son la 1a, 2x y 2b.

Resistencia a las cefalosporinas de tercera generación

Un aspecto particular de la resistencia a los betalactámicos que ha cobrado interés recientemente es la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación. La cefotaxima y la ceftriaxona son dos compuestos de este grupo utilizados como alternativa a la penicilina en el tratamiento de las infecciones graves, especialmente en las meningitis causadas por cepas resistentes a este antibiótico. Estas dos cefalosporinas presentan diversas ventajas desde el punto de vista del tratamiento de las infecciones meníngeas (21).

En primer lugar, se consigue un adecuado índice terapéutico, al alcanzarse buenas concentraciones en el líquido cefalorraquídeo cuando existe inflamación meníngea (5-15 µg/ml para la cefotaxima y 3-7 µg/ml para la ceftriaxona). En segundo lugar, tienen pocos efectos secundarios cuando se administran a dosis elevadas, especialmente en el caso de la cefotaxima. Por Último, son Útiles como tratamiento empírico por su amplia cobertura frente a otros patógenos causantes de meningitis bacteriana (4).

Sin embargo, desde 1991, en nuestro país y en los EE.UU., han aparecido diferentes publicaciones en las que se describen fracasos terapéuticos con cefotaxima o ceftriaxona en casos de meningitis causados por cepas con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de tercera generación. Actualmente, el NCCLS considera sensibles a la cefotaxima o ceftriaxona las cepas con CMI < 0,5 µg/ml, con resistencia intermedia aquellas cuya CMI es de 1 µg/ml y como resistentes las que presentan una CMI > 2 µg/ml (12-13). En España, según datos del Centro Nacional de Microbiología de 1996, la frecuencia de las cepas resistentes a las cefalosporinas de tercera generación procedentes de infecciones invasivas fue del 20%, mayoritariamente con resistencia intermedia. Solo un 3,3% del total presentaba resistencia elevada (21).

Resistencia a otros grupos de antibióticos

Las cepas de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina presentan, con mayor frecuencia que las cepas sensibles, resistencia a otros grupos de antibióticos como la eritromicina, la tetraciclina, el cloranfenicol y el cotrimoxazol (22).

La eritromicina se ha utilizado como una alternativa terapéutica a la penicilina en los casos de alergia a este antibiótico. Desde 1979 hasta la actualidad se ha observado un aumento progresivo del porcentaje de cepas resistentes a la eritromicina, que ha pasado del 1% en 1979 a más de un 30% en 1998 (23). El principal mecanismo de resistencia a los macrólidos descrito en los neumococos se debe a la acción de las metilasas, enzimas que actúan sobre la subunidad 23S del ARN ribosomal, lo que conduce a una unión deficiente entre el antibiótico y la molécula diana. Este mecanismo confiere resistencia cruzada a todos los macrólidos (M), incluyendo los nuevos derivados con núcleos de 14, 15 y 16 Átomos, a las lincosamidas (L) y a las estreptograminas B (SB). Este fenotipo de resistencia, referido como MLSB, es el que se observa con mayor frecuencia en los aislamientos clínicos.

Recientemente, se ha descrito un nuevo fenotipo de resistencia, debido a alteraciones en los mecanismos de expulsión activa o bombeo del antibiótico. Este fenotipo, denominado M, se caracteriza por presentar resistencia a los compuestos de 14 y 15 Átomos (claritromicina, azitromicina, etc.) Y sensibilidad a los de 16 (josamicina), lincosamidas y estreptograminas. La prevalencia en nuestro medio de este fenotipo M es muy baja, inferior al 1% (11, 24).

La tetraciclina, cloranfenicol y cotrimoxazol, antibióticos actualmente poco utilizados en la práctica clínica, presentan porcentajes de resistencia del 35%, 23%, y 45%, respectivamente. Hasta el momento todas las cepas de *S. pneumoniae* continúan siendo sensibles a la vancomicina con CMI que oscilan entre 0,25 a 0,5 µg/ml. La frecuencia de cepas resistentes a la rifampicina es muy baja, con cifras inferiores al 1% (11).

Serotipos y resistencia

S. pneumoniae posee una cápsula externa compuesta por polisacáridos con capacidad antigénica. Clásicamente, la presencia de polisacárido capsular se ha relacionado con la virulencia de este microorganismo, de tal forma que las cepas capsuladas o lisas son virulentas para los humanos y los animales de experimentación, mientras que las cepas no capsuladas o rugosas no lo son. Dentro de las cepas capsuladas, ciertos serotipos, como el 1, 2, 3, 4, 7 y 8, parecen tener mayor capacidad virulenta que otros (25).

En función de las diferencias antigénicas del polisacárido capsular, pueden diferenciarse 84 serotipos distintos. El interés práctico de determinar el serotipo en las cepas de *S. pneumoniae* aisladas en las muestras clínicas radica en valorar la efectividad de la vacuna polivalente actual. Esta vacuna incluye

23 polisacáridos capsulares diferentes y cubre más del 80% de las infecciones neumocócicas invasivas. Está indicado administrarla a los adultos sanos de más de 65 años y a las personas de 2 a 64 años con condiciones debilitantes o enfermedades de base como la asplenia anatómica o funcional, alcoholismo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardiaca, cirrosis, linfoma, mieloma, síndrome nefrótico, fistula de LCR, y a los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana.

En los niños, los más frecuentes fueron el 14, 5 y 1 en los aislamientos procedentes de enfermedad invasiva (bacteriemia, meningitis, etc.) (16). Un aspecto importante, por sus consecuencias prácticas, es la asociación entre serotipo y resistencia a los antibióticos. Se sabe que ciertos serotipos presentan con mayor frecuencia que otros, resistencia a la penicilina y a otros antibióticos no betalactámicos. En este sentido, los serotipos más frecuentes en las cepas con resistencia a la penicilina son el 6, 9, 14, 15, 19 y 23. Además, estos mismos serotipos son los que encontramos con mayor frecuencia entre las cepas multirresistentes (resistencia a dos o más antibióticos, incluyendo la penicilina, tetraciclina, cloranfenicol y eritromicina). Merece la pena señalar que todos estos serotipos están incluidos en la vacuna polivalente, por lo que, actualmente, el empleo de dicha vacuna tiene un importante papel, no sólo en la prevención de la enfermedad neumocócica en los pacientes con enfermedades de base, sino también en el futuro control de las infecciones causadas por cepas resistentes a la penicilina y a otros antibióticos (26). Implicaciones terapéuticas de la resistencia a los antibióticos en las infecciones neumocócicas.

El creciente aumento de las cepas de *S. pneumoniae* resistentes a la penicilina, cefalosporinas de tercera generación y otros grupos de antibióticos ha condicionado un cambio en la actitud terapéutica de las infecciones neumocócicas, sobre todo de las infecciones graves. Es importante diferenciar el concepto microbiológico de resistencia a la penicilina y a otros betalactámicos de la respuesta clínica, que está condicionada por la localización de la infección y por los niveles de antibiótico allí alcanzados. Por ejemplo, hay que distinguir claramente la infección meningea de la extra-menígea, ya que la concentración de penicilina alcanzada en el LCR, tras administrar dosis elevadas por vía endovenosa, se sitúa en torno a 1 µg/ml, lo que conduce al fracaso terapéutico en las meningitis causadas por cepas con resistencia intermedia o elevada. Sin embargo, en el suero o en el tejido pulmonar, los niveles de penicilina superan ampliamente las CMI de las cepas resistentes.

En un reciente estudio se demuestra que la mortalidad en los pacientes con neumonía neumocócica tratados con penicilina o cefalosporinas de tercera generación fue similar, con independencia de que la cepa causante fuese sensible o resistente a la penicilina (27).

Actualmente la penicilina G continúa siendo el tratamiento más adecuado en las infecciones extra-meníngeas causadas por cepas con CMI <2 µg/ml. En la

práctica clínica, los pacientes con neumonía leve o moderadamente grave pueden ser tratados de forma ambulatoria con 1.200.000 UI de penicilina procaína cada 12 h por vía intramuscular, o con amoxicilina oral a dosis de 1 g/8 h. En caso de alergia a los betalactámicos, el antibiótico indicado es la eritromicina oral, a dosis de 500 mg/6 h. En los pacientes con neumonía grave que requieren hospitalización es preferible utilizar la penicilina G a dosis altas por vía endovenosa. Sin embargo, puesto que el tratamiento inicial de la neumonía en los pacientes graves o con enfermedad de base será con frecuencia empírica, en tanto no se conozca la etiología, es prudente utilizar una cefalosporina de tercera generación como la cefotaxima o la ceftriaxona. Estos mismos antibióticos serían aconsejables cuando se demostrase que la cepa de neumococo causante de la neumonía tuviera una CMI de penicilina >2 $\mu\text{g/ml}$ (20).

La meningitis neumocócica, por sus características fisiopatológicas y por su alta morbilidad y mortalidad, constituye el prototipo de infección neumocócica grave en la cual la elección de un adecuado tratamiento empírico es crucial. Por las razones antes apuntadas, la penicilina G, incluso a dosis altas, no debe ser utilizada actualmente en el tratamiento empírico inicial de los pacientes con esta infección. Lo recomendado, es administrar cefotaxima a dosis elevadas (300 mg/kg/día), ante la posibilidad de que la cepa causante de la infección meníngea presente resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (CMI $>0,5$ $\mu\text{g/ml}$).

Detección de la resistencia a los antibióticos en el laboratorio

Los métodos y antibióticos actualmente recomendados en el estudio de la sensibilidad antibiótica en cepas de *S. pneumoniae* están perfectamente descritos y analizados en el documento M100-S9 publicado en 1999 por el NCCLS (12).

En la actualidad, y ante la alta prevalencia de las cepas de neumococo con resistencia a los antibióticos, es obligatorio realizar estudios de sensibilidad de forma sistemática, especialmente en los aislamientos de hemocultivo, muestras de LCR y demás líquidos estériles. El NCCLS recomienda, además, utilizar en estos casos un método cuantitativo de microdilución para determinar la CMI exacta, sobre todo de los antibióticos betalactámicos y de otros grupos que puedan ser alternativas terapéuticas en las infecciones graves. Los aspectos metodológicos y técnicos están perfectamente descritos en los documentos M2-A6, M7-A4 y M100-S9 del NCCLS (13). Como método alternativo de fácil realización se puede emplear el método cuantitativo de difusión en agar utilizando tiras de E-test. La correlación entre las CMI obtenidas mediante el E-test y el método de microdilución es buena aunque, en ocasiones, el valor de la CMI determinado por el E-test® puede ser una dilución menor respecto al obtenido por la técnica de microdilución. En las demás muestras no invasivas, como los exudados óticos o esputos, es aconsejable realizar también estudios de sensibilidad antibiótica. Sin embargo,

en estos casos, puede utilizarse un método de disco-placa como prueba de cribado para detectar las cepas resistentes a la penicilina (6).

Un aspecto de gran importancia en la determinación de la sensibilidad a la penicilina por el método de difusión con discos es la ausencia de correlación entre los halos de inhibición del disco de penicilina y la CMI correspondiente. Así, algunas cepas con resistencia intermedia a ese antibiótico pueden mostrar halos relativamente grandes, por lo que no existen criterios firmes de interpretación. De forma alternativa, el NCCLS aconseja emplear discos de oxacilina de 1 µg como procedimiento de cribado para detectar las cepas resistentes a la penicilina. Los halos de inhibición inferiores a 19 mm con el disco de oxacilina se correlacionan bien con la resistencia a la penicilina, aunque no discriminan entre las cepas con sensibilidad intermedia y las cepas con resistencia elevada.

Cuando fuese necesaria esta distinción, el NCCLS recomienda utilizar un método cuantitativo para determinar la CMI exacta a la penicilina (13). Los métodos de difusión tampoco resultan satisfactorios para la detección de la resistencia a la cefotaxima o la ceftriaxona. Al igual que en el caso de la penicilina, se han buscado soluciones alternativas utilizando discos de cefuroxima o ceftizoxima. Sin embargo los resultados obtenidos no son concluyentes. No se dispone por el momento de un buen método de cribado y habrá que determinar directamente la CMI de la cefotaxima o de la ceftriaxona cuando sea aconsejable por razones clínicas.

Una atención especial merece el estudio de la sensibilidad antibiótica en las muestras de LCR procedentes de pacientes con meningitis. Gracias al desarrollo en los últimos años del método de difusión E-test puede determinarse la CMI de la penicilina, cefotaxima, ceftriaxona y de otros antibióticos alternativos, como la vancomicina y la rifampicina, de forma rápida utilizando como inóculo la propia muestra de LCR. Aunque este procedimiento no está estandarizado, es recomendable utilizarlo cuando en la tinción de Gram del LCR se observe la presencia de diplococos Grampositivos. La lectura de las CMI se realiza tras 18-20 h de incubación, adelantado así el informe de sensibilidad 24 h. Por supuesto, debe repetirse el estudio de sensibilidad a partir del cultivo bacteriano convencional con un inóculo estandarizado para confirmar los resultados obtenidos mediante este procedimiento.

Conclusiones

Con relación a la resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina se observó que fue del 21%. En enfermedad invasora, se reportó una resistencia elevada de 23,7%. Los serotipos 14, 5 y 1 fueron los que mostraron resistencia elevada en mayor porcentaje. Con este conocimiento las estrategias de manejo empírico para infecciones invasoras por *S. pneumoniae* en nuestro país se han cambiado.

En cuanto a formas invasoras los datos que encontramos son muy similares a los reportados en la literatura internacional con predominio en el serotipo 14.

Referencias

1. Mulholland K. Magnitude of the problem of childhood pneumonia. *Lancet* 1999;354:590-592.
2. Dagan R, Fraser D, Greif Z, Séller N, Kaufstein M, Shazberg G et al. A nationwide prospective surveillance study in Israel to document pediatric invasive infections, with emphasis on *Haemophilus influenzae* type b infections. Israeli Pediatric Bacteremia and Meningitis Group. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17 (Suppl):S198-S203.
3. Miranda NMG, Solórzano SF, Velázquez AR, Leaños MB, Villasis KMA, Guiscafré GH. Características de los aislamientos de *Haemophilus influenzae* de portadores asintomáticos en edad pediátrica y su relación con resistencia a antimicrobianos. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1995;52:148-153.
4. Echániz AG, Velázquez MM, Carnalla BMN, Soto NA, Solórzano SF, Pérez MA et al. Antimicrobial susceptibilities and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated in children in Mexico City. *Microb Drug Resist* 1997;3:153-157)
5. Echániz AG, Velázquez MM, Carnalla BMN, Soto NA, Solórzano SF, Pérez MA et al. Antimicrobial susceptibilities and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated in children in Mexico City. *Microb Drug Resist* 1997;3:153-157.
6. Kertesz DA, DiFabio JL, Cunto BMC, Castañeda E, Echániz-Avilés G, Heitmann I et al. PAHO Pneumococcal Surveillance Study Group. Invasive *Streptococcus pneumoniae* infection in Latin American children: Results of the Pan American Health Organization Surveillance Study. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1355-1361.
7. Gray BM, Converse GM, Dillon HC. Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: Acquisition, carriage, and infection during the first 24 first months of life. *J Infect Dis* 1980; 142:923-933.
8. Faden H, Duffy L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D, Tung Y. Relation between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *J Infect Dis* 1997;175:1440-1445.
9. Leiberman A, Dagan R, Leibovitz E, Yagupsky P, Fliss DM. The bacteriology of the nasopharynx in childhood. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999;49(Suppl 1):S151- S153).
10. Raymond J, Le Thomas I, Moulin F, Commeau A, Gendrel D, Merche P. Sequential Colonization by *Streptococcus pneumoniae* of Healthy Children Living in an Orphanage *Journ Infect Dis* 2000;181:1983-1988.
11. Tubau F, Liares J, Matín R. Resistencia antibiotica en *Streptococcus pneumoniae* *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14:1-6.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically: Approved Standard. 5th ed. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000; NCCLS document M7-A5.

13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixth informational supplement. Villanova, Pennsylvania: NCCLS; 2003 (NCCLS document M100-S6).
14. Reinert, R., Queck, A., and Kaufhold, M. Antimicrobial resistance and type distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Germany, 1992-1994. Clin. Infect Dis 1995;21:1398-401
15. Mayoral, C. Rossi, A. Regueira, M. Corso, A. Pacce, J. Beltramino, J. C. Bulletich, A. Resistencia Antimicrobiana y Distribucion de Serotipos de *Streptococcus pneumoniae*. Aislados de Infecciones Invasivas en el Hospital de Niños de Santa Fe. Argentina 2007.
16. Hortal, M., Alcorta, G., Bianchi, I. Capsular type distribution and susceptibility to antibiotics of *Streptococcus pneumoniae* clinical strains isolated from uruguayan children with systemic infections. Microbial Drug Resistance. 1997;3:159-163.
17. Cunto Brandileone, M.C.; Diaz Vieira, V.S., Tadeu Casagrande, S. Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from brazilian children with invasive infections Microbial Drug Resistance.1997;3:141-146.
18. Echaniz-Aviles, G., Velazquez-Mesa, M.E., Carnalla-Barajas, M.N. Antimicrobial susceptibilities and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated in children in Mexico City. Microbial Drug Resistance. 1997;3:153-157.
19. Castañeda, E., Leal, A.L., Castillo, O. Distribution of capsular types and antimicrobial susceptibility of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in colombian children. Microbial Drug Resistance. 1997;3:147-152
20. Bradley, J.S., Kaplan, S.L., Klugman, K.P. Consensus:Management of infections in children caused by *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibility to penicillin. The Pediatrics Infectious Diseases Journal. 1995;14(12):1037-1041.
21. Fernández-Viladrich P, Cabellos C, Pallarés R, Tubau F, Martínez-Lacasa J, Liñares J, Gudiol F. High dose of cefotaxime in the treatment of adult meningitis due to *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibility to third-generation cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 1996; 40: 218-220.
22. Liñares J, Pallarés R, Alonso T, Pérez JL, Ayats J, Gudiol F, Fernández-Viladrich P, Martín R. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1979-1990). Clin Infect Dis. 1992; 15: 99-105.
23. Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Pérez D, Casal J. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antibiotic resistance in Spain: Update (1990 to 1996). J Clin Microbiol. 1998; 36: 3447-3454.
24. Arason VA, Kristinsson KG, Sigurdsson JA, Stefandottir G, Moldstad G, Gudmundsson S. Do antimicrobials increase the carriage rate of penicillin-resistant pneumococci in children? Cross sectional prevalence study. BMJ 1996; 313:387-391.

25. Dámaso, D., Moreno-López, M., Daza, RM. Betalactaminas I. Penicilinas. En: Dámaso, D., Moreno-López, M., Daza, RM. (Ed.). Antibióticos y quimioterápicos antibacterianos. Uso clínico. Grutesa, Madrid 1984; 119-168
26. Osona, B., Casado, J., Menéndez-Rivas, M., Mora, E. Infección meningocócica: Cambios en los serogrupos y en la sensibilidad a penicilina. *An Esp Pediatr* 1997; 46: 233-236.
27. Liu, CH., Tomasz, A. Penicillin tolerance in multiply drug-resistant natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 1985; 152:365-372.
-

Solicitud de Sobretiros:

Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa
Investigación y Docencia
Instituto de Medicina Tropical
Asunción, Paraguay
antonio.arbo@imt.edu.py