

RESISTENCIA ANTIBIOTICA EN *Streptococcus pneumoniae*

Fe Tubau, Josefina Liñares, Rogelio Martín

Servicio de Microbiología, C.S.U. de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Streptococcus pneumoniae es un comensal común del tracto respiratorio superior humano, aislándose en un 5-70% de la población adulta sana. El estado de portador sano varía con la edad, ambiente y época del año. Este porcentaje es mucho más alto durante los meses de invierno, en los niños (30-35%) que en los adultos (18-19%) y en comunidades cerradas (50-60%) que en la población general urbana (27%).

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, mastoiditis, sinusitis o endocarditis. Otras localizaciones de la enfermedad neumocócica son el empiema, la endocarditis, la artritis y la peritonitis espontánea.

Actualmente, los cuadros clínicos más frecuentes son la neumonía, la meningitis y la otitis media aguda. *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.

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 \leq 0,01 $\mu\text{g/ml}$) que presenta frente a la mayoría de las cepas. 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 $\mu\text{g/ml}$), 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 \geq 2 $\mu\text{g/ml}$) con una elevada mortalidad entre los pacientes con infecciones neumocócicas graves. Basándose en estos y otros datos posteriores, el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), considera sensibles a la penicilina las cepas con CMI \leq 0,06 $\mu\text{g/ml}$, con resistencia intermedia o moderada aquellas cuyas CMI están comprendidas entre 0,12 y 1 $\mu\text{g/ml}$ y como resistentes (resistencia elevada) las cepas con CMI \geq 2 $\mu\text{g/ml}$.

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. 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. Según los datos de 1996, procedentes del Laboratorio de Referencia de Neumococos del Centro Nacional de Microbiología, la frecuencia de la resistencia a la penicilina en las cepas aisladas en infecciones invasivas fue del 42 %, de las que un tercio aproximadamente correspondían a cepas con resistencia elevada, y el resto a cepas con resistencia intermedia.

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. Las aminopenicilinas, como la amoxicilina y la ampicilina, y la cefuroxima-axetilo, una cefalosporina oral de segunda generación, presentan una actividad similar o ligeramente inferior a la de la penicilina. La menor actividad corresponde a las cefalosporinas de primera generación, como la cefalotina, y a las cefalosporinas orales de segunda y tercera generación (cefactor, cefadroxilo, cefprozilo, cefixima, etc.). 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.

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. 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.

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 $\leq 0,5$ µg/ml, con resistencia intermedia aquellas cuya CMI es de 1 µg/ml y como resistentes las que presentan una CMI ≥ 2 µg/ml.

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. Sólo un 3,3% del total presentaba resistencia elevada.

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.

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. 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 (S_B). Este fenotipo de resistencia, referido como MLS_B , 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%.

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 $\mu\text{g/ml}$. La frecuencia de cepas resistentes a la rifampicina es muy baja, con cifras inferiores al 1%.

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.

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. pneumonaie* 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 cardíaca, cirrosis, linfoma, mieloma, síndrome nefrótico, fístula de LCR, y a los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana.

En un reciente trabajo español del Centro Nacional de Microbiología que estudia un total de 9.243 cepas de *S. pneumoniae* recogidas entre 1979 y 1996, los seis serotipos más frecuentes fueron el 19, 6, 23, 3, 14 y 9. Cabe señalar las diferencias encontradas en este estudio, en cuanto al orden de frecuencia, según la población analizada y el tipo de muestra clínica. En los niños, los más frecuentes fueron el 6, 14, 19 y 23, mientras que en la población adulta fueron el 3, 23, 6 y 19. En los aislamientos procedentes de enfermedad invasiva (bacteriemia, meningitis, etc.) de pacientes adultos, los tipos 3, 9, 14, 8, 4, 19, 6 y 23 fueron los más comunes, mientras que en los niños fueron el 19, 6, 14, 18 y 23.

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 multiresistentes (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.

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 meníngea de la extrameníngea, 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.

Actualmente la penicilina G continúa siendo el tratamiento más adecuado en las infecciones extrameníngeas 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 empírico, 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 $>2 \mu\text{g/ml}$.

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 $>0,5 \mu\text{g/ml}$). Hay que vigilar estrechamente al paciente y añadir vancomicina o rifampicina a la pauta inicial si la evolución clínica no es satisfactoria o si se comprueba que el neumococo tiene una CMI de cefotaxima $\geq 2 \mu\text{g/ml}$.

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 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

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. 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.

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 $1 \mu\text{g}$ 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.

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 gram-positivos. 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.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Fernández-Viladrich P, Gudiol F, Liñares J, Rufí G, Ariza J, Pallarés R. Characteristics and antibiotic therapy of adult meningitis due to penicillin-resistant pneumococci. *Am J Med*. 1988; 84: 939-946.
- 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.
- Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover JC. Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance by use of the E Test. *J Clin Microbiol*. 1994; 32: 159-163.
- 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.
- Liñares J, Tubau F. Meningitis neumocócica y cefalosporinas de tercera generación. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14:1-6.
- Pallarés R, Liñares J, Vadillo M, Cabellos C, Manresa F, Fernández-Viladrich P, Martín R, Gudiol F. Resistance to penicillin and cephalosporin and mortality from severe pneumococcal pneumoniae in Barcelona, Spain. *N Engl J Med*. 1995; 333: 474-480.
- Anónimo. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Document M100-S9. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne 1999.