

ORIGINALES

Streptococcus pyogenes: susceptibilidad *in vitro* y papel de las bacterias productoras de betalactamasa en la persistencia de la faringoamigdalitis estreptocócica

A. González Pedraza Avilés y M.C. Ortiz Zaragoza

Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana. Facultad de Medicina. UNAM. México.

Objetivo. Determinar la frecuencia de asociación entre *Streptococcus pyogenes* y bacterias productoras de betalactamasa en la faringoamigdalitis y evaluar su sensibilidad antimicrobiana *in vitro*.
Diseño. Estudio prospectivo, descriptivo y transversal.

Emplazamiento. El estudio se realizó en el Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana, en Tlalpan, México, D.F., de enero de 1996 a febrero de 1999.

Pacientes. A 394 pacientes con diagnóstico de faringoamigdalitis se les aisló igual número de *Streptococcus pyogenes*, así como posibles bacterias productoras de betalactamasa.

Resultados. En 180 pacientes (45,7%), se aisló cuando menos una bacteria posible productora de betalactamasa. De éstos, en 138 pacientes (35% del total) se confirmó la presencia de al menos una bacteria productora de la enzima. En total se aislaron 218 bacterias reconocidas como productoras, y de éstas 152 (69,7%) resultaron betalactamasa positivas. No se encontraron cepas resistentes a antibióticos betalactámicos, mientras que un 9,6% fue resistente a eritromicina y el 45% a trimetoprim-sulfametoxazol.

Conclusiones. Más de la tercera parte de los pacientes presentaron al menos una bacteria productora de betalactamasa. *Streptococcus pyogenes* continúa siendo 100% sensible *in vitro* a las penicilinas. El uso de la eritromicina no debe ser promovido como primera alternativa de terapia debido al notable incremento de cepas resistentes, lo que podría llegar a provocar dificultades en el tratamiento de pacientes alérgicos. Debido a su pobre actividad *in vitro*, el trimetoprim-sulfametoxazol no debe considerarse antibiótico de elección.

Palabras clave: Betalactamasas; Fallos tratamientos; Faringoamigdalitis; Penicilina; *Streptococcus pyogenes*.

STREPTOCOCCUS PYOGENES: IN VITRO SUSCEPTIBILITY AND THE ROLE OF BETA-LACTAMASE PRODUCING BACTERIA IN THE PERSISTENCE OF STREPTOCOCCAL PHARYNGOAMYGDALITIS

Objective. To assess the frequency of association between *Streptococcus pyogenes* and beta-lactamase-producing-bacteria in the pharyngotonsillitis and the evaluate the *in vitro* susceptibility.

Design. Prospective, descriptive, transverse study.

Setting. The present study was carried out in the Health Center Dr. José Castro Villagrana, in Tlalpan, México, D.F., from January, 1996 to February 1999.

Participants. In three hundred and ninety four patients with pharyngotonsillitis diagnosis we isolated the same number of *Streptococcus pyogenes*, and possible beta-lactamase-producing-bacteria.

Results. In 180 patients (45.7%) we isolated at least one possible beta-lactamase-producing-bacteria. Of these, in 138 patients (35%) were confirmed the enzyme presence. In total, we isolated 218 possible beta-lactamase-producing bacteria, and 152 (69.7%) were beta-lactamase positive. We found no significant change in the *in vitro* susceptibility of group A *Streptococcus* to penicillin, but erythromycin resistance is relatively common, approximately 10% in this study.

Conclusions. *Streptococcus pyogenes* was uniformly susceptible to all penicillins and cephalosporins *in vitro*. Erythromycin treatment should not be promoted as first-line therapy because the consequent increase of bacterial resistance could create difficulty in treating penicillin-allergic patients. Because of the poor activity of trimetoprim-sulfametoxazol, this drug no longer can be considered the drug of choice for the management of group A Streptococcal infections.

(Aten Primaria 2000; 25: 542-545)

Este trabajo se ha realizado con el apoyo económico del Departamento de Medicina Familiar de la UNAM.

Correspondencia: Biólogo Alberto González Pedraza Avilés.
Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana, SSA/UNAM.
Carrasco y Coapa, s/n., Col. Tofiello Guerra,
C.P. 14050, Tlalpan, México, D.F.
Correo electrónico: miguelaf@servidor.unam.mx

Manuscrito aceptado para su publicación el 22-XI-1999.

Introducción

La faringoamigdalitis es uno de los procesos infecciosos más comunes en niños y adultos jóvenes, siendo *Streptococcus pyogenes* (estreptococo grupo A) (SGA) el agente etiológico en un 30-50% de los casos¹. La penicilina sigue siendo el antibiótico de elección para su tratamiento; sin embargo, los informes de fallos que se citan en la bibliografía varían en el 10-25%, incrementándose esto si el tratamiento se reduce de 10 a 7 días². Como consecuencia, al SGA se le asocia también con procesos como impétigo, sinusitis, otitis media, meningitis, erisipelas, celulitis, fascitis necrotizante, miositis, neumonía, artritis séptica, síndrome de shock tóxico y septicemia^{3,4}. Debido a que no se han señalado cepas resistentes a la penicilina, se han presentado varias teorías para explicar dichos fallos. Entre ellos, se ha sugerido que la presencia de bacterias productoras de betalactamasa pudiera actuar como protector al inactivar el fármaco, especialmente después de algunos días de tratamiento^{5,6}. Esto fue planteado por primera vez por Sukai et al en 1968⁷, y desde entonces hasta el presente se han realizado una serie de trabajos tanto *in vitro* como *in vivo* que apoyan dicha teoría^{8,9}. Todo lo anterior cobra mayor relevancia debido que a partir de la segunda mitad de 1980 la incidencia de casos de fiebre reumática y de infecciones invasivas por SGA se ha incrementado con un número importante de defunciones^{10,11}.

El objetivo del estudio fue: a) determinar la frecuencia en la asociación de bacterias productoras de betalactamasa con el SGA en casos de faringoamigdalitis; b) evaluar la sensibilidad

TABLA 1. Distribución por sexo y edad de 394 pacientes a los que se les aisló *Streptococcus pyogenes*

Femenino				Masculino			
Edad	N.º	%	% Acumulado	Edad	N.º	%	% Acumulado
0-9	66	32,4		0-9	102	53,6	
10-19	52	25,5	57,9	10-19	56	29,5	83,1
20-29	48	23,5	81,4	20-29	14	7,4	90,5
30-39	10	4,9	86,3	30-39	10	5,3	95,8
40-49	22	10,8	97,1	40-49	0	0	95,8
50-59	4	1,9	99	50-59	8	4,2	100
60 o más	2	0,9	99,9	60 o más	0	0	100

TABLA 2. Microorganismos productores de betalactamasa presentes en 394 pacientes a los que se les aisló *Streptococcus pyogenes*

Microorganismos	N.º total aislado	Betalactamasa positiva N.º	%	% del total
<i>S. epidermidis</i>	60	48	80	31,5
<i>S. aureus</i>	100	82	82	53,9
<i>H. influenzae</i>	8	0	0	0
<i>B. catarrhalis</i>	32	12	37	7,9
<i>Neisseria</i> spp.	10	2	20	1,3
<i>K. pneumoniae</i>	2	2	100	1,3
<i>E. coli</i>	6	6	100	3,9

in vitro de 6 agentes antimicrobianos comúnmente usados contra SGA, y c) evaluar la efectividad de los antibióticos contra bacterias productoras de betalactamasa asociadas a SGA.

Material y métodos

Población

Se aislaron 394 *Streptococcus pyogenes* del mismo número de pacientes que acudieron a consulta por infección de las vías respiratorias altas al Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana, en Tlalpan, México, D.F., en el período comprendido entre enero de 1996 y febrero 1999. Todos los pacientes se presentaron al laboratorio para toma de muestra con diagnóstico de faringoamigdalitis diagnosticada por el médico familiar sin tratamientos previos al menos 15 días antes de la toma. Las muestras fueron inoculadas directamente en base de agar sangre (Merck) con 5% de sangre de borrego (Microlab), 8 µg/ml de gentamicina (Grossman Lab) y 15 µg/ml de ácido nalidíxico (Sanofi Winthrop) e incubadas a 37 °C durante 48 horas en tensión de CO₂ al 5%.

Identificación

Las cepas fueron identificadas mediante características microscópicas (tinción de Gram) y macroscópicas (morfología colo-

nial) según técnicas descritas internacionalmente¹².

Una vez determinado el tipo de hemólisis, se realizaron 3 pruebas de diagnóstico presuntivo: prueba de bacitracina (0,04 UI Bigaux), prueba de CAMP y prueba de hidrólisis del hipurato¹². La identificación definitiva se realizó mediante el método de aglutinación por látex (Patho DX).

Betalactamasa

La prueba se realizó por el método estandarizado con discos cefinase (BBL).

Prueba de sensibilidad a antimicrobianos

Se utilizó la técnica de difusión en agar de Mueller Hinton con discos, suplementado con sangre de carnero al 5% (Microlab). Todos los discos para la prueba de sensibilidad fueron donados por Bigaux Diagnóstica y correspondieron a los siguientes antibióticos con su respectiva concentración: ampicilina (10 µg), cefotaxima (30 µg), dicloxacilina (30 µg), eritromicina (15 µg), penicilina (10 U) y trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg). Se utilizaron como control las cepas *E. coli* ATCC 25922; *S. pyogenes* ATCC 10389 y *S. aureus* ATCC 25923. La interpretación de resultados fue de acuerdo a criterios establecidos¹².

La identificación de los otros microorganismos se llevó a cabo de acuerdo a técnicas internacionales establecidas¹².

Resultados

De los pacientes

La distribución por sexo y edad de los 394 pacientes a los que se les aisló SGA se muestra en la tabla 1. Más del 80% de los pacientes en ambos grupos fue menor de 29 años.

De las bacterias posibles productoras de la enzima

Respecto a la frecuencia de asociación de bacterias posibles productoras de betalactamasa (según bibliografía) con SGA, en 214 pacientes (54,3%), no se encontró ninguna bacteria capaz de producir la enzima, mientras que en 180 pacientes (45,7%) se detectó cuando menos una posible bacteria productora de betalactamasa.

De las bacterias productoras de la enzima

En 138 pacientes (35%) se confirmó la presencia de al menos una bacteria productora de betalactamasa. En total se aislaron 218 bacterias reconocidas como productoras de la enzima (en 38 pacientes hubo más de una) y de éstas, 152 (69,7%) resultaron positivas (tabla 2).

Staphylococcus aureus y *Staphylococcus epidermidis* fueron las especies más frecuentes, representando el 85% del total de cepas productoras de betalactamasa asociadas a SGA. De los 38 pacientes a los que se les aisló 2 tipos diferentes de bacterias reconocidas como productoras, en un 100% de los casos al menos una fue productora de la enzima (tabla 3).

Respecto a la sensibilidad antimicrobiana (tabla 4), no se encontró ninguna cepa resistente de SGA a peni-

TABLA 3. Asociaciones por paciente de microorganismos posiblemente productores de betalactamasa

Asociación					
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+) ^a	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(+)	9	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	(-) ^b	2	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	(+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(+)	4	
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(-)	2	
<i>Haemophilus influenzae</i>	(-)	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	3	
<i>Haemophilus influenzae</i>	(-)	<i>Branhamella catarrhalis</i>	(+)	2	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	4	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(+)	<i>Neisseria</i> spp.	(+)	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	<i>Escherichia coli</i>	(+)	2	
<i>Haemophilus influenzae</i>	(-)	<i>Escherichia coli</i>	(+)	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	<i>Neisseria</i> spp.	(-)	2	
<i>Branhamella catarrhalis</i>	(-)	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	4	

^aBetalactamasa positiva.
^bBetalactamasa negativa.

cilina, ampicilina y cefotaxima. Sin embargo, un 9,6% de las cepas fue resistente a eritromicina, el 42% a dicloxacilina y un 45% a trimetoprim-sulfametoxazol.

Respecto a las cepas productoras de betalactamasa, como era de esperar, el 100% resultó resistente a penicilina y ampicilina. Para eritromicina, las 2 especies de *Staphylococcus* tuvieron resistencias similares; 33,3% *S. epidermidis* y 34,1% *S. aureus*. El 80% de las cepas de *Branhamella catarrhalis* fue resistente al mismo antibiótico y el 100% de las enterobacterias también.

No se encontró ninguna resistencia a cefotaxima y las resistencias a trimetoprim-sulfametoxazol variaron del 0% para *Neisseria* spp. al 100% para enterobacterias.

Discusión

Los fallos en los tratamientos contra la principal bacteria asociada a la faringoamigdalitis (SGA), causa número uno de consulta en el primer nivel de atención médica, plantea un problema serio tanto para el médico familiar como el general, sobre todo al considerar las secuelas producidas

por el SGA. Por ello, encontrar las posibles causas en dichos fallos se ha vuelto de capital importancia. En este estudio a un 35% del total de los pacientes se les aisló por lo menos una bacteria productora de betalactamasa, cifra por debajo del 73% señalado por Tuner et al¹³ y del 45% de Bernstein et al¹⁴. *Staphylococcus aureus* fue la especie más frecuente, siendo el 82% de sus aislamientos productores de betalactamasa, dato también por debajo del 90% indicado por Tuner et al¹³ y el 100% de Brook⁵. Caso similar a *Staphylococcus epidermidis* con 80% de cepas productoras de betalactamasa en este estudio y el mismo 100% señalado por Brook⁵. Respecto a *Branhamella catarrhalis*, un 37,5% de las cepas fueron productoras de la enzima, frente al 20% indicado por Kamme¹⁵ y el 35% de Kallings¹⁶. Para *Haemophilus influenzae* ninguna de las cepas fue betalactamasa positiva; la bibliografía señala datos que oscilan en el 2-20%^{13,16}. Las diferencias en los porcentajes de bacterias productoras podrían venir dadas por la frecuencia en el uso de los antibióticos en cada una de las poblaciones estudiadas. Al igual que todos los indicadores en la bibliografía, no se encontró ninguna cepa resistente a penicilina. Dato confirmado con estudios recientes como el de Baquero et al¹⁷ y Lopardo et al¹⁸. Respecto a eritromicina, cada vez es mayor tanto el número de informes como el de por-

TABLA 4. Sensibilidad de *Streptococcus pyogenes* y de las bacterias productoras de beta-lactamasa contra 6 antimicrobianos de uso común por la técnica de difusión con disco de Bauer-Kirby

Microorganismo	Ampicilina N. ^o (%) ^a	Cefotaxima N. ^o (%)	Dicloxacilina N. ^o (%)	Eritromicina N. ^o (%)	Penicilina N. ^o (%)	Trimetoprim-sulfametozol N. ^o (%)
<i>S. pyogenes</i> n = 394	0 (0)	0 (0)	168 (42)	38 (9,6)	0 (0)	178 (45)
<i>S. aureus</i> n = 82	82 (100)	0 (0)	12 (14)	28 (34)	82 (100)	6 (7)
<i>S. epidermidis</i> n = 48	48 (100)	0 (0)	4 (8)	16 (33)	48 (100)	12 (25)
<i>B. catarrhalis</i> n = 10	10 (100)	0 (0)	8 (80)	8 (80)	10 (100)	6 (60)
<i>Neisseria</i> spp. n = 2	2 (100)	0 (0)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0 (0)
<i>K. pneumoniae</i> n = 2	2 (100)	0 (0)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
<i>E. coli</i> n = 6	6 (100)	0 (0)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)

^aNúmero de cepas resistentes.
^bPorcentajes de cepas resistentes.

centajes de cepas resistentes en todo el mundo¹⁹, con datos tan dispares que van del 1% indicado por Henning²⁰ y Lopardo¹⁸ al 17% de Limia²¹, 19% de Gene²², 27% de Baquero¹⁷ y hasta el 57,7% de Hsueh²³. En este estudio se obtuvo un 9,6% de cepas resistentes; estas diferencias muy probablemente también vengan dadas por el uso del antibiótico en las comunidades. Lo anterior plantea la duda de considerar a la eritromicina como alternativa de primera elección en el tratamiento contra SGA, sobre todo ya que podría llegar a dificultar el tratamiento de pacientes alérgicos.

Debido a su efectividad en ciertas infecciones la combinación trimetoprim-sulfametoxazol se ha venido utilizando cada vez con mayor frecuencia, incluso en padecimientos como la faringoamigdalitis; sin embargo, un 45% de cepas resistentes a SGA *in vitro* obtenido en este trabajo cuestiona su uso. Por último, si se considera que un 20-30% de los tratamientos con penicilina contra SGA no serán efectivos⁶, y se acepta la teoría de que las bacterias asociadas capaces de producir betalactamasa e inactivar el antibiótico son las causantes de lo anterior, las frecuencias encontradas en este estudio apoyan lo aquí expuesto, y si se detecta que un número importante de pacientes tendrán al menos una bacteria productora de betalactamasa, consideramos que el laboratorio debe llevar a cabo una búsqueda intencionada de dichas bacterias, determinar la presencia de la enzima y hacer un informe completo al médico para valorar el tratamiento.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a la Dra. Silvia Landgrave por su apoyo bibliográfico y a C. Lilia Castellanos por la elaboración del manuscrito.

Bibliografía

1. Orrling A, Stjernquist-Desatnik A, Schalen C, Kamme C. Treatment failure in streptococcal pharyngotonsillitis. An attempt to identify penicillin tolerant *Streptococcus pyogenes*. Scand J Infect Dis 1996; 28: 143-147.
2. Fitoussi F, Cohen R, Brami G, Doit C, Brahimi N, Bingen E. Molecular DNA analysis for differentiation of persistence or relapse from recurrence in treatment failure of *Streptococcus pyogenes* pharyngitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 233-237.
3. Seppälä H, Vuopio-Varkila J, Österblad M, Holm E, Huovinen P. Evaluation of methods for epidemiologic typing of group A streptococci. J Infect Dis 1994; 169: 519-525.
4. Curtis N. Invasive group A streptococcal infection. Curr Opin Infect Dis 1996; 9: 191-202.
5. Brook I. The role of beta-lactamase-producing bacteria in the persistence of streptococcal tonsillar infection. Rev Infect Dis 1984; 6: 601-607.
6. Ukropina M, Roncevic N. Significance of normal oropharyngeal flora in the development of streptococcal pharyngitis and outcome of penicillin therapy. Med Pregl 1998; 51: 275-278.
7. Simon H, Sukai W. Staphylococcal antagonism to penicillin-G therapy of hemolytic streptococcal pharyngeal infection: effect of oxacillin. Pediatrics 1968; 31: 463-469.
8. Brook I, Gober A. Persistence of group A beta-hemolytic streptococci in toothbrushes and removable orthodontic appliances following treatment of pharyngotonsillitis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1998; 124: 993-995.
9. Scaglione F, Demartini G, Arcidiacono M, Pintucci J. Optimum treatment of streptococcal pharyngitis. Drugs 1997; 53: 86-97.
10. Stevens D. Invasive group A streptococcal disease. Infect Agents Dis 1996; 5: 157-166.
11. Norrby S, Norrby T. Infections due to group A *Streptococcus*: new concepts and potential treatment strategies. Ann Acad Med Sing 1997; 26: 691-693.
12. Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Sommers H. Diagnóstico microbiológico. México: Ed. Médica Panamericana, 1997.
13. Tuner K, Nord C. Betalactamase-producing microorganisms in recurrent tonsillitis. Scand J Infect Dis (Supl) 1983; 39: 83-85.
14. Bernstein S, Stillerman M, Allerhand J. Demonstration of penicillin inhibition by pharyngeal microflora in patients treated for streptococcal pharyngitis. J Lab Clin Med 1964; 63: 14-22.
15. Kamme C. Penicillin-resistant *Branhamella catarrhalis*. Läkartidningen 1980; 77: 4848-4860.
16. Kallings I, Bengtsson S, Christensen P, Holm E, Lind L, Kalin M. Antibiotic sensitivity of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* and *Branhamella catarrhalis* isolated from upper respiratory tract infections in Sweden. Scand J Infect Dis 1983; 39: 100-105.
17. Baquero F, García Rodríguez J, De Lomas J, Aguilar L. Antimicrobial resistance of 914 beta-hemolytic streptococci isolated from pharyngeal swabs in Spain: results of 1-year (1996-1997) multicenter surveillance study. The Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 178-180.
18. Lopardo H, Venuta M, Vidal P, Rosaenz L, Corthey C, Farinati A et al. Argentinian collaborative study on prevalence of erythromycin and penicillin susceptibility in *Streptococcus pyogenes*. The Argentinian Streptococcus Study Group. Diagn Microbiol Infect Dis 1997; 29: 29-32.
19. Kataja J, Huovinen P, Skurnik M, Seppälä H. Erythromycin resistance genes in group A streptococci in Finland. The Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 48-52.
20. Henning C, Bengtsson L, Jorup C, Engquist S. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pyogenes* in respiratory tract infections in outpatients. Scand J Infect Dis 1997; 29: 559-563.
21. Limia A, Jiménez M, Delgado T, Sánchez I, López S, López Brea M. Phenotypic characterization of erythromycin resistance in strains of the genus *Streptococcus* isolated from clinical specimens. Rev Esp Quimioter 1998; 11: 216-220.
22. Gené A, González-Cuevas A, Juncosa T, Luaces T, Latorre C. Antibiotic sensitivity of *Streptococcus pyogenes* in pediatrics. Enferm Infecc Microbiol Clin 1998; 16: 272-274.
23. Hsueh P, Chen H, Huang A, Jong Wu J. Decreased activity of erythromycin against *Streptococcus pyogenes* in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2239-2242.