

Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos centros de salud en la ciudad de La Paz y El Alto

Antimicrobial susceptibility among strains of *Neisseria gonorrhoeae* from two health centers in La Paz and El Alto

Jorge Antonio Bravo Camacho, Elizabeth Torrico Helguero, Christian Trigoso Agudo, Maria Elena Trigoso, Marcela Garnica, José Jorge Aruni Chura

Laboratorio de Referencia Nacional en Bacteriología Clínica, Instituto Nacional de Laboratorios de Salud, Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia. La Paz, Bolivia

C. Rafael Zubieta N° 1889 La Paz Bolivia,
Centro Piloto "CDVIR"
Centro de Referencia Ambulatorio CRA El Alto

Dirección para correspondencia: Jorge Antonio Bravo Camacho. Calle Florida N° 35 Miraflores. La Paz, Bolivia
Tel: 2-220261, 706-24338
E mail: jorgeabravoster@gmail.com

Recibido para publicación en 30/07/09
Aceptado en 3/12/09

RESUMEN

El presente estudio es descriptivo y de corte transversal. Se estudió la susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* frente a los antibióticos β -lactámicos, tetraciclinas, cefalosporinas y quinolonas, en cepas aisladas de pacientes con uretritis y/o cervicitis gonocócicas que asistieron a consulta a los centros de salud especializados en vigilancia de infecciones de transmisión sexual (I.T.S).

En el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), se procesaron 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de los centros de salud de las ciudades de La Paz y El Alto, para su identificación, confirmación bacteriológica, determinación de su perfil de resistencia y la tipificación de cepas productoras de β -lactamasas (PPNG), por el método de la cefalosporina cromogénica (Cefinase).

El método usado para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana fue el de Difusión con disco frente a penicilina, tetraciclina, ceftriaxona ciprofloxacina y espectinomicina.

La frecuencia de la resistencia in vitro de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* fue: a penicilina 18 (45%) a tetraciclina 20 (50%), las cepas productoras de penicilinas (PPNG) encontradas en el presente estudio fue de 15 (37,5%) y las cepas resistentes a tetraciclina mediada por plásmidos (TRNG) fue de 9 (22,5%). Los antimicrobianos a los que presenta susceptibilidad son la ceftriaxona 40

(100%), ciprofloxacina 40 (100%) y espectinomicina 40 (100%).

En el presente estudio se encontró cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes in vitro a la penicilina y tetraciclina, no siendo recomendado para el tratamiento, ya que se podría presentar un fracaso terapéutico.

Palabras Clave: *Neisseria gonorrhoeae*, Susceptibilidad antimicrobiana.

ABSTRACT

Forty strains of *Neisseria gonorrhoeae* were studied for frequency and susceptibility test for β -lactamase antibiotics, tetracycline, cephalosporins and quinolones, also identification of β -lactamase producing strains (PPNG). The strains were isolated from patients with urethritis and / or gonococcal cervicitis that attended to surveillance of sexually transmitted infections (S.T.D) in the health centers of La Paz and El Alto cities.

The study was run in the National Reference Laboratory for Clinical Microbiology at the National Institute for Health Laboratories. The method used was disk diffusion test and Notrocefim disk, for β -lactamase test.

The frequency for the resistance is: Penicillin 18 (45%), Tetracycline 20 (50%), penicilinas producing strains (PPNG) 15 (37,5%). The strains resistant to Tetracycline plasmid mediated (TRNG) 10 (25%). The 100% of the studied strains are susceptible to Ceftriaxone, Ciprofloxacin and Spectinomycin.

The results show that *N. gonorrhoeae* is still susceptible to Ceftriaxone, Ciprofloxacin and Spectinomycin.

Key Words: *Neisseria gonorrhoeae*, Antimicrobial susceptibility.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión sexual (ITS), constituyen un problema de salud colectiva, debido, a su alta morbilidad. Estas pueden ser causadas por bacterias, virus, protozoarios, clamidias y hongos. Entre las afecciones bacterianas, las causadas por *Neisseria gonorrhoeae* son muy difundidas en todos los estratos, con mayor incidencia en los de bajo nivel socio económico^{1,2}.

El gonococo, altamente susceptible a los antimicrobianos en un comienzo, tiene una gran capacidad de adaptación a las condiciones adversas. En un medio en que los antimicrobianos estén presentes, puede inducir cambios múltiples acumulativos en el microorganismo, lo cual resulta en resistencia a estos agentes. Clínicamente, este fenómeno se traduce en fracaso terapéutico^{3,4}.

Un estudio realizado en Bolivia, y publicado, fue la búsqueda de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas en el año de 1977, habiéndose estudiado en esa oportunidad 51 gonococos asilados en 256 meretrices (Santa Cruz) y que resultaron no ser productoras de penicilinas⁵.

En Bolivia sólo los casos notificados de gonorrea, de enero a junio de 1989, llegan a un total de 875; observándose en La Paz un total de 209.

El estudio que se realizó en 6 pacientes adultos de sexo masculino que concurren a INLASA durante el mes de agosto de 1989, con signo y sintomatología uretral fueron remitidos por el servicio de Urología del Hospital Universitario de Clínicas y por el Centro de Salud "La Paz" N°1. En este estudio la cepa de *Neisseria gonorrhoeae* fue positiva a la prueba de la detección de penicilinas, constituyéndose de esta manera en el primer microorganismo de estas características, aislado en la ciudad de La Paz⁵.

La enfermedad incide principalmente en las personas de 15 a 24 años, sin embargo, es una estimación demasiado baja de la verdadera incidencia de la enfermedad, afectando a cualquier edad, incluidas las niñas prepúberes sometidas a abuso sexual, en quienes se manifiesta como una vulvo vaginitis (Centers for Disease Control and Prevention, 1998)^{6,7}.

La gonorrea al igual que otras infecciones de transmisión sexual (ITS), es un problema de salud pública, y se agrava aún más con la aparición de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas que le confiere resistencia a la penicilina y otros β -lactámicos. En otros países se han reportado un incremento progresivo de la resistencia frente a las quinolonas, macrólidos, y otros antimicrobianos que

se recomiendan para el tratamiento de la gonorrea⁸. Los compuestos antimicrobianos utilizados en el tratamiento de la gonorrea han visto comprometida su eficacia debido a la capacidad de *Neisseria gonorrhoeae* de desarrollar mecanismos de resistencia.

Progresivamente, penicilinas, sulfamidas y tetraciclinas dejaron de ser la primera elección en las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae*, precisando el empleo de nuevos antimicrobianos⁹.

Las recomendaciones terapéuticas para la enfermedad gonocócica están determinadas por la edad, el sexo, el tipo de enfermedad clínica, la localización de la enfermedad y la prevalencia local de *N. gonorrhoeae* productora de penicilinas (PPNG) y con resistencia mediada por cromosomas (CMRNG)^{10,11}.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo, proporcionar información actualizada sobre el perfil de resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* en nuestra ciudad, puesto que este microorganismo puede adquirir resistencia a ciertos antibióticos como: Penicilinas, tetraciclinas, fluoroquinolonas, y al adquirir dicha resistencia disminuirá las posibilidades de un tratamiento eficaz. Además la información obtenida también ayudará a observar qué tipo de resistencia hay en la ciudad de La Paz, y cual clon de *Neisseria gonorrhoeae* es más frecuente.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación fue de tipo descriptivo y de corte transversal, el cual se llevó a cabo en los pacientes que asistieron a consulta de ginecología del Centro Piloto que atiende a las Trabajadoras Sexuales Comerciales (T.S.C.), a pacientes externos en la ciudad de La Paz, y el Centro de Referencia Ambulatorio CRA de El Alto donde se atienden a las T.S.C. y pacientes externos. Se obtuvieron 40 cepas y se realizó la identificación para luego realizar el cultivo bacteriológico en el Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), y posteriormente derivadas al Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica (LNRBC), para su procesamiento.

Pruebas de identificación. Se realizó la observación microscópica de las colonias pequeñas convexas, brillantes como gotas de rocío, mucoides, no hemolíticas. También se realizó la observación microscópica haciendo una tinción de Gram a las colonias observándose diplococos Gram negativos arriñonados. Se utilizó discos de Oxidasa (Difco), para la prueba del Superoxol se usó peróxido de hidrógeno al 30%, para la fermentación de azúcares se inoculó la bacteria en Agar Semisólido Cisteína Tripticasa (BBL) con 1% de carbohidratos glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa. Una prueba confirmatoria fue la de los tubos Reactivos Gonochek II. (TCS Biosciences Ltd).

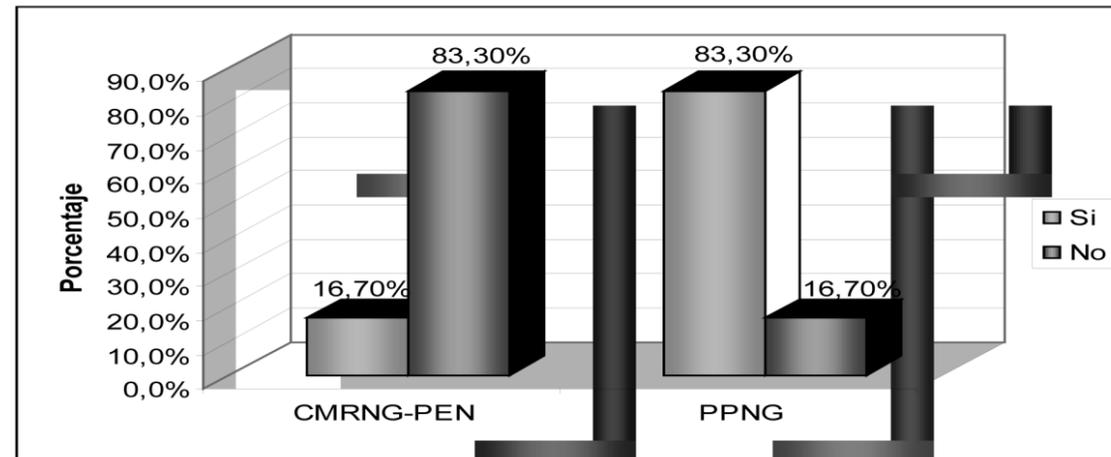
Para la detección de enzimas β -Lactamasas que rompen el anillo β -lactámico produciendo el ácido penicilinoico, se

empleó Discos de cefalosporina cromogénica (BBL)¹².
Cultivo bacteriológico. Luego de la identificación, se sembró la muestra en Agar base GC (OXOID) con 1% de IsoVitalax y hemoglobina en polvo (BBL) al 1% para la preparación del Agar Chocolate y Agar Thayer Martin Modificado con la adición de antibióticos que inhiban el crecimiento de otras bacterias que no sea *Neisseria gonorrhoeae*. Para realizar la susceptibilidad antimicrobiana se usó el medio Agar base GC con 1% de IsoVitalax, donde se empleó los discos de Penicilina 10U, Tetraciclina 30µg, Ceftriaxona 30µg, Ciprofloxacina 5µg y Espectinomicina 100µg.

El procesamiento de la información se realizó en una base de datos, la hoja electrónica Excel y para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico STATA, versión 8.0 estándar.

RESULTADOS

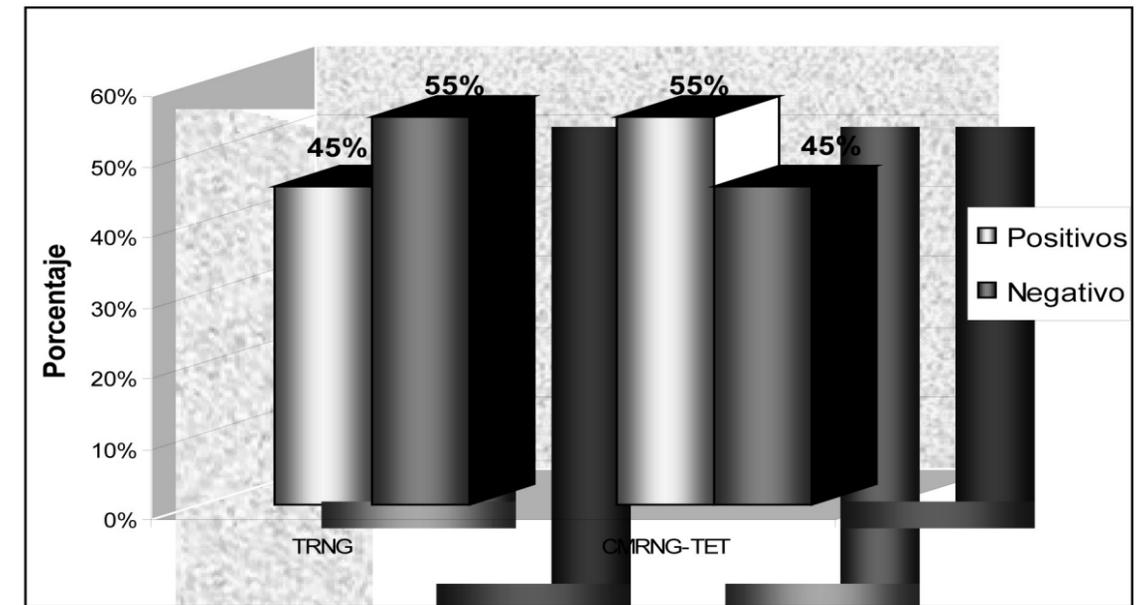
La proporción de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de penicilinas fue de 83,3% en aquellas cepas resistentes a la penicilina, la producción de penicilinas confiere una resistencia al antimicrobiano mediada por plásmidos. Además se pudo observar que el 16,7% no produce penicilinas siendo una resistencia cromosomal. (Figura 1)



Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica
 PPNG = *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas.
 CMRNG-PEN = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a penicilina mediada por cromosomas.

Figura 1. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Penicilina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

La resistencia a la tetraciclina mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae* fue de 45,0%, y el 55,0% de resistencia a la tetraciclina está mediada por cromosomas.



Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica.
 TRNG = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la Tetraciclina mediada por plásmidos.
 CMRNG-TET = *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la tetraciclina mediada por cromosomas.

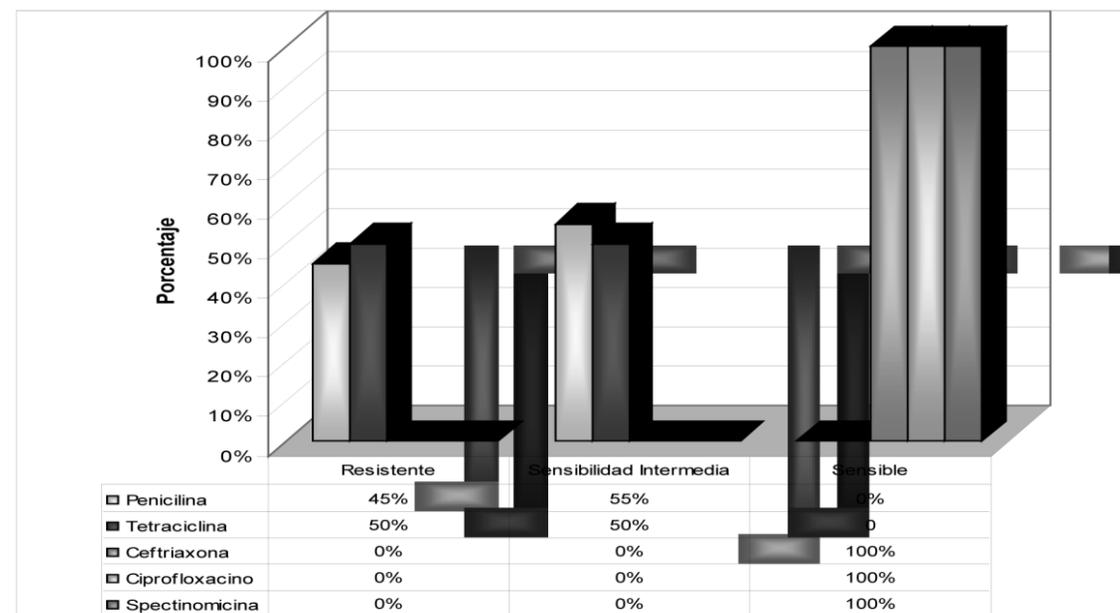
Figura 2. Distribución porcentual de las cepas con resistencia mediada por plásmidos y la resistencia mediada por cromosomas para Tetraciclina procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S) de mayo 2007 a abril de 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

En la Tabla 1 se observa el número de casos de los que presentan un mecanismo de resistencia, mediado por cromosomas o por la adquisición de algunos plásmidos de resistencia ya sea para la penicilina o la tetraciclina, y aquellos que no presentan ningún mecanismo de resistencia a los antimicrobianos ya mencionados pero que tienen una sensibilidad intermedia.

Tabla 1. Comparación entre mecanismos de resistencia mediados por cromosoma, plásmidos y aquellos con sensibilidad intermedia en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

| Cepa | PPNG Halo ≤ 19 mm Cefinase (+) | TRNG Halo ≤ 19 mm | CMRNG-PEN Halo ≤ 26 hasta 18 mm | CMRNG-TET Halo ≤ 30 hasta 18 mm | Sensibilidad Intermedia PEN Halo de 27 – 46 mm | Sensibilidad Intermedia TET Halo de 31 – 37 mm |
|--------------|---|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---|
| NG | 6 mm | 17 mm | 26 mm | 29 mm | 37 mm | 34 mm |
| NG | 6 mm | 16 mm | 26 mm | 21 mm | 35 mm | 33 mm |
| NG | 6 mm | 18 mm | 20 mm | 30 mm | 29 mm | 37 mm |
| NG | 6 mm | 14 mm | - | 30 mm | 34 mm | 37 mm |
| NG | 6 mm | 14 mm | - | 27 mm | 32 mm | 32 mm |
| NG | 6 mm | 16 mm | - | 30 mm | 32 mm | 33 mm |
| NG | 6 mm | 13 mm | - | 28 mm | 35 mm | 34 mm |
| NG | 6 mm | 15 mm | - | 28 mm | 37 mm | 32 mm |
| NG | 6 mm | 17 mm | - | 30 mm | 39 mm | 34 mm |
| NG | 6 mm | - | - | 29 mm | 39 mm | 34 mm |
| NG | 6 mm | - | - | 30 mm | 34 mm | 35 mm |
| NG | 6 mm | - | - | - | 34 mm | 36 mm |
| NG | 6 mm | - | - | - | 33 mm | 34 mm |
| NG | 6 mm | - | - | - | 29 mm | 33 mm |
| NG | 6 mm | - | - | - | 32 mm | 32 mm |
| NG | - | - | - | - | 34 mm | 32 mm |
| NG | - | - | - | - | 31 mm | 33 mm |
| NG | - | - | - | - | 33 mm | 31 mm |
| NG | - | - | - | - | 30 mm | 32 mm |
| NG | - | - | - | - | 37 mm | 33 mm |
| NG | - | - | - | - | 35 mm | - |
| NG | - | - | - | - | 31 mm | - |
| Total | 15 | 9 | 3 | 11 | 22 | 20 |

De todas las cepas estudiadas el 45,0% y el 50,0% resultaron resistentes a la penicilina y a la tetraciclina. Nueve cepas (45,0%) presentaron resistencia simultánea a la penicilina y a la tetraciclina (multiresistencia) (ver Figura 3).



Fuente = Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica

Figura 3. Susceptibilidad antimicrobiana de 40 cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

DISCUSIÓN

La resistencia a la penicilina en las cepas aisladas se explica por un mecanismo mediado por plásmidos, habiéndose encontrado también resistencia a la penicilina mediada por cromosomas, lo cual puede ocasionar modificaciones en las PBPs. Al aplicar la prueba de chi cuadrado (χ^2) entre las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -

lactamasas (PPNG) y las no productoras de β -lactamasas, se observó asociación estadísticamente significativa ($\chi^2=29,33$; $p < 0,01$), donde el 83.3% eran productoras de penicilinasas, esto indica que la elevada tasa de resistencia a la penicilina obtenida en este estudio, estuvo determinada principalmente por el mecanismo de resistencia mediado por plásmidos.

Tabla 2. Relación entre la resistencia a la penicilina, y la producción de penicilinasas mediada por plásmidos en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, procedentes de dos Centros de Salud especializados en vigilancia de Infecciones de Transmisión Sexual (I.T.S.) de mayo 2007 a abril 2008 en la ciudad de La Paz y El Alto.

| PPNG | Susceptibilidad a la Penicilina | | | | | |
|-----------------|---------------------------------|------|-------------------------|-----|-------|------|
| | Resistente | | Sensibilidad Intermedia | | Total | |
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| Positivo | 15 | 83.3 | 0 | 0.0 | 15 | 37.5 |
| Negativo | 3 | 16.7 | 22 | 100 | 25 | 62.5 |
| Total | 18 | 100 | 22 | 100 | 40 | 100 |

Se ha encontrado también otro mecanismo, presente en las cepas no productoras de β -lactamasas, las cuales son llamadas CMRNG. Desde el punto de vista epidemiológico, la tasa de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de β -lactamasas tiene importancia clínica, debido a que estas cepas pueden diseminarse con facilidad, por medio de transferencia de plásmidos a otras cepas que sí son sensibles a la penicilina o a cepas resistentes a otros antimicrobianos y por ende pueden crear cepas multiresistentes que pueden distribuirse ampliamente por el país.

La mayoría de los autores reportan resistencia a la tetraciclina, encontrándose variaciones entre las distintas regiones; en Brasil se han reportado cifras de resistencia que oscilan entre el 2% y 40%, mientras que en Cuba se han encontrado hasta 60% de resistencia. En Venezuela, la resistencia a la tetraciclina oscila entre 48% y 63%, siendo estas cifras más elevadas que las encontradas en el presente estudio¹³.

La ceftriaxona demostró una excelente actividad contra el gonococo con una sensibilidad del 100%. El CDC, en 1985 incluyó a la ceftriaxona como alternativa en el tratamiento de la gonorrea no complicada, posteriormente la eleva a un régimen de primera elección, pero en algunos sitios de EEUU, África y Asia se han detectado cepas de *Neisseria gonorrhoeae* con susceptibilidad disminuida a la ceftriaxona, asociado en cierto grado con resistencia

cromosomal de bajo nivel a la penicilina¹³. En Venezuela la ceftriaxona es poco utilizada porque no hay en el mercado presentaciones que contengan sólo 125 ó 250mg. que son dosis recomendadas para el tratamiento de la gonorrea y las presentaciones que existen tienen un elevado costo, por ese motivo en ese país la penicilina es el clásico medicamento usado para el tratamiento de la gonorrea, siendo que no es un tratamiento eficaz contra la infección¹³.

En base a los resultados obtenidos se puede aseverar que la penicilina no puede seguir utilizándose como droga de primera línea en este tipo de infecciones debido a los altos niveles de resistencia encontrados, por esta razón que el CDC incluyó a la ceftriaxona como terapia de primera elección en el tratamiento de las infecciones gonocócicas en los Estados Unidos. Sin embargo es necesario resaltar que *Neisseria gonorrhoeae* puede generar o adquirir, en el transcurso del tiempo, diferentes formas de resistencia antimicrobiana, que nos llevaría a la necesidad de introducir modificaciones en los esquemas terapéuticos sobre todo en aquellos pacientes automedicados, utilizándose en ellos esquemas de dosis únicas de cefalosporinas (ceftriaxona) o fluoroquinolonas (ciprofloxacina). En relación al uso de las tetraciclinas que durante buen tiempo constituyó una buena opción terapéutica, hoy en día no es efectiva, debido a que el gonococo se ha hecho resistente a la acción de este antibiótico¹³.

La emergencia de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes y multiresistentes a los antimicrobianos, motivan a realizar un seguimiento permanente de la resistencia antimicrobiana del gonococo para poder recomendar el uso adecuado de los antibióticos para el tratamiento de la infección gonocócica; en ese sentido el comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda que el régimen de tratamiento debe ser cambiado cuando la resistencia a un determinado antibiótico alcance el 5%, por ese motivo se recomienda que el tratamiento con penicilina y tetraciclina en la actualidad no se debería utilizar más¹⁴.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA), Laboratorio de Referencia Nacional en Bacteriología Clínica (LRNBC); a las enfermeras de los Centros de Salud que participaron en este estudio, a la Dra. Maria Elena Trigos y a la Dra. Marcela Garnica por la colaboración prestada para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

1. Barboza G, Valbuena A, Vasquez D, Lugo L. Incidencias de *Neisseria gonorrhoeae* productora de β -lactamasa. *Antibióticos e Infección*. 1996; 4: 31-36.
2. Garza Velasco R, Gómez Perez I. La Gonorrea: Aspectos Bioquímicos Inherentes al Agente Causal y algunos otros Factores que sustentan la actual Pandemia Mundial. México: Departamento de Biología, Facultad de Química UNAM; 2005.
3. Sosa, J. Estudio de la resistencia a los Antimicrobianos y Caracterización Molecular en Cepas de *Neisseria gonorrhoeae* [tesis de Licenciatura]. Cuba; 2002.
4. San Juan M, Gonzalez C, Pérez R. Agentes vivos de las Enfermedades Infecciosas más Prevalentes en Chile. *Tecnología Médica*, 2006.
5. Trigos C, Armaza F. *Neisseria gonorrhoeae* productora de penicilinas, primera cepa aislada en La Paz (Bolivia). *Cuadernos*. 1993; 39(1): 7 – 9.
6. Garcia Rodriguez JA. *Microbiología Médica General*. Tomo I. España: Mosby/Doyma; 1996.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1998; 47(1): 2, 53-70.
8. Portilla J. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procesadas en el Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. 1998 – 1999. 2003; 20(4).
9. Otero L, Villar H, Vasquez JA, Vasquez F. Quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*: A new public health problem in Spain. 2002; 20(3): 123 – 1.
10. Koneman, E. *Diagnóstico Microbiológico*. 5ta ed. Madrid: Panamericana, 2001.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1998; 42 (RR-1).
12. Albarracin LM. *Manual de Bacteriología de Infecciones de Transmisión Sexual*. 2002.
13. Sandoval M, Guevara A, Ward L, Ramos R, Suarez Y, Salomon. Susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a los antibióticos β -lactámicos, tetraciclinas u quinolonas *Kasmera* 2007, 35 (2): 118 – 126.
14. Portilla J. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* procesadas en el Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. 1998 – 1999. *Perú Med Exp Salud Pública*. 2003; 20 (4): 216 – 219.