

## SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE CEPAS DE *Neisseria gonorrhoeae* PROCESADAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, LIMA, PERÚ. 1998 - 1999

José Portilla C<sup>1</sup>

### RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de susceptibilidad y resistencia in vitro de cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, aisladas en el Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, frente a los antimicrobianos de uso actual en el tratamiento de la infección por el gonococo; asimismo, conocer la frecuencia con que se presentan las cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas. **Material y Métodos:** Estudio observacional descriptivo. En el Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, se recibieron 130 cepas de *N. gonorrhoeae* (49 en 1998 y 81 en 1999), procedentes de diferentes localidades del país para confirmación bacteriológica. El método de estudio de susceptibilidad antimicrobiana usado fue el de Concentración inhibitoria mínima (CIM) frente a la penicilina, espectinomomicina, ceftriaxona, cefotaxima, ciprofloxacina y azitromicina. **Resultados:** La frecuencia de la resistencia de las cepas de *N. gonorrhoeae* in vitro a la penicilina fue en 15/49 cepas en el año 1998 y 15/81 cepas en el año 1999. Asimismo, la resistencia a la tetraciclina fue en 31/49 cepas en el año 1998 y 51/81 cepas en 1999. El 100% de las cepas estudiadas fueron sensibles a la espectinomomicina, ceftriaxona, cefotaxima y ciprofloxacina. En el país, se reporta en 9/81 cepas de *N. gonorrhoeae* de susceptibilidad disminuida a la azitromicina. Entre los años 1998 y 1999, se reportaron 21/52 y 6/85, respectivamente de cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas. **Conclusiones:** Se encontró resistencia in vitro de cepas de *N. gonorrhoeae* frente a la penicilina y tetraciclina. Los antibióticos que se deben usar para el tratamiento de la infección son: espectinomomicina, ceftriaxona, cefotaxima y ciprofloxacina. Por primer vez se reporta en el país, cepas de susceptibilidad disminuida a la azitromicina.

**Palabras clave:** *Neisseria gonorrhoeae*/efectos de drogas; Test de Sensibilidad Microbiana; Perú. (fuente: BIREME)

### ABSTRACT

**Objective:** To determine the frequency of *in vitro* susceptibility and resistance of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in the Sexually-Transmitted Bacteria Laboratory in our institution and tested against currently used antimicrobials, as well as the frequency of b-lactamase producing *N. gonorrhoeae* strains. **Material and methods:** Observational and descriptive study. 130 *N. gonorrhoeae* isolates (49 in 1998, 81 in 1999) were received for bacteriological confirmation in the Sexually-Transmitted Bacteria Laboratory in our institution from different parts of the country. The method used was the Minimum Inhibitory Concentration and the antimicrobials used were: penicillin, spectinomycin, ceftriaxone, cefotaxime, ciprofloxacin, and azithromycin. **Results:** The frequency of *in vitro* penicillin-resistant *N. gonorrhoeae* strains was 15/49 strains in 1998 and 15/81 strains in 1999. Resistance to tetracyclin was found in 31/49 strains in 1998 and in 51/81 strains in 1999. All strains (100%) assessed were susceptible to spectinomycin, ceftriaxone, cefotaxime, and ciprofloxacin. In 1999, 9/81 *N. gonorrhoeae* isolates with reduced susceptibility to azithromycin were detected for the first time in 1999. Between 1998 and 1999, 21/52 and 6/85 beta-lactamase producing *N. gonorrhoeae* strains were reported. **Conclusions:** *In vitro* resistance in *N. gonorrhoeae* strains was found for penicillin and tetracyclin. Antibacterial agents to be used for treating *N. gonorrhoeae* infections should be spectinomycin, ceftriaxone, cefotaxime, and ciprofloxacin. It is the first time that *N. gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to azithromycin are reported.

**Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*/drug effects; Microbial Sensitivity Test; Peru. (source: BIREME)

### INTRODUCCIÓN

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

macrólidos y otros antibióticos que se recomiendan para el tratamiento de la gonorrea.

La cepa de *N. gonorrhoeae* productora de penicilinasas, fue identificada por primera vez en el año 1976, luego se diseminó por todo el mundo y la cepa de alta resistencia a la tetraciclina mediado por plásmidos fue reportado por primera vez en 1985, también se diseminó en todo el mundo. En algunos países de Europa y Asia se han detectado cepas con susceptibilidad disminuida y resistencia a la fluoroquinolonas<sup>1</sup>. En Hong Kong y Las

<sup>1</sup> Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual. Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

Filipinas, aproximadamente 10% de las cepas aisladas de *N. gonorrhoeae* son resistentes a las quinolonas<sup>2</sup>. En el Caribe, Guyana y St. Vincent han encontrado la frecuencia de la resistencia disminuida a la azitromicina está entre 72% y 16 %, respectivamente<sup>3</sup>.

La principal causa de la resistencia antimicrobiana es el uso indiscriminado de los antibióticos. Este fenómeno puede deberse a mecanismos de conjugación que ocasiona la transferencia de plásmidos de resistencia para un determinado antimicrobiano de una bacteria portadora hacia otra que, inicialmente, era susceptible para convertirse en resistente al antimicrobiano. Otra forma de transferencia es a través de bacteriófagos.

En varios países del mundo incluyendo el nuestro, hace más de una década, ya no se recomienda el tratamiento de la gonorrea con penicilina y tetraciclina debido a la resistencia a estos fármacos. Para el tratamiento de estas cepas resistentes en otros países del mundo se usa quinolonas<sup>4</sup>, pero desde el año 1997, en Hawai y en ciertas áreas del Asia, se han comunicado casos de cepas de *N. gonorrhoeae* resistente a las fluoroquinolonas<sup>5,6</sup>.

El Instituto Nacional de Salud con apoyo del Programa Nacional de Control de las Enfermedades de Transmisión Sexual y SIDA (PROCETSS-MINSA), iniciaron la vigilancia de la resistencia antimicrobiana in vitro en el año 1998; por ello, se recolectaron cepas de *N. gonorrhoeae* procedentes de diferentes establecimientos de control de enfermedades de transmisión sexual en el país.

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de la susceptibilidad y resistencia in vitro de *N. gonorrhoeae* frente a los antimicrobianos que en la actualidad se usan para el tratamiento de la infección gonocócica y también determinar la frecuencia de las cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se estudiaron 130 cepas de *N. gonorrhoeae*, 49 en el año 1998 y 81 en 1999, procedentes de diferentes localidades del país: Iquitos (Loreto), Cusco, Arequipa, Chiclayo (Lambayeque), Trujillo, (La Libertad), Tarapoto (San Martín), Lima, Callao, Chimbote (Áncash) y Puerto Maldonado (Madre de Dios).

Las cepas aisladas se recibieron en el Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual y Leptospiras del Instituto Nacional de Salud, fueron sembrados en medio agar Thayer-Martin y en agar chocolate enriquecido con la finalidad de obtener un cultivo joven para realizar la confirmación mediante la prueba bioquímica de utilización de carbohidratos. Las cepas fueron criopreservadas a -70°C en caldo infusión cerebro corazón con glicerol al 20%.

### DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

La susceptibilidad antimicrobiana in vitro de *N. gonorrhoeae* fue determinada por el método de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), de acuerdo con las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards<sup>7</sup> y por el Programa de la Vigilancia de la Susceptibilidad Antimicrobiana del gonococo para las Américas y el Caribe<sup>8</sup>.

Las cepas criopreservadas fueron reactivadas en agar chocolate enriquecido, se realizaron tres pasajes antes del procesamiento frente a los antimicrobianos: penicilina, tetraciclina, espectinomicina, ciprofloxacina, ceftriaxona, cefotaxime y azitromicina. En esta prueba se utilizaron como control las cepas de *N. gonorrhoeae*: ATCC 49226, WHO III, WHO V y WHO VII.

## RESULTADOS

De un total de 130 cepas *N. gonorrhoeae*, la frecuencia de la resistencia in vitro de la penicilina en 15/49 cepas en el año 1998, y en 15/81 cepas en el año 1999. La resistencia a la tetraciclina fue en 31/49 cepas 1998 y en 51/81 en 1999. Ninguna cepa evaluada resultó sensible a la espectinomicina, ceftriaxona, cefotaxima y ciprofloxacina (Tabla 1). En el Perú, por primera vez se reporta en 9/81 cepas aisladas de *N. gonorrhoeae* en el año 1999, que presentan susceptibilidad disminuida a la azitromicina, la CIM90 para este antimicrobiano fue de 0,25 µg/mL.

En 21/52 cepas y en 6/85 cepas aisladas entre los años 1998 y 1999, respectivamente, se detectaron cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de beta-lactamasas (NGPP).

De las cepas *N. gonorrhoeae* recepcionadas en el año 1999, se observaron que aquellas que presentan mayor frecuencia de resistencia a penicilina y tetraciclina proceden del departamento de Lima.

**Tabla 1. Susceptibilidad antibiótica in vitro de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en el Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. 1998-1999.**

| Antibiótico     | % de susceptibilidad 1998<br>n=49 |            |            | % de susceptibilidad 1999<br>n=81 |            |            |
|-----------------|-----------------------------------|------------|------------|-----------------------------------|------------|------------|
|                 | Sensible                          | Intermedio | Resistente | Sensible                          | Intermedio | Resistente |
| Penicilina      | 22,5 (11)*                        | 46,9 (23)  | 30,6 (15)  | 19,7 (16)                         | 61,7 (50)  | 18,6 (15)  |
| Espectinomicina | 100                               | 0          | 0          | 100                               | 0          | 0          |
| Tetraciclina    | 14,3 (7)                          | 22,4 (11)  | 63,3 (31)  | 8,6 (7)                           | 28,4(23)   | 62,9(51)   |
| Ceftriaxona     | 100(49)                           | 0          | 0          | 100(81)                           | 0          | 0          |
| Cefotaxima      |                                   |            |            | 100(81)                           | 0          | 0          |
| Ciprofloxacina  | 100(49)                           | 0          | 0          | 100(81)                           | 0          | 0          |
| Azitromicina    | 100(49)                           | 0          | 0          | 88,9(72)                          | 11,1(9)    | 0          |

\* % de susceptibilidad ( número de cepas *N.gonorrhoeae*).

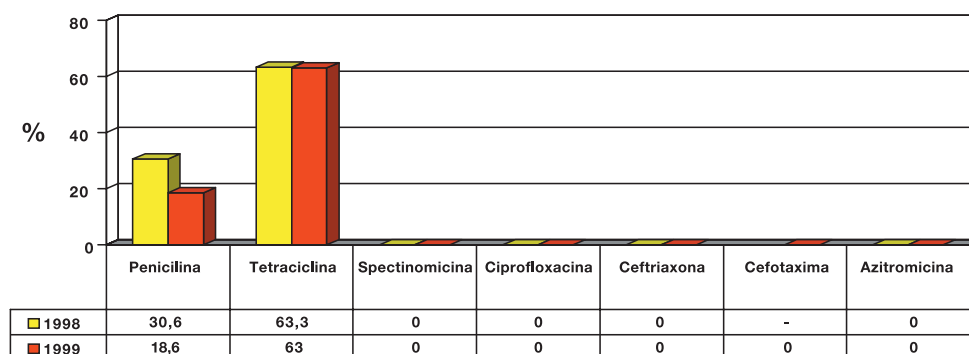


Figura. Resistencia antibiótica de *N. gonorrhoeae* procesadas entre los años 1998 y 1999.

Tabla 2. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de los antimicrobianos frente a las cepas de *N.gonorrhoeae* en el Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, 1998-1999.

| Antimicrobiano | 1998   |        | 1999   |        |
|----------------|--------|--------|--------|--------|
|                | CIM 50 | CIM 90 | CIM 50 | CIM 90 |
| Penicilina     | 0,125  | 8      | 0,125  | 2      |
| Espectinomycin | 16     | 32     | 16     | 32     |
| Tetraciclina   | 2      | 16     | 2      | 32     |
| Ceftriaxone    | 0,004  | 0,008  | 0,004  | 0,032  |
| Cefotaxime     |        |        | 0,004  | 0,032  |
| Ciprofloxacin  | 0,001  | 0,008  | 0,004  | 0,008  |
| Azithromycin   | 0,008  | 0,06   | 0,06   | 0,25   |

DISCUSIÓN

En la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *N. gonorrhoeae* solo se halló resistencia frente a la tetraciclina y penicilina, pero no hubo evidencias de resistencia a la espectinomycin, ciprofloxacin, ceftriaxone, cefotaxime y azithromycin. El resultado del presente estudio es similar a un estudio en Chile<sup>9</sup> realizado en el año 1996, donde reportaron 100% de sensibilidad a la ciprofloxacin, ceftriaxone y espectinomycin y, frecuencias similares de resistencia de la penicilina y a la tetraciclina. Asimismo, en un estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *N. gonorrhoeae* aisladas de muestras genitales y conjuntivales en Cuba<sup>10</sup>, entre los años 1995 y 1998 se encontraron entre 68% y 84,6% de resistencia a penicilina y tetraciclina, respectivamente.

El hecho de no detectar resistencia de las cepas de *N.gonorrhoeae* en el presente estudio frente a la ceftriaxone, ciprofloxacin y espectinomycin coincide con lo reportado en el Caribe<sup>3</sup> entre los años 1994 y 1996. Asimismo, estos autores al igual que el presente, también encontraron susceptibilidad disminuida a azithromycin, 16% en St.Vincent, y 72% en Guyana, donde nueve aislamientos resultaron resistentes a la azithromycin. En Brasil un estudio de susceptibilidad en el año 1998 demostró 23 aislamientos con susceptibilidad disminuida a la azithromycin.

La frecuencia de la resistencia a la tetraciclina hallado en nuestro estudio es superior a lo reportado en Chile<sup>9</sup> y Nueva Delhi (India)<sup>11</sup>, pero inferior al de Tucumán (Argentina)<sup>12</sup>, un estudio en la India<sup>13</sup>, Guyana<sup>3</sup>, Bogotá (Colombia)<sup>14</sup> y China<sup>1</sup>. El programa de vigilancia antimicrobiana gonocócica del Pacífico Este de la Organización Mundial de la Salud<sup>15</sup>, reportó que Brunei, Singapur, Viena y Ontario (Canadá) son los que tienen mayor frecuencia de cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a la tetraciclina<sup>16</sup>.

La frecuencia de la cepa de *N. gonorrhoeae* productora de beta-lactamasa en un establecimiento antivenéreo en 1995 fue 37,5%<sup>17</sup>, en el presente estudio fue 40,4% en 1998 y 7,1% en 1999, valor que muestra una probable disminución en las muestras examinadas en el Instituto Nacional de Salud. Este hallazgo es similar a lo reportado en Dinamarca<sup>18</sup> en cepas aisladas entre 1995 y 1997, mientras que en 1998 disminuyó drásticamente; asimismo, en Tucumán (Argentina)<sup>12</sup>, entre los años 1990 y 1991 la frecuencia de estas cepas fue 3,5%. En Chile<sup>9</sup> en el año 1996 se reportó 37,4%, mientras que en Bogotá<sup>14</sup> y en Cuba<sup>10</sup> la frecuencia fue mas elevada que en el presente estudio.

Al comparar los valores de CIM50 y CIM90 de los antimicrobianos ensayados frente a las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en nuestro laboratorio entre los años 1998 y 1999 (Tabla 2), muestra un descenso sostenido en la disminución de la susceptibilidad antimicrobiana del gonococo a la azithromycin, cuyo valor CIM 0,25 mg/mL es indicador de susceptibilidad disminuida a dicho antimicrobiano<sup>3,4</sup>.

El número de cepas de *N. gonorrhoeae* evaluadas en el presente estudio, no refleja la prevalencia de infección gonocócica ni de la resistencia antimicrobiana del gonococo por departamento o en nuestro país debido a la representatividad de la muestra y a los sesgos de selección, pero al menos nos muestra una evidencia aproximada de la susceptibilidad antimicrobiana del gonococo.

La emergencia de cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes y multiresistentes a los antimicrobianos extendidos en el mundo, motivan a realizar una vigilancia permanente de la

resistencia antimicrobiana del gonococo a fin de recomendar el uso adecuado de los antibióticos para el tratamiento de la infección por el gonococo; por ello, 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 antimicrobiano alcance el 5%<sup>15</sup>, por lo tanto, el tratamiento de la gonorrea con penicilina y tetraciclina en la actualidad no justifica su uso.

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa Nacional de Control de las Enfermedades de Transmisión Sexual y SIDA (PROCETS – MINSA), por el apoyo con insumos para la recolección y aislamiento de cepas en los Centros de Control de las ITS durante el año 1998, cuando se inició la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana del gonococo. Asimismo, mi agradecimiento a la Dra. Jo-Anne R. Dillon, Directora del GASP-Canadá por haberme facilitado cepas de referencia para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana y por haber evaluado la proficiencia del CIM y, finalmente, a todo el personal de los establecimientos de salud y del Instituto Nacional de Salud (INS) que han contribuido en la ejecución del presente estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ye S, Ssu X, Wang Q, Yin Y, Dai X, Sun H.** Surveillance of antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in China, 1993 -1998. *Sex Transm Dis* 2002; 29(4): 242-5.
2. **Knapp JS, Fox KK, Tres DL, Whittington WL.** Fluoroquinolona resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(1):33-9. Erratum in: *Emerg Infect Dis* 1997; 3(4):584.
3. **Dillon JR, Li H, Sealy J, Ruben M, Prabhakar P, Caribbean GASP Network. Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program.** Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from three Caribbean counties: Trinidad, Guyana, and St. Vincent. *Sex Transm Dis* 2001; 28(9):508-14.
4. **Dillon JA, Rubabaza JP, Benzaken AS, Sardinha JC, Li H, Bandeira MG, dos Santos Fernando Filho E.** Reduced susceptibility to azithromycin and high percentages of penicillin and tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Manaus, Brazil, 1998. *Sex Transm Dis* 2001; 28(9):521-6.
5. **Golden MR, Handsfield HH.** The return of the gonococcus. *Medscape Infec Dis* 4(2) [en internet]. 2002 Dic [citado 5 Jul 2003] disponible en <http://www.medscape.com/viewarticle/445742?src=search>.
6. **Trees DL, Sandul AL, Neal SW, Higa H, Knapp J.** Molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* exhibiting decreased susceptibility and resistance to ciprofloxacin in Hawaii, 1991-1999. *Sex Transm Dis* 2001; 28(6): 309-14.
7. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard. 5th ed. Approved Standard NCCLS Document M7-A4, Vol 17, No. 2, NCCLS, Wayne, PA, January, 1997.
8. **Dillon JR, Li H.** A laboratory course manual: Identification and antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. 3th ed. WHO/PAHO Coordinating Center for Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program in the Americas and Caribbean. University of Ottawa. Ontario (CA): WHO/PAHO GASP; 1996.
9. **Tsunekawa I, Maldonado A.** Sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* 1996. *Laborat al día* (Chile) 1997; 13 (1): 21.
10. **Sosa J, Llanes R, Rodríguez W, Gutierrez Y, Guzmán D.** Characterization of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated from patients with conjunctivitis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95(6): 853-4.
11. **de Castillo MC, de Saab OA, de Fernandez NP, de Nader OM, de Ruiz Holgado AP.** Agar dilution method for susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996; 91(6): 789-93.
12. **Bhalla P, Sethi K, Reddy BSN, Mathur MD.** Antimicrobial susceptibility and plasmid profile of *Neisseria gonorrhoeae* in India (New Delhi). *Sex Transm Infect* 1998; 74(3): 210-2.
13. **Divekar AA, Gogate AS, Shivkar LK.** Association between auxotypes, serogroups, and antibiotic susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* isolated from women in Mumbai (Formerly Bombay), India. *Sex Transm Dis* 1999; 26(6): 358-63.
14. **Vela MC, de Vargas CI, Castañeda E.** Determinación de la beta-lactamasa en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*. *Biomedica* (Colombia) 1994; 14:16-21.
15. **The WHO Western Pacific Gonococcal antimicrobial Surveillance Programme.** Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 2000. *CDI* 2001; 25(4): 274-6.
16. **Lai-King NG.** *Neisseria gonorrhoeae* en Canada. 2000. En: Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención. Salvatierra-González R, Benquiqui Y, editores. Organización Panamericana de la Salud; 2000. 74-83
17. **Portilla CJL, Moreira OL, Saavedra OM, Ramírez PM.** Prevalencia de *Neisseria gonorrhoeae* en trabajadoras sexuales atendidas en el Centro de Salud Antivenéreo de Lima, 1995. *Rev med exp* 1997; 14(1): 15-8.
18. **Su X, Lind I.** Molecular basis of high-level ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Denmark from 1995 to 1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 (1):117-23.

---

**Correspondencia:** José Portilla C.  
Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual,  
Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.  
Dirección: Cápac Yupanqui 1400. Lima 11. Lima, Perú.  
Teléfono: (511) 4719920  
Correo electrónico: jportilla@ins.gob.pe  
JI\_portilla2806@yahoo.com