

N EISSERIA GONORRHOEAE RESISTENTE A LA PENICILINA EN LA CIUDAD DE MEXICO¹

Rubén de la Cruz González,² Carlos Conde-González,² Ernesto Calderón J.,²
Lourdes Narcio-Reyes,² Cristina Hirata V.,³
María del Rosario Sánchez M.² y Enrique Cabrera C.²

INTRODUCCION

A raíz del descubrimiento de la penicilina y de su eficacia en el tratamiento de las enfermedades venéreas, los hospitales destinaron a otros usos las salas donde se atendía a los pacientes de estas afecciones, la venereología dejó de ser una especialidad médica y las escuelas de medicina redujeron al mínimo la información sobre estas enfermedades. Sin embargo, a partir de 1976 se notó un cambio en la sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a la penicilina. Este cambio se debió al aumento progresivo de cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de penicilinas (NGPP) y a la presencia de cepas de *N. gonorrhoeae* con resistencia mediada por cromosomas (NGRMC) (1, 2). La resistencia antimicrobiana del gonococo, concurrente en ocasiones con la in-

fección por *Chlamydia trachomatis* o *Ureaplasma urealyticum* (3, 4), plantea la necesidad de establecer programas intensivos de control, sobre todo en los países en desarrollo, donde el problema ha llegado a ser hiperendémico. Para ello se deben identificar y tipificar las cepas de *N. gonorrhoeae*, así como determinar cuál es la población en riesgo y cuáles son los patrones de transmisión de la enfermedad. En este informe se presentan los resultados de un estudio que tuvo como finalidad definir las características de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas durante el período de julio a diciembre de 1986 de un grupo de pacientes con infección genitourinaria no complicada atendidos en un centro de salud de la ciudad de México.

MATERIALES Y METODOS

Se hizo el estudio de 607 pacientes adultos que asistieron a la consulta con manifestaciones uretrales (325

¹ Trabajo presentado en parte en el II Congreso Mundial de Enfermedades de Transmisión Sexual, celebrado en París, Francia, en junio de 1986.

² Instituto Nacional de Perinatología, Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal de la División de Investigación Biomédica. Dirección postal: Moras No. 759, Col. Del Valle, 03100 México, DF, México.

³ Secretaría de Salud, Centro de Salud "Manuel Domínguez", Laboratorio de Enfermedades Venéreas "Dr. Eliseo Ramírez", México, DF.

hombres) y cervicovaginales (282 mujeres). Los pacientes fueron atendidos en el Centro de Salud "Manuel Domínguez" y en el Laboratorio de Enfermedades Venéreas "Dr. Eliseo Ramírez"; la tipificación de cepas y las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos se efectuaron en la División de Investigación Biomédica del Instituto Nacional de Perinatología.

Se hizo una selección de 148 pacientes en los que se había aislado *N. gonorrhoeae* y que no habían recibido tratamiento previo con antimicrobianos al menos tres semanas antes de la consulta. Todos ellos habían aceptado voluntariamente durante la consulta la aplicación del tratamiento propuesto y asistir a las visitas de control posterior. Había 123 hombres (83,2%) y 25 mujeres (16,8%). La media de edad de los hombres fue de 24 años y la de las mujeres, de 20.

Mediante un hisopo se obtuvo material de la mucosa de la uretra y del conducto cervical. Este material se sometió a la técnica de coloración de Gram para determinar la cantidad de células polimorfonucleares y epiteliales que contenía y observar su morfología, así como para identificar la presencia de bacterias. Al mismo tiempo se sembró una muestra en medio de Thayer-Martin, constituido por medio GC (Bioxon, México) suplementado con hemoglobina de bovino (Bioxon, México) y polienriquecimiento (Bioxon, México), que contenía vancomicina (3 µg/ml), colistina (7,5 µg/ml) y nistatina (12,5 U/ml). El cultivo se incubó entre 48 y 72 horas en una jarra con un cabo de vela. Los gonococos se identificaron por medio de las características morfológicas de las colonias, la coloración

de Gram, la prueba de la oxidasa y la degradación de carbohidratos (5). Simultáneamente se sometió el cultivo a la prueba para la penicilinas por el método yodométrico (6) y se efectuó la identificación por coaglutinación con Phadebact GC-Test (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia). Se hizo una resiembra en medio de gelosa chocolate sin antibióticos para obtener un mejor crecimiento, y el producto resultante se utilizó para confirmar la identificación, practicar la serogrupación 1A (WI) y 1B (WII/III) con anticuerpos monoclonales (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia) y realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos. Esta última se llevó a cabo por medio de la técnica de dilución seriada en placa con replicador de Steers (7); los antibióticos utilizados fueron la penicilina, ampicilina, tetraciclina, cloramfenicol, eritromicina, espectinomina y cefotaxima. Finalmente, las cepas codificadas se liofilizaron para su conservación. Se consideró resistente por cambios cromosómicos a la cepa de *N. gonorrhoeae* que resultó negativa en la prueba para la penicilinas y creció en un medio de cultivo que contenía ≥ 2 µg/ml de penicilina.

RESULTADOS

Aproximadamente una de cada cuatro cepas fue positiva para la prueba de la penicilinas (26,3%) y una de cada 20 cepas aisladas se consideró resistente por cambios cromosómicos (4,7%). La concentración inhibitoria mínima para las cepas de NGPP varió entre 2,0 y 64,0 µg/ml (cuadro 1). La serotipificación global fue de 41,2% para el grupo 1A (WI) y de 58,8% para el grupo 1B (WII/III). Todas las cepas de NGRMC correspondieron al grupo 1B y se aislaron de individuos del sexo masculino.

CUADRO 1. Sensibilidad a la penicilina de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* estudiadas

Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/ml}$)	Porcentaje acumulativo de cepas inhibidas
0,12	19,3
0,25	34,9
0,50	49,4
1,00	67,5
2,00	79,5
4,00	83,1
8,00	87,9
16,00	96,4
32,00	96,4
64,00	100,0

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La aparición de algunas cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de penicilinasa (10) y su propagación progresiva a partir de mediados del decenio de los setenta constituyen un problema grave para la salud, en particular en las grandes urbes. Los resultados de este estudio evidencian el aumento de los gonococos resistentes a la penicilina en la ciudad de México, donde hasta ahora la prevalencia era de cepas no-NGPP. Estos resultados podrían deberse a lo que algunos autores (8) consideran consecuencia de la importación de cepas de NGPP. También hay que tener en cuenta que la población estudiada procedía de una clínica de enfermedades de transmisión sexual, de modo que constituían un grupo de individuos en riesgo no representativos de la población en general. Asimismo, los hallazgos pueden ser producto del rigor del análisis de las cepas por parte del laboratorio antivenéreo, cuya finalidad era aportar información para elaborar un mejor esquema de tratamiento de la gonorrea.

Se observó que por lo menos una de cada cuatro cepas de gonococo resultó NGPP, cantidad similar a la comunicada en otros países (9, 11); por lo tanto, se debe replantear el esquema tradicional de tratamiento de la infección gonocócica no complicada con penicilina procaínica, asociada con la administración previa de probenecida, que recomiendan los Centros para el Control de Enfermedades (EUA). La eficiencia de este tratamiento se basa en la relación que hay entre la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* y la curación (8, 12).

La presencia de cepas de *N. gonorrhoeae* penicilinasas negativas encontrada en este estudio concuerda con lo observado en otras investigaciones (8, 13, 14). En los últimos años, la presión selectiva de la penicilina y de otros antimicrobianos (9, 11, 14) ha provocado la proliferación de cepas de NGPP, de modo que en uno de cada tres individuos de alto riesgo, como los estudiados, el tratamiento con penicilina natural o con otros antimicrobianos recomendados resulta ineficaz.

La tipificación en grupos con anticuerpos monoclonales (15, 17) permite seguir la pista epidemiológica de cepas resistentes que proceden de alguna fuente de transmisión. En relación con la sensibilidad a la penicilina y a otros antimicrobianos, se ha informado que, por lo general, las cepas sensibles pertenecen al grupo 1A; en consecuencia, las del grupo 1B tienen mayor probabilidad de ser resistentes (18, 19). En el presente estudio, las cepas de NGPP no tuvieron una distribución particular en ningún grupo; sin embargo, las no-NGPP con resistencia mediada por cromosomas pertenecieron al grupo 1B (WII/III). Tal como se señala

en un estudio reciente (15), la introducción múltiple de cepas, así como la selección de fenotipos más resistentes, podrían ser las causas principales del fenómeno de la resistencia cromosómica.

Teniendo en cuenta el perfil de sensibilidad y los resultados clínicos de los pacientes tratados, parece lógico establecer que ni la penicilina natural ni la ampicilina son los fármacos indicados para la terapéutica primaria de infecciones por cepas de NGPP o NGRMC. Por otra parte, los estudios *in vitro* en que se basa este trabajo demostraron que aproximadamente 40% de las cepas aisladas eran resistentes a la tetraciclina, cifra semejante a la informada en otros estudios (20, 21). Es conveniente señalar que ante el fracaso de tratamientos previos, se puede recurrir al uso de la espectinomina (12).

Desde el punto de vista de la salud pública, se requiere el establecimiento de medidas de control que incluyan la instalación de un laboratorio para la vigilancia y reconocimiento de las personas infectadas, la entrevista de esos pacientes para el seguimiento e identificación de contactos, y el empleo de la terapéutica más eficaz para la curación clínica y microbiológica.

La vigilancia de las infecciones por NGPP y NGRMC se basa en la investigación de la producción de penicilinas y en la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobiana en las cepas aisladas. Debe considerarse como un criterio mínimo de vigilancia epidemiológica el estudio de las cepas aisladas de pacientes que requieran ser tratados nuevamente. Asimismo, se debe estimar como población de alto riesgo a los contactos de pacientes con fracasos clínicos y micro-

biológicos, lo cual plantea un problema logístico para la identificación y vigilancia de casos, así como para la capacitación de técnicos de salud dedicados exclusivamente al campo de las enfermedades venéreas.

RESUMEN

Durante los meses de julio a diciembre de 1986, acudieron a un centro de atención de enfermedades venéreas de la ciudad de México 607 pacientes adultos de ambos sexos con manifestaciones uretrales y cervicovaginales. Se seleccionó a 148 individuos en los que se había aislado *Neisseria gonorrhoeae* y que no habían recibido tratamiento previo con antimicrobianos al menos tres semanas antes. Por medio de un hisopo se obtuvo material de la mucosa de la uretra y del conducto cervical de los pacientes seleccionados. Se identificaron los gonococos por las características morfológicas de las colonias, la coloración de Gram, la prueba de la oxidasa y la degradación de carbohidratos, y se determinaron las características de resistencia a la penicilina de las cepas aisladas. Se encontró que 26,3% de las cepas de *N. gonorrhoeae* eran productoras de penicilinas (NGPP) y 4,7% tenían resistencia mediada por cromosomas (NGRMC). No se observó diferencia notable en cuanto a la distribución de las cepas de NGPP en los serogrupos 1A (WI) y 1B (WII/III); sin embargo, todas las cepas de NGRMC pertenecieron al grupo 1B, y se aislaron de individuos del sexo masculino. En uno de cada tres pacientes del grupo estudiado el tratamiento con penicilina, ampicilina u otros antimicrobianos resultó ineficaz. Ante el fracaso del tratamiento en individuos de alto riesgo como los que formaron parte de este estudio, se recomienda recurrir a la espectinomina.

Para evitar el aumento de cepas resistentes a la penicilina, los autores sugieren apoyarse en un laboratorio para la vigilancia y reconocimiento de las personas infectadas, efectuar el seguimiento de los pacientes y la identificación de contactos, y emplear la terapéutica más eficaz. □

REFERENCIAS

- 1 Centers for Disease Control. Follow-up on penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*—worldwide. *MMWR* 26:153-154, 1977.
- 2 Rice, R. J., Biddle, J. W., Jean Louis, Y. A., DeWitt, W. E., Blount, J. H. y Morse, S. A. Chromosomally mediated resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the United States: Results of surveillance and reporting, 1983-1984. *J Infect Dis* 153:340-345, 1986.
- 3 Hook, E. W. y Holmes, K. K. Gonococcal Infections. *Ann Intern Med* 102:229-243, 1985.
- 4 McCormack, W. M. y Taylor-Robinson, D. The genital mycoplasmas. In: Holmes, K. K., Mardh, P. A., Sparling, P. F. y Wiesner, P. J., eds. *Sexually transmitted diseases*. New York, McGraw-Hill, 1984, pp. 408-421.
- 5 Kellogg, D. S., Holmes, K. K. y Hill, G. A. Laboratory diagnosis of gonorrhea. Washington, DC, American Society for Microbiology, octubre de 1976. CUMITECH-4.
- 6 Schoenknecht, F. D., Sabath, L. D. y Thornsberry, C. Susceptibility tests: Special test. In: Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. y Shadomy, H. I., eds. *Manual of clinical microbiology*, 4a. ed. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1985, pp. 1000-1008.
- 7 Thornsberry, C., Gavan, L. T. y Gerlach, J. C. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Washington, DC, American Society for Microbiology, septiembre de 1977. CUMITECH-6.
- 8 Jaffe, H. W., Biddle, J. W., Johnson, S. R. y Wiesner, P. J. Infections due to penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in the United States; 1976-1980. *J Infect Dis* 144:191-197, 1981.
- 9 Rajan, V. S. Problems in the surveillance and control of sexually transmitted agents associated with pelvic inflammatory disease in the Far East. *Am J Obstet Gynecol* 138:1071-1077, 1980.
- 10 Philips, I. β -lactamase-producing, penicillin-resistant gonococcus. *Lancet* 2:656-657, 1976.
- 11 Aral, S. O. y Holmes, K. K. Epidemiology of sexually transmitted diseases. In: Holmes, K. K., Mardh, P. A., Sparling, P. F. y Wiesner, P. J., eds. *Sexually transmitted diseases*. New York, McGraw-Hill, 1984, pp. 126-141.
- 12 Centers for Disease Control. Sexually transmitted diseases. Treatment guidelines 1982. *MMWR* 31 (Supl):335-605, 1982.
- 13 Centers for Disease Control. Penicillin-resistant gonorrhea—North Carolina. *MMWR* 32:273-275, 1983.
- 14 Centers for Disease Control. Chromosomally mediated resistant *Neisseria gonorrhoeae*—United States. *MMWR* 33:408-410, 1984.
- 15 Knapp, J. S., Sandström, E. G. y Holmes, K. K. Overview of epidemiological and clinical applications of auxotype/serovar classification of *Neisseria gonorrhoeae*. In: Schoolink, G. K., ed. *The pathogenic Neisseriae*. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1985, pp. 6-12.
- 16 Knapp, J. S., Tam, M. R., Nowinski, R. C., Holmes, K. K. y Sandström, E. G. Serological classification of *Neisseria gonorrhoeae* with use of monoclonal antibodies to gonococcal outer membrane protein I. *J Infect Dis* 150:44-48, 1984.
- 17 Sandström, E. G., Cheng, K. C. S. y Buchanan, T. M. Serology of *Neisseria gonorrhoeae* coagglutination serogroups W1 and W11/III correspond to different outer membrane protein I molecules. *Infect Immun* 38:462-470, 1982.
- 18 Bygdeman, S., Bäckman, M., Danielsson, D. y Norgren, M. Genetic linkage between serogroup specificity and antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* (B) 90:243-250, 1982.

- 19 Bygdeman, S. M., Mardh, P. A. y Sandström, E. G. Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to rifampicin, and thiamphenicol: correlation of protein I antigenic determinants. *Sex Transm Dis* 11(Supl):34-38, 1984.
- 20 Hook III, E. W., Knapp, J. S., Hunter Handsfield, H., Bonin, P., Hale, J. A., Tanino, T. y Holmes, K. K. Characterization and prevalence of chromosomally mediated resistance to penicillin G and tetracycline in *Neisseria gonorrhoeae* from Seattle, Washington. In: Schoolnik, G. K., ed. *The pathogenic Neisseriae*. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1985, pp. 96-100.
- 21 Jaffe, H. W., Biddle, J., Thornsberry, C., Johnson, R. E., Kaufman, R. E., Reynolds, G. H., Wiesner, P. J. y The Cooperative Study Group. National gonorrhea therapy monitoring study: *in vitro* antibiotic susceptibility and its correlation with treatment results. *N Engl J Med* 294:5-9, 1976.

SUMMARY

PENICILLIN-RESISTANT *NEISSERIA GONORRHOEAE* IN MEXICO CITY

From July to December 1986, 607 adults of both sexes with urethral and cervicovaginal symptoms visited a venereal disease center in Mexico City. Urethral mucosa and cervical canal smears were taken from 148 selected individuals from whom *Neisseria gonorrhoeae* had been isolated and who had not been treated with antimicrobials for at least the three previous weeks. Gonococci strains were identified by the morphological characteristics of the colonies, staining by Gram's method, the oxidase test, and carbohydrate breakdown, and the penicillin-resistance of the isolated strains was determined. It was found that 26.3% of the

N. gonorrhoeae strains were penicillinase-producing (PPNG) and 4.7% had chromosome-mediated resistance (CMRNG). There was no significant difference in the distribution of PPNG strains in serogroups 1A (WI) and 1B (WII/III); however, all the CMRNG strains belonged to the 1B group and were isolated from males. Treatment with penicillin, ampicillin, and other antimicrobials was ineffective in one out of every three patients in the study group. For high-risk patients in whom this treatment is unsuccessful, such as the subjects of this study, the use of spectinomycin is recommended. To prevent an increase in penicillin-resistant strains, the authors suggest laboratory identification and monitoring of infected persons, follow-up of patients and identification of contacts, and use of the most effective therapy available.