

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Haemophilus influenzae* no tipables aisladas de niños sanos

Lic. Kiomy Fuentes Gort,¹ Lic. Isis Tamargo Martínez² y Lic. Gilda Toraño Peraza³

RESUMEN

Se estudió la susceptibilidad antimicrobiana de 79 aislamientos de *Haemophilus influenzae* no tipables obtenidos de niños sanos, que asistieron a 2 círculos infantiles del municipio Marianao. Se encontró resistencia frente al trimetoprim/sulfametoxazol (41,77 %), tetraciclina (18,99 %), ampicilina (17,72 %), amoxicilina/ácido clavulánico (7,59 %) y el cloranfenicol (6,33 %). Se observó multiresistencia en 25,81 % de los aislamientos. De las cepas estudiadas, 100 % fue sensible a ceftriaxona, cefuroxima y norfloxacina; 28,57 % de los aislamientos resistentes a ampicilina produjeron la enzima beta lactamasa. La resistencia a cloranfenicol estuvo mediada por la producción de la enzima cloranfenicol acetil transferasa.

Palabras clave: *Haemophilus influenzae* no tipable, portadores nasofaríngeos, susceptibilidad antimicrobiana, beta lactamasa, cloranfenicol acetil transferasa.

Haemophilus influenzae no tipable (HiNT) es considerado como parte de la microbiota normal del tracto respiratorio superior (TRS) de los seres humanos con una frecuencia que varía entre 50-80 %; pero también pueden encontrarse en la vagina y el intestino como comensal.¹ Si bien el significado de su presencia en la nasofaringe se desconoce, la existencia de tasas de portadores inusualmente elevadas se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar infecciones respiratorias o sistémicas entre otras, pues se ha descrito que estas cepas suelen extenderse desde la nasofaringe colonizada y producir cuadros de otitis media, sinusitis, bronquitis y neumonía.² Los estudios realizados en países donde se ha llevado a cabo la implementación de la vacunación contra este agente, han enfatizado el protagonismo de HiNT como patógeno en casos esporádicos y brotes de enfermedades invasivas.³

Algunos autores han llegado a la conclusión, de que en los países donde existen altas tasas de portadores, también se reportan altas tasas de resistencia por el empleo de los agentes antimicrobianos, lo que pudiera estar asociado con diferencias en cuanto a la disponibilidad de antimicrobianos, la vía de administración y la dosis.⁴

El uso previo de antibióticos se ha correlacionado más con el nivel de resistencia antimicrobiana en las cepas aisladas del TRS de niños sanos, que con el propio porcentaje de colonización, no obstante la relación es muy estrecha, porque los agentes antimicrobianos eliminan cepas susceptibles favoreciendo una colonización selectiva por cepas resistentes, las que reemplazan la microbiota nasofaríngea normal.⁵ Ello puede ser la base de la hipótesis acerca del posible incremento de las infecciones por cepas de *H. influenzae* resistentes, debido a la selección de estas cepas en portadores.

¹ Máster en Bacteriología-Micología. Aspirante a Investigadora.

² Licenciada en Microbiología. Investigadora Auxiliar.

³ Máster en Bacteriología-Micología. Investigadora Agregada.

Se estudiaron 79 cepas de HiNT, aisladas de exudados nasales y faríngeos obtenidos de niños de la comunidad, menores de 5 años de edad, pertenecientes a 2 círculos infantiles del municipio Marianao. Estas cepas fueron obtenidas de un estudio previo realizado en el laboratorio del IPK en enero de 1998.

La confirmación de los aislamientos se llevó a cabo de acuerdo con las características morfológicas y culturales y los requerimientos nutricionales de factores V y X (BBL TAXO X y V FACTOR STRIPS, Becton Dickinson Microbiology System).⁶

La susceptibilidad antimicrobiana fue estudiada por el método de difusión en discos.⁷ Se comprobó además la producción de la enzima beta lactamasa por el método de la cefalosporina cromogénica (Nitrocefina, BBL) en láminas portaobjetos.⁸ La producción de la enzima cloranfenicol acetil transferasa (CAT) se determinó según el método de *Azemun* y otros.⁹

La resistencia encontrada en este estudio fue la siguiente: trimetoprim/sulfametoxazol (TMP-SMT): 41,77 %, tetraciclina: 18,99 %, ampicilina: 17,72 %, amoxicilina/ácido clavulánico: 7,59 %, cloranfenicol: 6,33 %. Se observó multiresistencia (resistencia a más de 3 antimicrobianos) en 25,81 % de las cepas, siendo importante destacar que 93,75 % de estos aislamientos multiresistentes fueron resistentes a ampicilina en combinación con tetraciclina, cloranfenicol, TMP-SMT y amoxicilina/ácido clavulánico. De las cepas estudiadas 100 % fue sensible a las cefalosporinas probadas (ceftriaxona y cefuroxima) y a la norfloxacina.

Tan sólo en 28,57 % de los aislamientos resistentes a ampicilina se observó producción de beta lactamasa, lo cual infiere el desarrollo de otros mecanismos de resistencia como pueden ser aquellos que involucran "rearrreglo" genético en una o varias proteínas fijadoras de la penicilina o en otras que intervienen en la función de permeabilidad de la membrana externa. Esta resistencia denominada también de tipo intrínseca, se ha observado fundamentalmente en cepas aisladas de secreciones bronquiales, de oído, nariz y garganta, las cuales en su mayoría son no capsuladas.¹⁰ En la opinión de los autores del trabajo este mecanismo de resistencia pudiera ser también el responsable

del comportamiento en los aislamientos, siendo necesarios estudios futuros en este sentido.

En el caso de los aislamientos resistentes al cloranfenicol, 100 % fue productor de la enzima cloranfenicol acetil transferasa. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por *Howard* y otros,¹¹ quienes reportaron que 100 % de los aislamientos de Hi resistentes a cloranfenicol, estudiados por ellos respectivamente, eran productores de esta enzima.

Los resultados obtenidos en este trabajo, constituyen el primer reporte acerca de la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de HiNT aisladas en Cuba, pues hasta la fecha no existe información publicada en ese sentido. Estos permitieron comprobar, que la resistencia en este tipo de cepas no constituye un problema en los 2 círculos infantiles estudiados, a excepción de la observada frente al TMP-SMT, para el cual los valores de resistencia sí fueron elevados. Este agente antimicrobiano es de uso frecuente entre la población infantil en Cuba, siendo ampliamente indicado en afecciones respiratorias en niños pequeños, lo cual permite explicar tan altos valores de resistencia. Estos resultados además son similares a los reportados internacionalmente en otras áreas geográficas.^{12,13}

Teniendo en cuenta que *H. influenzae* tipo b no constituye un problema grave actualmente en los países donde se ha llevado a cabo la vacunación contra este agente, por la eficacia de las vacunas existentes en el mercado, el estudio de las cepas no b resulta cada vez más importante, debido a su incremento en infecciones invasivas graves en la actualidad.^{3,14}

SUMMARY

Antimicrobial susceptibility of 79 non-typable *Haemophilus influenzae* isolations obtained from healthy children that attended two day-care centers in Marianao municipality. It was found resistance to trimetoprim/sulfamethoxazole (41,77 %), tetracycline (18,99), ampicilline (17,72 %), amoxicillin/clavulanic acid (7,59 %) and chloramphenicol (6,33 %). 25,81 % of isolates showed multiresistance. 100 % of studied cases was sensitive to ceftriaxone, cefuroxime and norfloxacin. 28,57 % of ampicilline-resistant isolates produced beta-lactamase enzyme. Chloramphenicol resistance was mediated by the production of chloramphenicol acetyltransferase enzyme.

Key words: Non-typable *Haemophilus influenzae*, nasopharyngeal carriers, antimicrobial susceptibility, beta-lactamase, chloramphenicol acetyl transferase.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dabernat H, Plisson-Saune MA, Delmas C, Seguy M, Faucon G, Pelissier R, et al. *Haemophilus influenzae* carriage in children attending French day care centers: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol* 2003;41:1664.
- Devarajan VR. *Haemophilus influenzae* infections. *E Med J* 2000; 2:1.
- Campos J. *Haemophilus influenzae* from the post vaccination era to antibiotic. *J Clin Microbiol Infect* 2000;7:287.
- Varon E, Levy C, De La Rocque F, Boucherat M, Defarache D, Podglajen I, et al. Impact of antimicrobial therapy on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Branhamella catarrhalis* in children with respiratory tract infections. *Clin Infect Dis* 2000;31:477.
- Marchisio P, Claut L, Rognoni A, Esposito S, Passali D, Bellussi L, et al. Differences in nasopharyngeal bacterial flora in children with nonsevere recurrent acute otitis media and chronic otitis media with effusion: implications for management. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:262.
- Mendelman PM, Smith AL. *Haemophilus influenzae*. En: Feigin RD, Cherry JD, eds. Textbook of pediatric infectious diseases. Philadelphia: W.B. Saunders 1992. p.1117-40.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility test; Eight Informational Supplement. NCCLS document M100-S8, Vol 18 No.1. 2000
- O'Callaghan CH, Morris A, Kirby SM, Shingler AM. Novel method for detection of b-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob Agents Chemother* 1972; 1:283-8.
- Azemun P, Stull T, Roberts M, Smith AL. Rapid detection of chloramphenicol resistance in *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;20:168.
- Hasegawa K, Yamamoto K, Chiba N, Kobayashi R, Nagai K, Jacobs MR, et al. Diversity of ampicillin resistance genes in *Haemophilus influenzae* in Japan and the United States. *Microb Drug Resist* 2003;9:39.
- Howard AJ, Dunkin KT, Millar GM. Nasopharyngeal carriage and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae* in healthy children. *Epidemiol Infect* 1998;100:193.
- Liassine N, Gervais A, Hegi R, Strautman G, Suter S, Auckenthaler R. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:217.
- Doern GV, Brown SD. Antimicrobial susceptibility among community-acquired respiratory tract pathogens in the USA: data from PROTEKT US 2000-01. *Antimicrob J Infect* 2004;48:56.
- Cerquetti M, Ciofi degli Atti ML, Renna G, Tossi AE, Garlaschi ML. Characterization of non-type b *Haemophilus influenzae* strains isolated from patients with invasive disease. *J Clin Microbiol* 2000;38:4649.

Recibido: 4 de febrero de 2003. Aprobado 4 de diciembre de 2003.
Lic. *Kiomy Fuentes Gort.* Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.
Teléf: 2020426. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu

CURSOS REGULARES

BIOSEGURIDAD EN LOS LABORATORIOS

- Especialidad:** Microbiología
- Sede:** Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Autopista Novia del Mediodía, Km 6, e/Autopista Este-Oeste y Carretera Central. Arroyo Arenas, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono: 220633, Fax: 53-7-246051 y 53-7-220633. Telex: 51-1902 y 512341, E.Mail: ciipk@ipk.sld.cu.
- Profesor principal:** Dr. Roberto Fernández Llanes, Profesor Auxiliar, Investigador Auxiliar, Especialista de II Grado en Microbiología del IPK. Dirección particular: Calle: 312, #2935, e/29 y 31, Reparto Fraga, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba, Carné de Identidad: 52050709262
- Profesor sustituto:** Dra. Ana Ma Gascón Fernández. Especialista en Medicina General Integral. Dirección Particular: Calle 310 e/ 21F y 21G apto 3 Balbosa Municipio Playa, Carné de Identidad: 65111004176
- Dirigido a:** Profesionales de laboratorio, médicos, licenciados o técnicos de salud. Debe presentar título universitario.

Objetivos:

Al concluir, los participantes serán capaces de:

- Obtener los conocimientos básicos sobre principios y prácticas de la Bioseguridad en los Laboratorios.

Temáticas:

- Los agentes biológicos y su utilización con distintos fines.
- Riesgos en los laboratorios biomédicos y su control.
- Enfermedades emergentes y reemergentes: su impacto sobre la salud y seguridad.
- Epidemiología de accidentes y enfermedades profesionales relacionadas con el laboratorio.
- Bioseguridad: Técnicas microbiológicas apropiadas
 - Equipos de seguridad
 - Diseño y operación de instalaciones de laboratorio
- Organización de la Seguridad Biológica.
- Aspectos legales y recomendaciones internacionales.

Modalidad: Curso.

Fecha: Del 17-26 noviembre 2003; 15-24 nov 2004

Tiempo docente: 80 horas.

Matrícula máxima: 15.

Idioma: Español.

Costo de matrícula: \$ 400.00 USD
