

Streptococcus pneumoniae: sensibilidade a penicilina e moxifloxacina*

Streptococcus pneumoniae: susceptibility to penicillin and moxifloxacin

Flávia Rossi, Maria Renata Gomes Franco,
Heleni Mota de Pina Rodrigues, Denise Andreazzi

Resumo

Objetivo: Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de penicilina parenteral e moxifloxacina contra cepas de *Streptococcus pneumoniae* isoladas em um centro hospitalar. **Métodos:** Estudo in vitro prospectivo de 100 isolados de *S. pneumoniae* coletados de pacientes tratados entre outubro de 2008 e julho de 2010 no complexo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em São Paulo (SP). Os isolados foram obtidos de culturas do trato respiratório e de amostras de sangue não relacionadas a infecções meningéas e foram testados quanto à suscetibilidade a penicilina e moxifloxacina por *E test*. As interpretações categóricas de CIM foram baseadas em padrões atualizados. **Resultados:** Todos os isolados foram suscetíveis a penicilina parenteral (CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$) e, conseqüentemente, eram também suscetíveis a amoxicilina, ampicilina, cefalosporinas de terceira e quarta geração e ertapenem. Quanto à moxifloxacina, 99% das cepas de *S. pneumoniae* também foram suscetíveis, e somente uma teve CIM = 1,5 $\mu\text{g/mL}$ (intermediário). **Conclusões:** Nossos resultados mostraram altas taxas de sensibilidade a penicilina parenteral e moxifloxacina nos isolados de *S. pneumoniae* não relacionados a meningite, o que difere de relatos internacionais. Relatos sobre resistência a penicilina devem ser baseados em pontos de corte atualizados para isolados não relacionados a meningite a fim de guiar a escolha terapêutica antimicrobiana e melhorar a predição dos desfechos clínicos.

Descritores: Resistência a medicamentos; Penicilina G; Infecções pneumocócicas; *Streptococcus pneumoniae*; Infecções respiratórias.

Abstract

Objective: To determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) of parenteral penicillin and moxifloxacin against *Streptococcus pneumoniae* strains isolated at a hospital center. **Methods:** In-vitro, prospective study involving 100 *S. pneumoniae* isolates collected from patients who had been treated, between October of 2008 and July of 2010, at the *Hospital das Clínicas* complex of the University of São Paulo School of Medicine, located in the city of São Paulo, Brazil. The isolates were obtained from respiratory tract cultures or blood samples unrelated to meningial infections, and they were tested for penicillin and moxifloxacin susceptibility by E-test. The MIC category interpretations were based on updated standards. **Results:** All isolates were fully susceptible to parenteral penicillin (MIC ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$), and, consequently, they were also susceptible to amoxicillin, ampicillin, third/fourth generation cephalosporins, and ertapenem. Of the *S. pneumoniae* strains, 99% were also susceptible to moxifloxacin, and only one strain showed an MIC = 1.5 $\mu\text{g/mL}$ (intermediate). **Conclusions:** Our results showed high susceptibility rates to parenteral penicillin and moxifloxacin among *S. pneumoniae* isolates unrelated to meningitis, which differs from international reports. Reports on penicillin resistance should be based on updated breakpoints for non-meningitis isolates in order to guide the selection of an antimicrobial therapy and to improve the prediction of the clinical outcomes.

Keywords: Drug resistance; Penicillin G; Pneumococcal infections; *Streptococcus pneumoniae*; Respiratory tract infections.

* Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Flávia Rossi. Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 2º andar, Bloco 3, Cerqueira César, CEP 05403-000, São Paulo, SP, Brasil.

Tel. 55 11 3069-6136. Fax: 55 11 5505-2480. E-mail: frossi@hcnet.usp.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Bayer do Brasil S.A.

Recebido para publicação em 30/9/2011. Aprovado, após revisão, em 28/11/2011.

Introdução

Streptococcus pneumoniae é o agente etiológico mais comum em pneumonia, meningite e infecções do ouvido médio. Nos países desenvolvidos, a incidência anual de doença pneumocócica invasiva varia de 11 a 17 por 100.000 habitantes.⁽¹⁾ Em pacientes hospitalizados com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), o agente microbiano mais comumente isolado é *S. pneumoniae*. A prevalência de PAC relacionada a *S. pneumoniae* é de 9-55% em pacientes internados e de 5-9% em pacientes ambulatoriais. Em infecções comunitárias adquiridas, o tratamento empírico pode ser orientado por estudos de vigilância epidemiológica local.⁽²⁾

As taxas de resistência a penicilina em cepas de pneumococo vêm aumentando em vários países, especialmente na Ásia; essas taxas podem variar, e dados locais atualizados são necessários a fim de melhorar o manejo dessas infecções. É importante identificar a fonte da infecção a fim de melhorar a aplicação dos atuais pontos de corte para sensibilidade a penicilina.⁽³⁾ Em um estudo conduzido em três países latino-americanos (Argentina, Brasil e México), detectou-se resistência global a penicilina em 15,3% dos isolados. A maior proporção de isolados completamente resistentes foi observada na Cidade do México (24,1%), e foi relativamente baixa na maioria dos centros no Brasil (8,1%).⁽⁴⁾ Entretanto, em 2008, o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) atualizou os pontos de corte para a sensibilidade de *S. pneumoniae* a penicilina com novas definições de categorias de acordo com a fonte clínica dos isolados (relacionados a meningite e não relacionados a meningite), com base em evidências farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Em estudos recentes no Brasil,⁽⁵⁾ nenhuma das cepas avaliadas revelou-se resistente a penicilina, isto é, com concentração inibitória mínima (CIM) $\geq 8 \mu\text{g/mL}$, quando foram aplicados os padrões atualizados do CLSI.⁽⁶⁾ As taxas de resistência de *S. pneumoniae* a fluoroquinolonas respiratórias, embora em geral muito baixas (< 1%), também surgiram em alguns países (como o Canadá, por exemplo) e, portanto, devem ser submetidas a atento monitoramento local.^(5,7) O objetivo do presente estudo foi determinar a CIM de penicilina e moxifloxacina contra cepas de *S. pneumoniae* isoladas em um hospital terciário.

Métodos

Trata-se de um estudo prospectivo in vitro de 100 isolados de *S. pneumoniae* coletados de pacientes (uma amostra por paciente) tratados entre outubro de 2008 e julho de 2010 em um dos dez hospitais que compõem o complexo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em São Paulo (SP). Os isolados foram obtidos de culturas do trato respiratório ou de amostras de sangue não relacionadas a infecções meningéas (isto é, isolados não relacionados a meningite), e sua sensibilidade tanto a penicilina como a moxifloxacina foi testada por meio do *E test* (AB Biodisk, Solna, Suécia). A CIM foi determinada em $\mu\text{g/mL}$, e as interpretações das categorias foram feitas com base em padrões atualizados.⁽⁶⁾ Os isolados foram classificados em sensíveis a penicilina parenteral, intermediários e resistentes a penicilina parenteral quando apresentaram CIM $\leq 2,0 \mu\text{g/mL}$, CIM = $4 \mu\text{g/mL}$ e CIM $\geq 8,0 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. No que tange à moxifloxacina, os isolados foram classificados em sensíveis, intermediários e resistentes quando apresentaram CIM $\leq 1,0 \mu\text{g/mL}$, CIM = $2 \mu\text{g/mL}$ e CIM $\geq 4,0 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. O controle de qualidade foi realizado por meio de *S. pneumoniae* ATCC 49619 de acordo com os padrões do CLSI.⁽⁶⁾

Todos os testes e a análise dos dados foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição.

Resultados

Dos 100 isolados de *S. pneumoniae*, 49 eram de culturas do trato respiratório (amostras de LBA, em 23; aspirados traqueais, em 19; líquido pleural, em 6 e secreção orofaríngea, em 1) e 51 eram de amostras de sangue. A média de idade dos pacientes foi de 38,4 anos (variação: 0,5-93,0 anos), e 65% dos pacientes eram do sexo masculino.

A aplicação dos pontos de corte para a sensibilidade de isolados não relacionados a meningite revelou que todos os isolados eram completamente sensíveis a penicilina parenteral (CIM $\leq 2 \mu\text{g/mL}$), com CIM na qual 50% e 90% dos isolados são inibidos (CIM50 e CIM90) de 0,012 e 0,500 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (variação: 0,002-1,500 $\mu\text{g/mL}$). Das cepas de *S. pneumoniae*, 99% eram também sensíveis a moxifloxacina, e

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana de moxifloxacina e penicilina em isolados de *Streptococcus pneumoniae* (n = 100).

Antimicrobiano	Critérios do CLSI, % de isolados			CIM, µg/mL		
	Resistente	Intermediário	Sensível	CIM50	CIM90	Varição
Moxifloxacina ^a	0	1	99	0,125	0,125	0,064-1,500
Penicilina ^b	0	0	100	0,012	0,500	0,002-1,500

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*; e CIM: concentração inibitória mínima. ^aLimites do ponto de corte para moxifloxacina: CIM ≤ 1 µg/mL (sensível); CIM = 2 µg/mL (intermediário) e CIM ≥ 4 µg/mL (resistente). ^bLimites do ponto de corte para penicilina: CIM ≤ 2 µg/mL (sensível); CIM = 4 µg/mL (intermediário) e CIM ≥ 8 µg/mL (resistente).

apenas uma cepa apresentou CIM de 1,5 µg/mL (intermediária), com CIM50 e CIM90 de 0,012 µg/mL (variação: 0,064-1,500 µg/mL; Tabela 1). As Figuras 1 e 2 resumem a distribuição dos isolados de acordo com a CIM para ambas as drogas.

Discussão

Cepas de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina podem modificar a estrutura de proteínas ligadoras de penicilinas, permitindo a síntese de peptidoglicanos não obstante a presença de penicilina. No presente estudo, não se observou resistência a penicilina parenteral, e a resistência a moxifloxacina foi muito baixa (apenas 1 isolado foi classificado em intermediário). Vale destacar que esses isolados relacionavam-se a infecções respiratórias e que os isolados de sangue não se relacionavam a meningite. Em janeiro de 2008, o CLSI publicou novos pontos de corte para a sensibilidade de *S. pneumoniae* (µg/mL) de

isolados não relacionados a meningite (isto é, de locais respiratórios ou outros locais).

Todos os isolados analisados apresentaram CIM de penicilina ≤ 2 µg/mL, e a definição do ponto de corte para a resistência de isolados não relacionados a meningite agora é CIM ≥ 8 µg/mL. Os pontos de corte anteriores para CIM de penicilina para cepas de *S. pneumoniae* sensíveis, intermediárias e resistentes eram ≤ 0,06 µg/mL, 0,12-1,00 µg/mL e ≥ 2 µg/mL, respectivamente, porém apenas para aquelas oriundas de isolados relacionados a meningite.⁽⁶⁾ Antes de 2008, mesmo um paciente infectado por uma cepa de *S. pneumoniae* resistente a penicilina poderia apresentar um bom desfecho clínico, devido às diferenças na farmacocinética da penicilina parenteral, e esse foi um dos principais motivos pelos quais o CLSI adotou novos pontos de corte em seus padrões, o que levou a melhores correlações clínicas e laboratoriais no que tange a infecções respiratórias. Mais importante, relatou-se que o

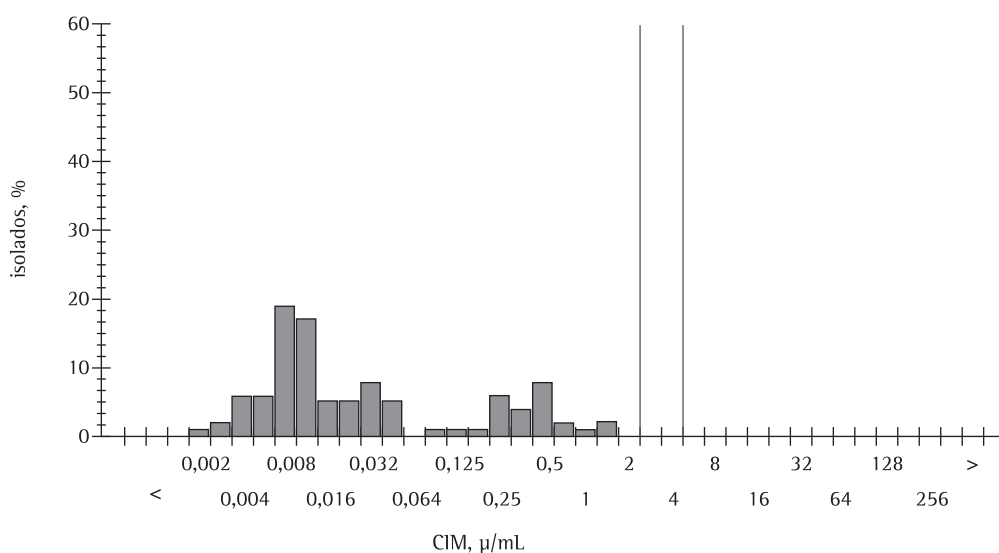


Figura 1 – Distribuição dos isolados de acordo com a concentração inibitória mínima (CIM) de penicilina contra *Streptococcus pneumoniae*. As linhas cheias representam os limites do ponto de corte (sensível: CIM = 2 µg/mL; intermediário: CIM = 4 µg/mL e resistente: CIM = 8 µg/mL).

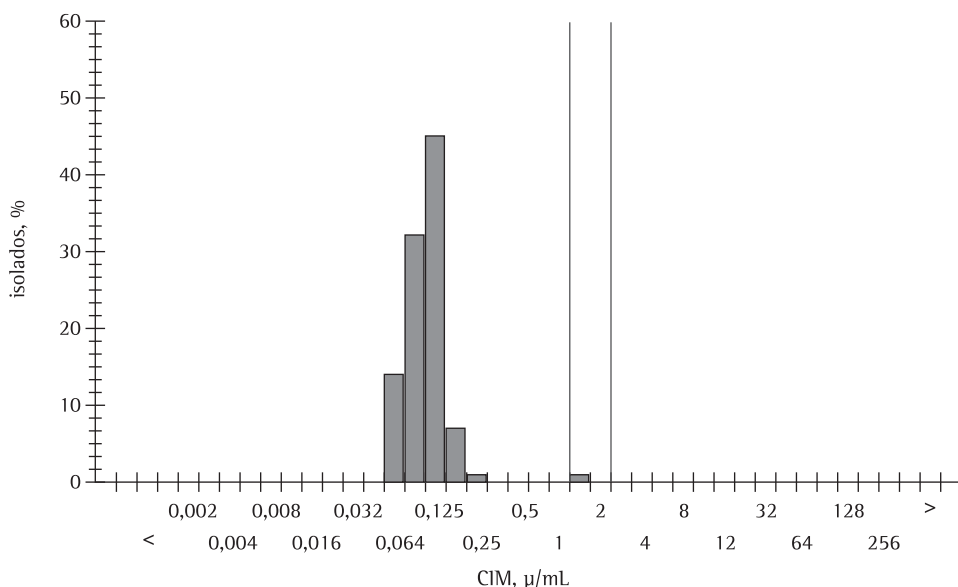


Figura 2 – Distribuição dos isolados de acordo com a concentração inibitória mínima (CIM) de moxifloxacina contra *Streptococcus pneumoniae*. As linhas cheias representam os limites do ponto de corte (sensível: CIM = 1 µg/mL; intermediário: CIM = 2 µg/mL e resistente: CIM = 4 µg/mL).

uso dos novos pontos de corte para decidir quais pacientes beneficiar-se-iam do tratamento com penicilina não causou um aumento das taxas de letalidade. Os resultados obtidos com penicilina parenteral podem ser extrapolados para amoxicilina, ampicilina, cefalosporinas (de terceira e quarta geração) e ertapenem. Entretanto, os novos critérios não se aplicam à penicilina V (oral), já que esta apresenta parâmetros farmacocinéticos distintos, sendo considerados resistentes os isolados que apresentam CIM $\geq 0,06$ µg/mL. No Brasil, durante a década de 1990, a prevalência de resistência na região sudeste do país era de menos de 5%; em 2003, a resistência de isolados pneumocócicos invasivos variava de 7,2% a 8,1%; no entanto, essas taxas estão relacionadas aos pontos de corte antigos.⁽⁹⁾ Um estudo recente de vigilância no Brasil mostrou que, com os novos pontos de corte, a resistência a penicilina caiu de 33% para 1%, e apenas 1 isolado apresentou resistência intermediária à medicação.⁽¹⁰⁾ Entretanto, naquele estudo, não obstante as baixíssimas taxas de resistência a penicilina, os isolados apresentaram taxas de resistência a cotrimoxazol, tetraciclina, eritromicina e clindamicina de 80%, 21%, 13% e 13%, respectivamente, ao passo que apenas 1 isolado apresentou resistência a ceftriaxona.⁽¹⁰⁾

Em uma revisão realizada nos Estados Unidos, foram relatados os efeitos dos novos pontos de

corte para sensibilidade a penicilina, e, conforme se esperava, verificou-se uma diminuição global das taxas de cepas intermediárias e resistentes.⁽¹¹⁾ Não avaliamos a resistência em outras classes, o que constitui uma limitação de nosso estudo.

Em nosso estudo, 99% dos isolados revelaram-se completamente sensíveis a moxifloxacina, e apenas 1 isolado apresentou resistência intermediária. Resultados similares foram obtidos em outro estudo, no qual 426 isolados de *S. pneumoniae* apresentaram sensibilidade de 99,3% a moxifloxacina.⁽¹²⁾ Relatou-se que as taxas de resistência a moxifloxacina nos Estados Unidos e no Canadá são de 0,1-0,3% e 0,3-1,4%, respectivamente, contra aproximadamente 0,9% e 0,3% na Europa e na Ásia, respectivamente.^(3,13-15) Mendes et al. também encontraram baixíssima prevalência global de resistência a fluoroquinolonas na América Latina (0,8%), sendo que 1 isolado (0,4%) no Brasil e 3 (1,5%) no México apresentaram resistência total a levofloxacina (CIM ≥ 8 µg/mL).⁽⁴⁾

A moxifloxacina apresenta maior ação contra pneumococos porque tem maior afinidade com a DNA girase do que gerações mais antigas de fluoroquinolonas. Demonstrou-se que a moxifloxacina seleciona cepas resistentes menos comumente, principalmente porque é mais volumosa e menos hidrofílica, exibindo menor afinidade com o mecanismo de efluxo.⁽¹⁶⁾ Embora

alguns relatos tenham descrito o desenvolvimento de resistência em cepas de *S. pneumoniae* durante o tratamento com fluoroquinolonas, a resistência a moxifloxacina parece ser menos comum, devido ao perfil favorável, que está relacionado a uma baixa concentração de prevenção de mutantes em comparação com outras fluoroquinolonas.^(7,17) Em estudos recentes, avaliou-se a eficácia da moxifloxacina no tratamento de pacientes com PAC e verificou-se que o uso de tratamento com fluoroquinolonas promove alta hospitalar mais precoce e melhora tanto a adesão ao tratamento como a qualidade de vida, o que potencialmente resulta em redução de custos. Embora o uso global de fluoroquinolonas venha aumentando, investigações têm revelado uma diminuição de pneumococos resistentes a fluoroquinolonas.⁽¹⁸⁾

A atividade antimicrobiana *in vitro* de medicações utilizando cepas isoladas localmente é um ponto-chave na seleção de terapias apropriadas para infecções respiratórias. Entretanto, devem ser considerados também fatores como o estado imunológico, a idade e a presença de comorbidades (no que tange a pacientes), bem como doses, efeitos colaterais, farmacocinética, farmacodinâmica e custos (no que tange a medicações). De acordo com diversas diretrizes para PAC, a monoterapia com fluoroquinolona deve ser considerada somente em pacientes ambulatoriais com PAC e comorbidades ou naqueles que recentemente receberam antibioticoterapia, bem como em pacientes internados com doença de leve a moderada como alternativa à associação de um betalactâmico com um macrolídeo.⁽⁵⁾ Outro grupo de autores sugeriu o uso de amoxicilina associada a um inibidor de betalactamase como primeira opção terapêutica para PAC, e o uso de fluoroquinolonas deve ser limitado a adultos nos quais o tratamento inicial falhou, a pacientes alérgicos a agentes alternativos, como a penicilina, ou a pacientes com infecção por *S. pneumoniae* cuja resistência a penicilina seja comprovadamente elevada.⁽¹⁹⁾

Em conclusão, a resistência de *S. pneumoniae* a penicilina parenteral e a moxifloxacina revelou-se muito baixa nos isolados investigados. Relatos sobre resistência a penicilina devem ser baseados nos pontos de corte atualizados do CLSI para isolados não relacionados a meningite a fim de melhorar a predição dos desfechos clínicos. A vigilância contínua deve ser encorajada a fim de detectar possíveis mudanças nessa tendência.

Referências

1. Low DE. Changing trends in antimicrobial-resistant pneumococci: it's not all bad news. *Clin Infect Dis*. 2005;41 Suppl 4:S228-33.
2. Mandell LA. Epidemiology and etiology of community-acquired pneumonia. *Infect Dis Clin North Am*. 2004;18(4):761-76, vii.
3. Song JH, Jung SI, Ko KS, Kim NY, Son JS, Chang HH, et al. High prevalence of antimicrobial resistance among clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asia (an ANSORP study). *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):2101-7.
4. Mendes C, Marin ME, Quiñones F, Sifuentes-Osornio J, Siller CC, Castanheira M, et al. Antibacterial resistance of community-acquired respiratory tract pathogens recovered from patients in Latin America: results from the PROTEKT surveillance study (1999-2000). *Braz J Infect Dis*. 2003;7(1):44-61.
5. Corrêa Rde A, Lundgren FL, Pereira-Silva JL, Frare e Silva RL, Cardoso AP, Lemos AC, et al. Brazilian guidelines for community-acquired pneumonia in immunocompetent adults - 2009. *J Bras Pneumol*. 2009;35(6):574-601.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI Publication M100-S20; 2010.
7. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis*. 2007;44 Suppl 2:S27-72.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement. CLSI Publication M100-S17; 2007.
9. Brandileone MC, Casagrande ST, Guerra ML, Zanella RC, de Andrade AL, Di Fabio JL. Increase in penicillin resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Brazil after 1999. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(2):437-9.
10. Wolkers PC, Mantese OC, Paula A, Almeida VV, Aguiar PA, Alvares JR, et al. New susceptibility breakpoints in antimicrobial resistance rates of invasive pneumococcal strains. *J Pediatr (Rio J)*. 2009;85(5):421-5.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Effects of new penicillin susceptibility breakpoints for *Streptococcus pneumoniae*--United States, 2006-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2008;57(50):1353-5.
12. Jacobs E, Dalhoff A, Korfmann G. Susceptibility patterns of bacterial isolates from hospitalised patients with respiratory tract infections (MOXIATIV Study). *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33(1):52-7.
13. Brueggemann AB, Coffman SL, Rhomberg P, Huynh H, Almer L, Nilius A, et al. Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* in United States since 1994-1995. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(3):680-8.
14. Zhanel GG, Palatnick L, Nichol KA, Bellyou T, Low DE, Hoban DJ. Antimicrobial resistance in respiratory tract *Streptococcus pneumoniae* isolates: results of the Canadian Respiratory Organism Susceptibility Study, 1997 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(6):1867-74. Erratum in: *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(8):2716.
15. Johnson AP, Warner M, George RC, Livermore DM. Activity of moxifloxacin against clinical isolates of *Streptococcus*

- pneumoniae from England and Wales. *J Antimicrob Chemother.* 2001;47(4):411-5.
16. Pletz MW, McGee L, Jorgensen J, Beall B, Facklam RR, Whitney CG, et al. Levofloxacin-resistant invasive *Streptococcus pneumoniae* in the United States: evidence for clonal spread and the impact of conjugate pneumococcal vaccine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(9):3491-7.
17. Davidson R, Cavalcanti R, Brunton JL, Bast DJ, de Azavedo JC, Kibsey P, et al. Resistance to levofloxacin and failure of treatment of pneumococcal pneumonia. *N Engl J Med.* 2002;346(10):747-50.
18. McGeer A, Green K, Tyrrell G, Plevnesi A, Pong-Porter S, Ma C, et al. Re-establishment of susceptibility to respiratory fluoroquinolones (FQ) in *Streptococcus pneumoniae* in at-risk populations in Toronto, Canada. In: *Proceedings of the 48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 2008 Oct 25-28; Washington, United States. Washington: American Society for Microbiology; 2008. p. L-661.
19. Bantar C, Curcio D, Jasovich A, Bagnulo H, Arango A, Bavestrello L, et al. Updated acute community-acquired pneumonia in adults: Guidelines for initial antimicrobial therapy based on local evidence from the South American Working Group (ConsenSur II) [Article in Spanish]. *Rev Chilena Infectol.* 2010;27 Suppl 1:S9-S38.

Sobre os autores

Flávia Rossi

Diretora. Laboratório de Microbiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Maria Renata Gomes Franco

Coordenadora. Laboratório de Microbiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Heleni Mota de Pina Rodrigues

Coordenadora-Chefe. Laboratório de Microbiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Denise Andreazzi

Coordenadora de Telemicrobiologia. Disciplina de Telemedicina, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.