

 **ALERTA**

**INCREMENTO Y REEMERGENCIA DE  
AISLAMIENTOS DE *Neisseria  
gonorrhoeae* CON BAJA Y ALTA  
RESISTENCIA A LA AZITROMICINA EN  
ARGENTINA**

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS  
SERVICIO ENFERMEDADES DE TRANSMISION SEXUAL  
PROGRAMA DE VIGILANCIA DE LA SENSIBILIDAD  
ANTIMICROBIANA DE GONOCOCO (PROVSAG)**

CIUDAD AUTONOMA DE BUENOS AIRES,  
AGOSTO DEL 2020

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Servicio de Enfermedades de Transmisión Sexual. Incremento y reemergencia de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* con baja y alta resistencia a la azitromicina en Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: ANLIS Dr. C.G. Malbrán, 2020. (Alerta INEI-ETS, 2020-01)  
Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1635>

**“Este recurso es el resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899 y la política de gestión del conocimiento de la ANLIS”.**



[Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**ALERTA: INCREMENTO Y REEMERGENCIA DE  
AISLAMIENTOS DE *Neisseria gonorrhoeae* CON BAJA Y  
ALTA RESISTENCIA A LA AZITROMICINA EN ARGENTINA**

**Ciudad Autónoma de  
Buenos Aires, Argentina -  
Agosto, 2020**

## ÍNDICE

ÍNDICE	4
INTRODUCCIÓN	5
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	6
MARCO TEÓRICO	6
METODOLOGÍA	7
RESULTADOS	8
Origen y características epidemiológicas de aislamientos resistentes a la azitromicina en Argentina	8
Caracterización molecular de aislamientos resistentes a la azitromicina	8
CONCLUSIONES	10
RECOMENDACIONES	10
Presentación clínica y diagnóstico de laboratorio.	10
Sugerencia para la detección de aislamientos resistentes a azitromicina	11
Derivación al LNR para confirmación molecular de los aislamientos.	12
BIBLIOGRAFÍA	13
MATERIAL COMPLEMENTARIO	13

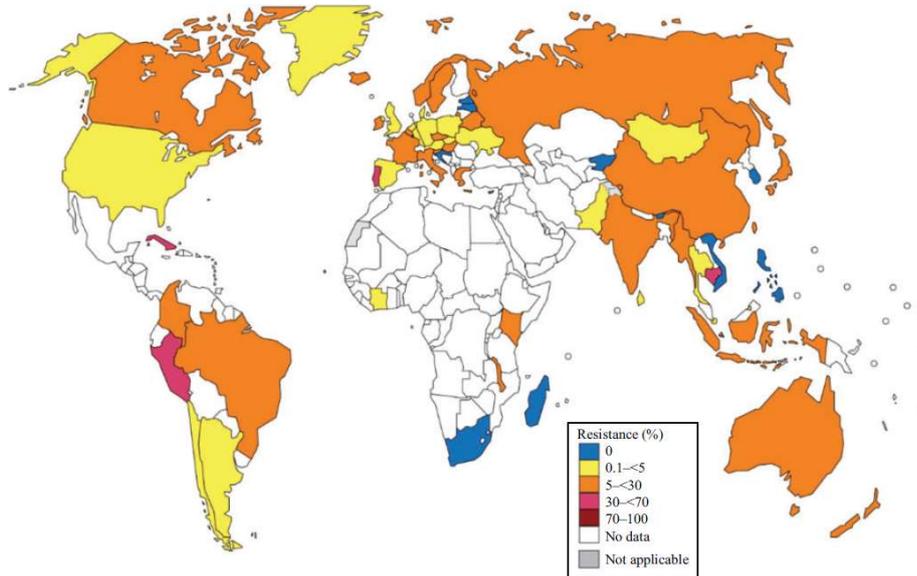
## INTRODUCCIÓN

La gonorrea es una infección de transmisión sexual causada por *N. gonorrhoeae* y representa una prioridad de salud pública a nivel global. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que aproximadamente 78 millones de casos nuevos ocurren cada año a nivel mundial, de los cuales 11 millones corresponden al continente americano (1). Afecta principalmente epitelios mucosos como el de la uretra, endocervix, recto, faringe y conjuntiva. La infección no complicada del tracto genital inferior se manifiesta como uretritis en hombres y cervicitis en mujeres. Si bien, las infecciones en hombres cursan en forma sintomática ( $\geq 90\%$ ), un bajo porcentaje de mujeres ( $< 50\%$ ) presentan sintomatología. Las infecciones extragenitales como faríngea y rectal cursan en mayor medida en forma asintomática, resultando localizaciones de importancia para el mantenimiento de la infección. En ausencia de un tratamiento o diagnóstico apropiado, esta infección puede llevar a complicaciones en el tracto genital superior o la diseminación al torrente sanguíneo y la presentación de infección gonocócica diseminada (2). Las infecciones complicadas se manifiestan como prostatitis o epididimitis en hombres y salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EPI), embarazo ectópico en mujeres. Además, estudios mostraron a la gonorrea como factor de riesgo en facilitar la transmisión y adquisición del VIH (3).

Actualmente, azitromicina es uno de los antibióticos de primera línea recomendado dentro del esquema de terapia antimicrobiana dual en muchos países. La utilización de este macrólido para el tratamiento de la gonorrea y las infecciones de otros agentes causales de ITS como por ejemplo *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma genitalium*, llevó a la emergencia de cepas resistentes (1). Si bien, azitromicina tiene buena actividad sobre *N. gonorrhoeae*, la rápida selección de aislamientos resistentes y los posibles efectos adversos con dosis de 2 gr., limitan su utilización como monoterapia empírica. Aislamientos con bajo (CIM: 2 - 8  $\mu\text{g/ml}$ ) y elevado (CIM:  $\geq 256 \mu\text{g/ml}$ ) nivel de resistencia a azitromicina fueron reportados en distintos países a nivel global (4, 5). Datos recientes del Programa Global de Vigilancia de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en *N. gonorrhoeae* de la OMS (*World Health Organization - Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program, WHO-GASP*), muestran para el año 2016 a un total de 29 países en distintas áreas geográficas reportando niveles de resistencia a azitromicina  $\geq 5\%$  (Figura 1) (6). Este porcentaje de resistencia representa el valor recomendado por la OMS como límite para que un antibiótico pueda ser utilizado como terapia empírica de primera línea en el tratamiento de la gonorrea (6). La reciente emergencia de aislamientos con resistencia a ceftriaxona y azitromicina comprometen la utilización de estas drogas en la actual estrategia de terapia antimicrobiana dual de primera línea (7, 8). La emergencia de aislamientos de *N. gonorrhoeae* resistentes a estos antimicrobianos, sumado a la ausencia de alternativas terapéuticas para el tratamiento de la gonorrea, llevan a considerar a esta infección como un grave problema de salud pública.

Estudios moleculares de los mecanismos que conllevan al fenotipo de resistencia a azitromicina en *N. gonorrhoeae*, mostraron la detección de distintos mecanismos asociados (9). Los aislamientos con bajo nivel de resistencia presentan: mutación en la posición C2611 (numeración referida a *E. coli*) de la peptidil-transferasa (V) del ARNr 23S, modificación enzimática por metilasas (genes *ermB* o *ermF*), sobreexpresión de bombas de eflujo como MtrCDE, MacA-MacB y bombas de eflujo codificada por genes *mef* (9). Por otra parte, los aislamientos con elevado nivel de resistencia mostraron como mecanismo de resistencia asociado, mutación en la posición A2059 (numeración referida a *E. coli*) de la peptidil-transferasa (V) del ARNr 23S (9).

**Figura 1.** Porcentajes de aislamientos de *N. gonorrhoeae* con resistencia a azitromicina reportados al WHO-GASP en 2016.



## JUSTIFICACIÓN

El Programa Nacional de Vigilancia de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en *Neisseria gonorrhoeae* (PROVSAG), dentro del marco de la Red Nacional de Infecciones de Transmisión Sexual, realiza esta vigilancia desde el año 1980 para monitorear la aparición y distribución de aislamientos resistentes en el país y contribuir a las pautas nacionales de tratamiento de la gonorrea.

Como Centro Nacional de Referencia en Enfermedades de Transmisión Sexual y Laboratorio de Referencia para la Gonorrea, es nuestro deber alertar a las autoridades sanitarias y a la comunidad científica del país, sobre la emergencia de resistencias que puedan afectar el normal manejo de la gonorrea. Por otra parte, el estudio molecular de los aislamientos involucrados nos permite la identificación de los clones circulantes y la eventual detección de brotes epidémicos.

## OBJETIVOS

- 1- Alertar sobre el aumento y la reemergencia de aislamientos de *N. gonorrhoeae* con baja y alta resistencia a la azitromicina, respectivamente.
- 2- Realizar la caracterización molecular y detección de clones circulantes de los aislamientos resistentes.
- 3- Proveer herramientas diagnósticas para el tamizaje y detección de la resistencia a azitromicina.

## MARCO TEÓRICO

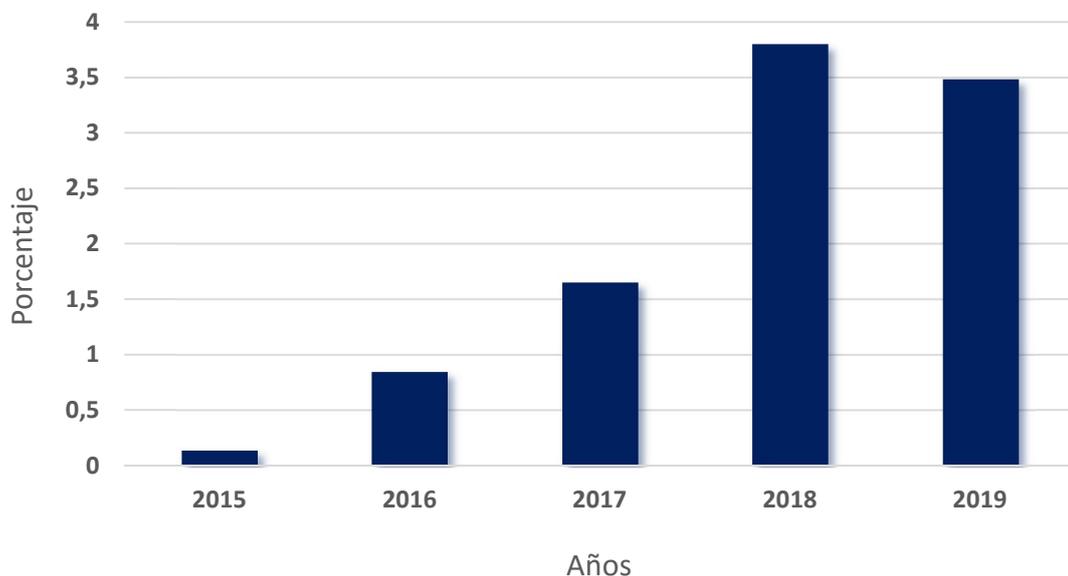
Actualmente en nuestro país, azitromicina 2 gr dosis única se recomienda como terapia alternativa para el tratamiento de la gonorrea (10). Además, este antimicrobiano es utilizado para el tratamiento de infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma genitalium*, aun ante la sospecha y sin

confirmación de la infección en todos los casos. Los datos del PROVSAG mostraron un incremento de aislamientos con baja resistencia a la azitromicina desde 0,1% en 2015 a 4,3 % en 2018 ( $p < 0.05$ ), situación que llamo nuestra atención.

Cabe destacar, que dada la complejidad de las técnicas para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en *N. gonorrhoeae*, la vigilancia se realiza posteriormente al cierre del año anterior.

El incremento observado, priorizó el estudio de los aislamientos que derivaban los laboratorios del PROVSAG y, que demostraron resistencia en el tamizaje con la técnica de difusión con discos y en la posterior confirmación por la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM), durante el año 2019 (Figura 2).

**Figura 2.** Aislamientos de *N. gonorrhoeae* con resistencia a azitromicina ( $CIM \geq 2 \mu g/ml$ ). Argentina, periodo 2015 a 2019.



## METODOLOGÍA

Los laboratorios del PROVSAG derivaron en el período 2015-2019 un total de 4046 aislamientos de *N. gonorrhoeae* para la vigilancia. Se realizó el diagnóstico referencial mediante la identificación presuntiva y confirmatoria por Maldi Tof MS, y se conservaron los aislamientos a  $-80^{\circ}C$  en caldo tripticasa soya/glicerol 20% hasta su procesamiento para estudios de sensibilidad.

Las técnicas de difusión por discos y dilución en agar se realizaron de acuerdo con lo establecido por los documentos M07-A10 y M02-A11 del CLSI. La cepa de referencia ATCC 49226 y el panel OMS 2008 se utilizaron como control de calidad de las determinaciones.

El estudio molecular se realizó a través de la secuenciación de genoma completo de todos los aislamientos con la plataforma Miseq (Illumina) usando la química V2. Se realizó el análisis bioinformático donde se estudiaron los principales determinantes de resistencia a AZM (mtrR, ARNr 23S), y genotipificación con NG-MAST y MLST de la secuencia.

## RESULTADOS

### Origen y características epidemiológicas de aislamientos resistentes a la azitromicina en Argentina

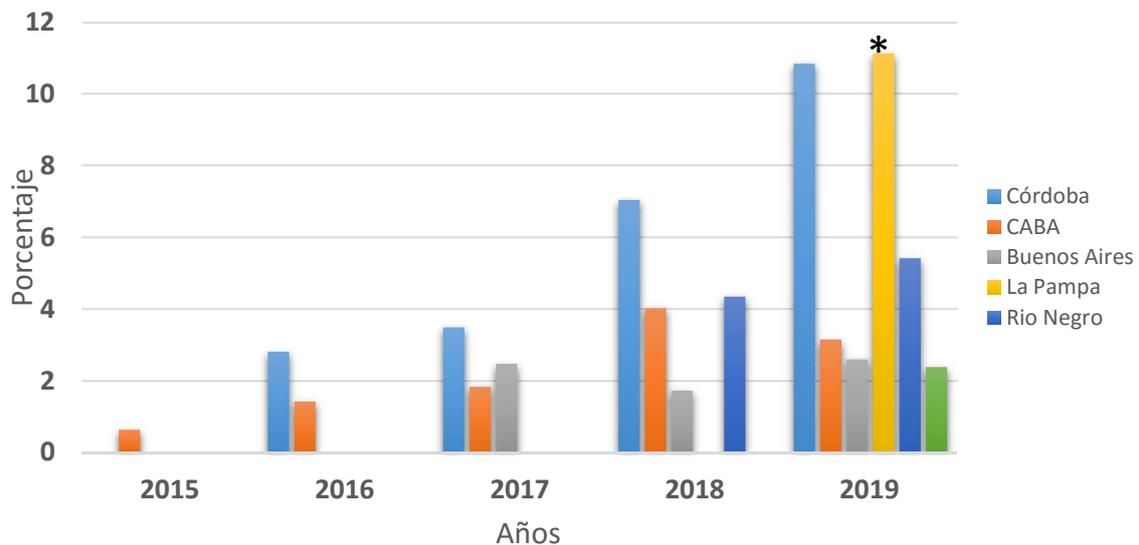
En el periodo 2015 – 2018, la distribución geográfica de los aislamientos resistentes a la azitromicina evidenció su circulación en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y en las provincias de Córdoba y Buenos Aires, con solo un aislamiento en el año 2018 fuera de estas localizaciones geográficas y proveniente de la provincia de Río Negro. Para el año 2019, ya se habían diseminado a otras dos provincias (Figura 3).

En CABA se observó un incremento de 0,6% en 2015 a 4,1% en 2019 ( $p < 0.05$ ), y en la provincia de Buenos Aires un 2,5% en 2017 y 2,6% en 2019, sin diferencia significativa. En este año, se detectaron aislamientos con baja resistencia en las provincias de La Pampa ( $n=1$ ; 11,1%), Neuquén ( $n=2$ ; 2,4%), Río Negro ( $n=2$ ; 5,4%), y principalmente en la provincia de Córdoba, donde el incremento fue de 10,8% (13/120) respecto del año 2016 donde había alcanzado un 2,8% (Figura 3).

En Argentina, un aislamiento con alta resistencia a la azitromicina fue detectado y caracterizado en el año 2001 (11). Sin embargo, aislamientos con este fenotipo de resistencia fueron nuevamente observados en 2018 ( $n=1$ ; provincia de Buenos Aires) y 2019 (CABA,  $n=2$  y Córdoba,  $n=1$ ).

Los datos demográficos mostraron que el 93,8% de los aislamientos correspondieron a pacientes de sexo masculino y un 6,2% al sexo femenino. El rango etario fue 4 a 47 años, con una edad promedio de 24,5 años, y en un 76,5% de los pacientes la edad fue  $< 30$  años. El origen de recuperación de los aislamientos fue 93,9% genital, 1,2% fauces y 4,9% fueron de origen desconocido.

**Figura 3.** Distribución por provincia de aislamientos de *N. gonorrhoeae* con resistencia a la azitromicina, periodo 2015 a 2019.



\* Porcentaje de resistencia basado en la derivación de un total de nueve aislamientos en el año 2019.

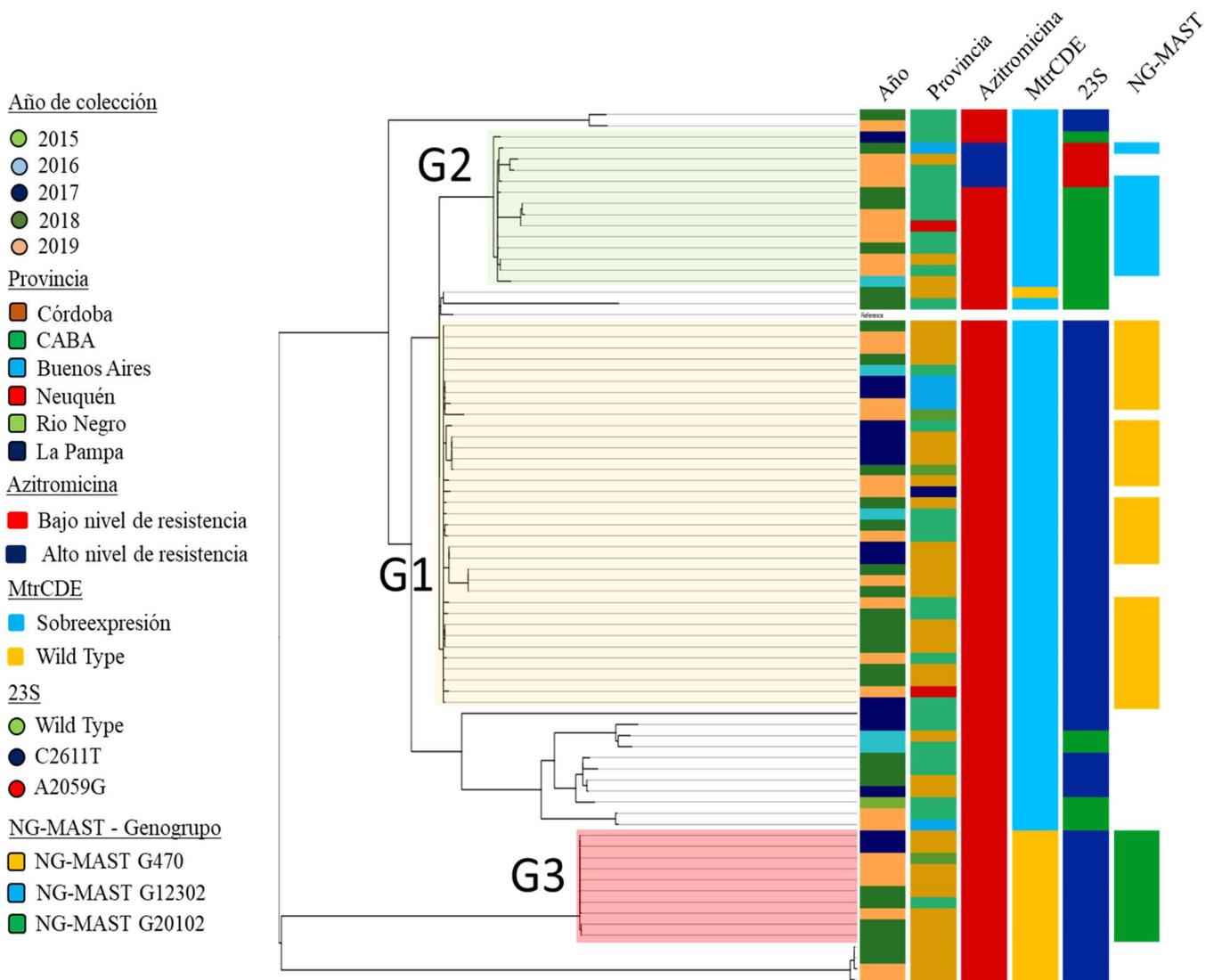
### Caracterización molecular de aislamientos resistentes a la azitromicina

El estudio molecular de los aislamientos a través de la secuenciación de genoma completo confirmó el fenotipo de resistencia. Los aislamientos con baja resistencia a azitromicina mostraron la mutación C2611T en el ARNr 23S (76,6%) y sobreexpresión de la bomba de eflujo MtrCDE (81,8%) (Figura 4).

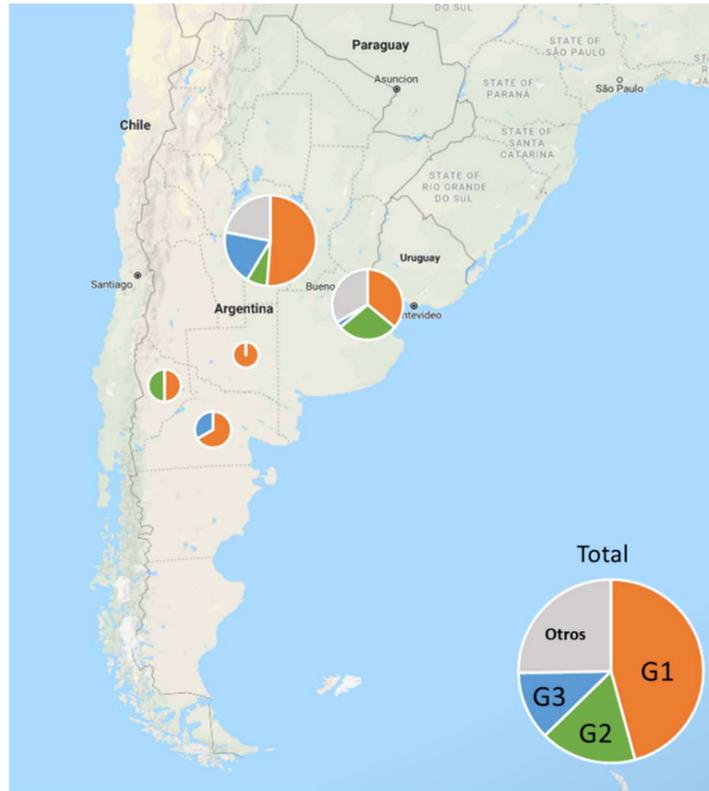
Además, la mutación A2059G se observó en todos los aislamientos con alta resistencia a azitromicina.

El estudio de la dinámica clonal de la población a través del análisis de polimorfismos de nucleótido único ('single nucleotide polymorphisms', SNPs) basado en referencia, permitió la identificación de tres grupos clonales (G) (Figura 4). El grupo clonal 1 (G1) correspondió al genogrupo NG-MAST ST470 y representó el grupo mayoritario con el 45,8% del total de aislamientos. El grupo clonal 2 (G2) y 3 (G3) se correspondieron al genogrupo NG-MAST ST12302 y ST20102, y representaron el 16,9% y 12,0% de los aislamientos, respectivamente. Los grupos G1 y G3 estuvieron asociados a aislamientos con baja resistencia a la azitromicina. Sin embargo, los aislamientos en el grupo G2 mostraron un fenotipo de alta o baja resistencia. El grupo G1 mostró una persistencia temporal en el periodo de estudio y se correspondió con >30% de los aislamientos para cada uno de los años (2016 a 2019). Además, este grupo resultó el predominante en todas las provincias con presencia de aislamientos resistentes a la azitromicina (Figura 5). Los aislamientos del grupo G2 y G3 circularon en mayor medida en Buenos Aires y Córdoba, con aislamientos esporádicos en las provincias de Neuquén y Río Negro, respectivamente.

**Figura 4.** Análisis filogenético de aislamientos con alta y baja resistencia a la azitromicina en Argentina. Período 2015 – 2019 (N=81)



**Figura 5.** Distribución de grupos clonales de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* con resistencia a la azitromicina en Argentina (2015-2019)



## CONCLUSIONES

Este estudio mostro el aumento de aislamientos con baja y alta resistencia a la azitromicina diseminados en seis regiones del país (Córdoba, Buenos Aires, CABA, La Pampa, Río Negro y Neuquén) hasta el año 2019. Además, evidenció la presencia de clones circulantes predominantes (G1 y G2) en estas regiones geográficas.

Estos hallazgos muestran a la provincia de Córdoba como la principal zona geográfica de circulación y expansión de estos aislamientos a nivel nacional. Además, los porcentajes de resistencia a la azitromicina observados en las provincias de Córdoba y Río Negro (10,8% y 5,4%, respectivamente), llevan a considerar la utilización de azitromicina para el tratamiento de la gonorrea, debido a que supera el valor límite del 5% de resistencia propuesto por la OMS para tratamiento empírico.

Se resalta la importancia del fortalecimiento de la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en *N. gonorrhoeae* y la continuación de estudios de genotipificación y epidemiología molecular para evaluar la evolución y/o emergencia de clones circulantes.

## RECOMENDACIONES

### Presentación clínica y diagnóstico de laboratorio.

La búsqueda de gonorrea es esencial para pacientes sintomáticos, contactos de pacientes infectados y pacientes con conocimiento de conductas de riesgo. Se sugiere el screening de localización faríngea y/o rectal en población de riesgo (hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), bisexuales,

etc.) o personas con conductas de riesgo (sexo oro-genital, sexo oro-anal y utilización de saliva como lubricante en la relación sexual).

En personas de sexo masculino el período de incubación es de 2 a 5 días y la presentación genital se caracteriza por una secreción uretral francamente purulenta. Además, se observa disuria habitualmente sin micción imperiosa o polaquiuria. En personas de sexo femenino la manifestación más frecuente es la cervicitis, la cual se presenta con secreción vaginal purulenta o mucopurulenta y dispareunia, y habitualmente disuria sin micción imperiosa o polaquiuria. Las localizaciones extragenitales como faringe y recto cursan frecuentemente en forma asintomática. Sin embargo, pueden presentarse como una faringitis típica en la infección faríngea, y con secreción anal, dolor y prurito en la infección rectal.

El diagnóstico de gonorrea se establece por la detección de *N. gonorrhoeae* en el sitio de infección, mediante el cultivo o a través de la utilización de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAANs), ver Nota<sup>1</sup>. Se sugiere en todo paciente diagnosticado por TAANs, tomar una muestra para cultivo y estudio de sensibilidad a los antimicrobianos previo a la instauración del tratamiento empírico (Figura 6). En caso de que el tiempo de obtención del resultado diagnóstico limite la instauración del tratamiento antibiótico, se deberá obtener una muestra para cultivo y TAAN, previo al tratamiento.

### Sugerencia para la detección de aislamientos resistentes a azitromicina

Las tiras de gradientes a azitromicina disponibles en el país son aptas para la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y la detección de aislamientos resistentes. La interpretación del resultado del método epsilométrico puede realizarse con el punto de corte para CIM indicado en el documento M100 29th del CLSI (sensible:  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ). Sin embargo, este documento no dispone de puntos de corte en azitromicina para la prueba de difusión con discos. Estudios de correlación entre CIM y difusión con discos (azitromicina  $15 \mu\text{g}$ ) realizados en este Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) mostraron una asociación con alto grado de confianza de halos  $\geq 27 \text{ mm}$  y CIMs en la categoría de sensible. Mientras que, aislamientos con halos  $\leq 26 \text{ mm}$  se correspondieron con CIMs resistentes. Por lo tanto, se sugiere la incorporación del disco de azitromicina de  $15 \mu\text{g}$  al método de difusión como tamizaje.

#### Antibiograma mínimo

1. Penicilina
2. Tetraciclina
3. Ciprofloxacina
4. Cefixima
5. Ceftriaxona
- 6 Azitromicina  $15 \mu\text{g}^*$

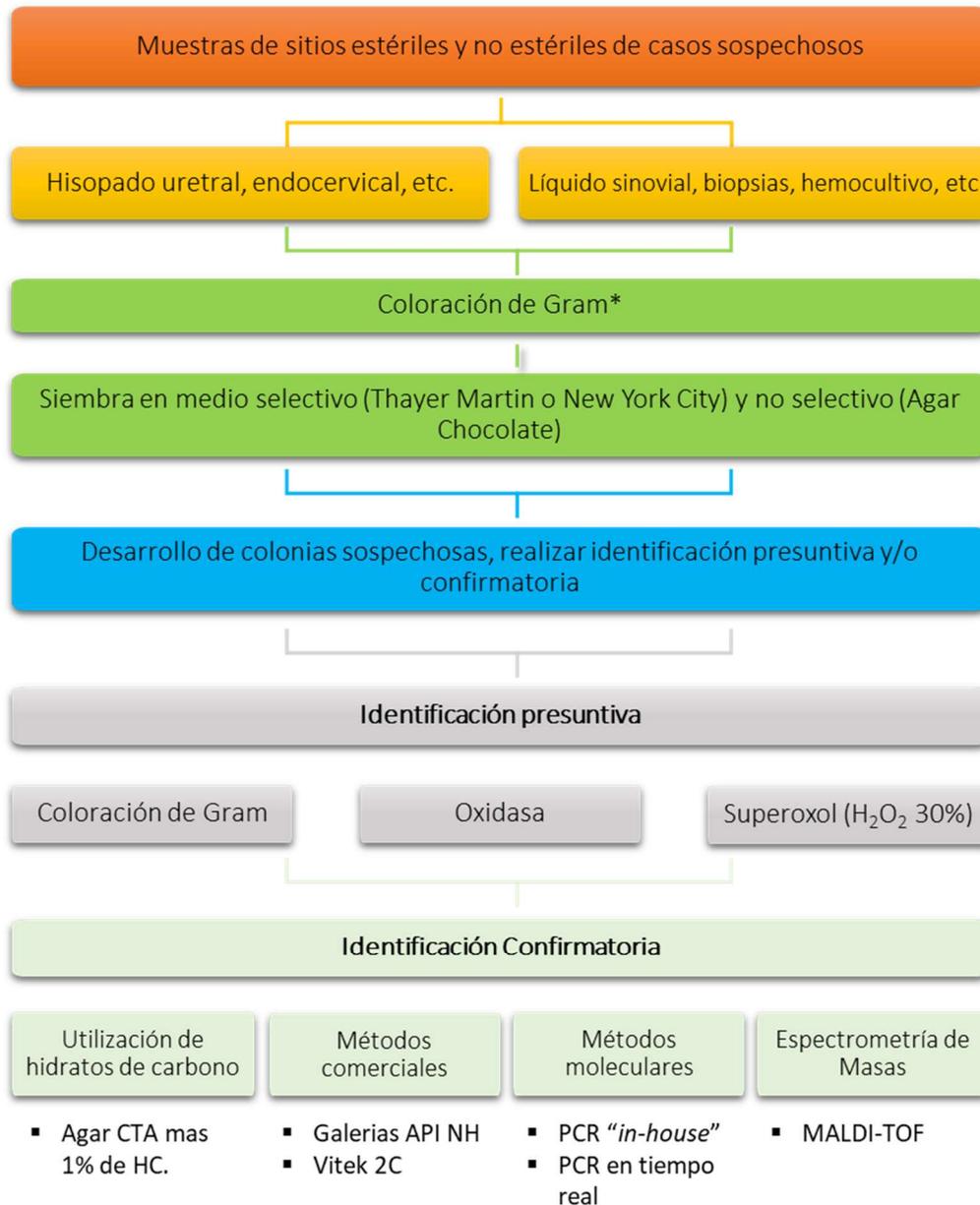
\*Sensible:  $\geq 27 \text{ mm}$ ; Resistente:  $\leq 26 \text{ mm}$ .

<sup>1</sup> Los TAANs disponibles en nuestro país presentan un alcance para muestras urogenitales, pero no para muestras rectales y faríngeas. Esta limitación se basa en la reacción cruzada de los TAANs con especies comensales de *Neisseria* spp., las cuales están localizadas como flora habitual en sitios anatómicos como la faringe. Se recomienda para muestras de faringe o recto la utilización de TAANs con sistemas de detección hacia dos blancos distintos de amplificación para confirmación de una muestra positiva. Además, cuando se utilicen plataformas con sistemas de detección hacia un blanco de amplificación, toda muestra positiva de faringe o recto se deberá confirmar con otra prueba molecular hacia un blanco distinto de amplificación o mediante cultivo.

## Derivación al LNR para confirmación molecular de los aislamientos.

Hasta tanto se disponga de más información, todos los hallazgos de aislamientos con **halo  $\leq 26$  mm** o **CIMs  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$**  deben ser enviados al LNR para confirmación.

**Figura 6.** Algoritmo de cultivo e identificación de aislamientos de *N. gonorrhoeae*.



\*No se recomienda la realización de coloración de Gram en muestras faringéas y rectales

## BIBLIOGRAFÍA

1. Wi T, Lahra MM, Ndowa F, Bala M, Dillon JR, Ramon-Pardo P, Eremin SR, Bolan G, Unemo M. 2017. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Global surveillance and a call for international collaborative action. *PLoS Med* 14(7): e1002344.
2. Tapsall JW. 2005. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin Infect Dis* 41 Suppl 4:263-268.
3. Jarvis GA, Chang TL. 2012. Modulation of HIV transmission by *Neisseria gonorrhoeae*: molecular and immunological aspects. *Curr HIV Res* 10(3): 211-217.
4. Smolarchuk C, Wensley A, Padfield S, Fifer H, Lee A, Hughes G. 2018. Persistence of an outbreak of gonorrhoea with high-level resistance to azithromycin in England, November 2014–May 2018. *Euro Surveill* 23(23).
5. Whiley DM, Kundu RL, Jennison AV, Buckley C, Limnios A, Hogan T, Enriquez R, El Nasser J, George CR, Lahra MM. 2018. Azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* spreading amongst men who have sex with men (MSM) and heterosexuals in New South Wales, Australia, 2017. *J Antimicrob Chemother* 73:1242-1246.
6. Unemo M, Lahra MM, Cole M, Galarza P, Ndowa F, Martin I, Dillon JR, Ramon-Pardo P, Bolan G, Wi T. 2019. World Health Organization Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program (WHO GASP): review of new data and evidence to inform international collaborative actions and research efforts. *Sex Health* 16: 412–425.
7. Whiley DM, Jennison A, Pearson J, Lahra MM. 2018. Genetic characterisation of *Neisseria gonorrhoeae* resistant to both ceftriaxone and azithromycin. *Lancet Infect Dis* 18:717-718.
8. Eyre DW, Sanderson ND, Lord E, Regisford-Reimmer N, Chau K, Barker L, Morgan M, Newnham R, Golparian D, Unemo M, Crook DW, Peto TE, Hughes G, Cole MJ, Fifer H, Edwards A, Andersson MI. 2018. Gonorrhoea treatment failure caused by a *Neisseria gonorrhoeae* strain with combined ceftriaxone and high-level azithromycin resistance, England, February 2018. *Euro Surveill* 23(27).
9. Unemo M, Shafer WM. 2014. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution and future. *Clin Microbiol Rev* 27:587-613.
10. Sociedad Argentina de Infectología. 2011. Primer consenso de diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades de transmisión sexual. Disponible en:  
[https://www.dropbox.com/s/dva38wgl7k3dub0/Consenso\\_ETS\\_SADI%281448%29.pdf](https://www.dropbox.com/s/dva38wgl7k3dub0/Consenso_ETS_SADI%281448%29.pdf)
11. Galarza PG, Abad R, Canigia LF, Buscemi L, Pagano I, Oviedo C, Vázquez JA. 2010. New mutation in 23S rRNA gene associated with high level of azithromycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 54:1652-1653.

## MATERIAL COMPLEMENTARIO

Sensibilidad a la azitromicina de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae*: primera fase de comparación de las pruebas de difusión por discos y dilución en agar <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1638>

Comparación de las características moleculares de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* con alta y baja resistencia a la azitromicina en Argentina <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1637>