

Sensibilidad de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a beta-lactámicos

Beta-lactams susceptibility in Pseudomonas aeruginosa strains

► Aileen González Rizo¹, Daniel Salazar Rodríguez², Odalis López Sierra³, Zoyla Barrios Martínez³, Alicia Martínez Izquierdo⁴

1. Master en Microbiología. Departamento Microbiología Diagnóstico, subdirección Atención Médica. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", IPK. Ciudad de La Habana. Cuba.
2. Lic en Microbiología. Departamento de Microbiología. Hospital Pediátrico Docente "Pedro Borras". Ciudad de La Habana. Cuba.
3. Master en Bacteriología- Micología. Centro de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Artemisa. Provincia Habana. Cuba
4. Especialista de primer Grado en Microbiología. Hospital Pediátrico "Juan Manuel Marquez". Ciudad de La Habana. Cuba.

Resumen

Los pacientes portadores de enfermedad fibroquística presentan manifestaciones respiratorias a repetición o crónicas, las cuales se acompañan de infecciones bacterianas. *Pseudomonas aeruginosa* es la especie bacteriana que se aísla con mayor frecuencia en estos pacientes a partir de muestras de origen respiratorio. Teniendo en cuenta que las infecciones por esta bacteria son difíciles de tratar y que la terapia usualmente empleada es la combinación de un aminoglucósido con un antibiótico beta-lactámico, se analizó el comportamiento por el método de microdilución en caldo de 54 cepas aisladas de pacientes con fibrosis quística frente a cuatro beta-lactámicos (carbenicilina, azlocilina, cefotaxima, ceftazidima), y se observó que el 85% de las cepas fueron sensibles a ceftazidima, 83% a azlocilina, 37% sensibles a carbenicilina, y solamente un 20% de las cepas estudiadas fueron sensibles a cefotaxima. Los resultados evidencian que ceftazidima continúa siendo un beta-lactámico de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa* * fibrosis quística * beta-lactámicos * sensibilidad *in vitro*.

Summary

Repetitive or chronic respiratory infections are common in cystic fibrosis patients, usually due to Pseudomonas aeruginosa. The recommended therapy is the combination of one aminoglycoside with a beta-lactam antibiotic. For this reason, the susceptibility of 54 Pseudomonas aeruginosa isolated obtained from the respiratory tract of cystic fibrosis patients to four beta-lactams was analysed. The study was performed by broth microdilution. Ceftazidime was the most active agent against Pseudomonas aeruginosa (85% of the total strains being susceptible).. Eighty three percent of the strains were inhibited by azlocillin and 37% by carbenicillin. Only 20% of all studied strains were susceptible to cefotaxime.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa* * cystic fibrosis * beta-lactams * *in vitro* susceptibility

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

Introducción

La fibrosis quística (FQ) constituye una enfermedad relacionada con la herencia autosómica recesiva. Los pacientes que padecen esta enfermedad presentan manifestaciones respiratorias a repetición o crónicas. En ellos ocurren diversos mecanismos moleculares que incrementan la susceptibilidad a infecciones bacterianas. *Pseudomonas aeruginosa* es la especie bacteriana que se aísla con mayor frecuencia a partir de muestras de origen respiratorio en estos pacientes. La infección y colonización por esta bacteria constituye la causa principal de morbilidad y mortalidad en los mismos. Estas infecciones traen como consecuencia: lesiones broncopulmonares, alteraciones respiratorias, daño respiratorio irreversible y muerte del paciente (1).

La virulencia de esta bacteria se debe a diversos atributos patogénicos como la resistencia a los antibióticos, la habilidad para formar biofilms, la producción de una gran variedad de toxinas y la capacidad de adquirir fenotipos mucoides. Todo esto conlleva a la resistencia de este microorganismo tanto a la inmunidad innata como a la inmunidad adquirida del hospedero (2).

P. aeruginosa presenta una resistencia bastante peculiar a muchos agentes antimicrobianos, la cual viene dada por la baja permeabilidad de su membrana externa, un bombeo activo de los antibióticos hacia el exterior de la célula lo que imposibilita que estos lleguen a su sitio de acción o por las producción de enzimas inactivadoras de estos compuestos (3).

Debido a que las infecciones por *P. aeruginosa* son difíciles de tratar por la elevada resistencia de esta bacteria a los fármacos, frecuentemente se producen fallas de tratamientos que pueden comprometer la vida del paciente (4).

Teniendo en cuenta todo lo anterior y que los antibióticos beta-lactámicos en combinación con los aminoglucósidos constituyen la terapia de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por esta bacteria se analizó el comportamiento de 54 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes FQ frente a cuatro antibióticos beta-lactámicos.

Materiales y Métodos

CEPAS

Se utilizaron 54 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de muestras de origen respiratorio de pacientes FQ, pertenecientes a la colección del Laboratorio de Microbiología del Hospital Pediátrico "Juan Manuel Marquez", Cuba.

Cepa control fue *P. aeruginosa* ATCC 27853 perteneciente a la colección de cultivo del laboratorio de Microbiología, Hospital Pediátrico "Pedro Borrás", Cuba.

MEDIOS Y CONDICIONES DE CULTIVO

Las cepas fueron mantenidas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en medio de conservación agar triptosa soya (Oxoid), más un 15% de

glicerol (Difco). Posteriormente se transfirieron a tubos que contenían 1 mL de agar Mueller-Hinton (Oxoid), 18-24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los cultivos fueron transferidos a placas que contenían agar Mueller-Hinton (Oxoid).

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD IN VITRO

Determinación de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM):

Con el objetivo de conocer el comportamiento de estas cepas frente a los siguientes antibióticos (en polvo en su forma química activa): carbenicilina, azlocilina, cefotaxima, ceftazidima (Sigma, EE.UU.), se determinaron las CIMs por el método de microdilución en caldo Mueller Hinton. La cantidad de antimicrobiano o diluyente, las soluciones madres, diluciones de trabajo, se prepararon según las normas de la CLSI (ex-NCCLS). La turbidez de la suspensión bacteriana preparada en caldo Mueller Hinton se ajustó a la del tubo 0,5 de la escala de Mac Farland. Se probaron cuatro diluciones por encima y cuatro por debajo de las establecidas por la CLSI como criterio de sensibilidad para cada antimicrobiano (5).

Resultados

De acuerdo con el comportamiento de las cepas frente a los antibióticos beta-lactámicos ensayados se conformaron 8 patrones de resistencia (Tabla I). Los patrones 1, 2, 6 y 8 se encontraron en aquellas cepas que solamente mostraron resistencia frente a un solo antibiótico. Los patrones 3, 5 y 7 agrupaban a cepas que presentaron resistencia a dos antibióticos, mientras que en el patrón 4 se incluyó a una cepa que presentó resistencia a tres de los cuatro antibióticos ensayados. El patrón 2 (9,2%) fue el más frecuente, seguido por el patrón 6 (5,5%).

Los valores de CIM₉₀ para carbenicilina oscilaron entre 128-256 $\mu\text{g/mL}$, teniendo en cuenta que las cepas

Tabla I. Patrones de resistencia de las 54 cepas de *P. aeruginosa* frente a los cuatro beta-lactámicos ensayados.

| | Patrones de resistencia | Cantidad de cepas | % |
|---|-------------------------|-------------------|---|
| 1 | CARB | 1 | 2 |
| 2 | AZL | 5 | 9 |
| 3 | AZL, CAZ | 1 | 2 |
| 4 | AZL, CAZ, CTX | 1 | 2 |
| 5 | AZL, CTX | 2 | 4 |
| 6 | CTX | 3 | 5 |
| 7 | CTX, CAZ | 1 | 2 |
| 8 | CAZ | 1 | 2 |

CAR: carbenicilina, AZL : azlocilina, CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima.
Fuente: Laboratorio Microbiología Diagnóstico, subdirección Atención Médica, IPK.

que son capaces de crecer a concentraciones mayores o iguales que 512 µg/mL son resistentes a dicho antibiótico, un bajo porcentaje (2%) (CIM=512 µg/mL) de las cepas estudiadas fueron resistentes al mismo. Sin embargo, el 61% (CIM=256 µg/mL) de las cepas mostraron sensibilidad intermedia frente al mismo y sólo un 37 % fueron sensibles con una CIM de 128 µg/mL (Fig. 1).

Para azlocilina los valores de CIM₉₀ se encontraron entre 4 y 128 µg/mL, sólo el 17% (CIM= 128- 512 µg/mL) de las cepas estudiadas fueron resistentes (Fig. 1).

De los cuatro antibióticos beta-lactámicos ensayados cefotaxima (CIM₉₀=1-64 µg/mL) fue el menos efectivo: el 13% de las cepas fueron resistentes con una CIM que osciló entre 64 µg/mL y 512 µg/mL y un 67% presentaron sensibilidad intermedia (CIM=16-32 µg/mL). Solamente el 20% del total de las cepas fueron sensibles a cefotaxima (CIM=2-8 µg/mL) (Fig. 1).

Se observó un elevado porcentaje de cepas sensibles a ceftazidima (85%) cuyas concentraciones mínimas inhibitorias se encontraban entre 1 y 8 µg/mL y un bajo porcentaje de cepas resistentes a este antibiótico (7%) (CIM=32-128 µg/mL). Los valores de CIM₉₀ para ceftazidima oscilaron entre 1-16 µg/mL, por debajo de las concentraciones requeridas para considerar a las cepas como resistentes (32 µg/mL).

Discusión y Conclusiones

La resistencia bacteriana a las drogas es uno de los serios problemas en la terapia de las enfermedades infec-

ciosas y en la práctica epidemiológica. Esto no constituye un fenómeno nuevo ni sorprendente. Todos los microorganismos tienen la capacidad de desarrollar diversos mecanismos de resistencia (6), por lo que ninguna sustancia antimicrobiana actúa sin el riesgo futuro de que los microorganismos desarrollen resistencia frente a ella (7). Las cepas de *P. aeruginosa* se aíslan con frecuencia a partir de pacientes sometidos a tratamientos antimicrobianos prolongados lo cual favorece la adaptación a los antibióticos y el surgimiento de la resistencia (8).

De los cuatro beta-lactámicos evaluados en este estudio, el más efectivo fue ceftazidima. Este antibiótico, perteneciente al grupo de las cefalosporinas de tercera generación, ha sido reportado como uno de los beta-lactámicos de potencial eficacia contra esta bacteria, por lo que estos resultados coinciden con ello (9-11). Robinson y col. en un estudio realizado en el año 2001 con 231 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes fibroquísticos reportaron que solamente el 8,7% de las mismas no fueron sensibles a ceftazidima (12), lo que evidencia la potencial eficacia de este antibiótico en el tratamiento de las infecciones causadas por esta bacteria. Según lo reportado en la guía de terapia antimicrobiana Sanford, se recomienda el uso de ceftazidima en combinación con tobramicina, o ticarcilina o piperacilina con tobramicina en el tratamiento primario de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística (13).

En este estudio el 80% de las cepas no fueron sensibles a cefotaxima, aunque un número considerable de cepas presentaron sensibilidad intermedia (67%). El 80% de cepas de *P. aeruginosa* que no fueron sensi-

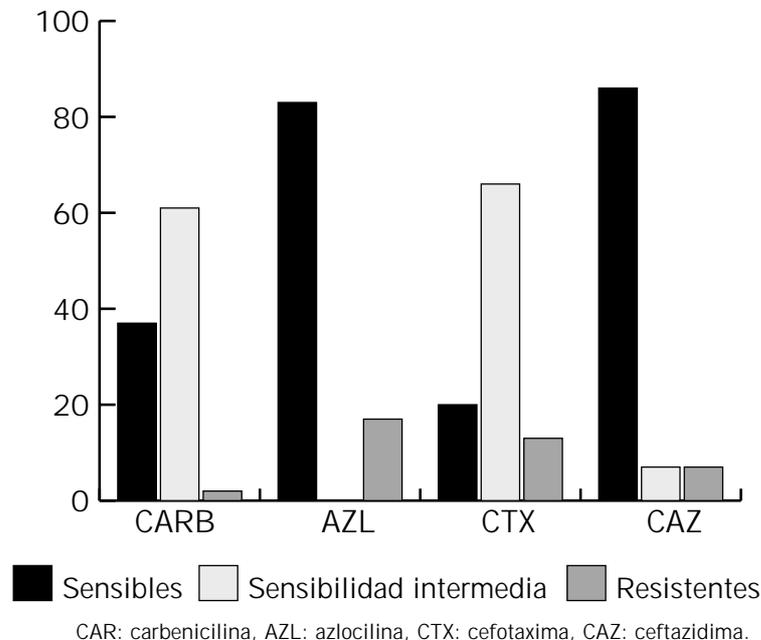


Figura 1. Comportamiento de las cepas de *P. aeruginosa* procedentes de pacientes FQ frente a los antibióticos ensayados.

bles a este antibiótico coincidió con la categorización internacionalmente aceptada de no apto para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* (10). Aunque este antibiótico no fue eficaz contra un elevado porcentaje de cepas, los valores de CIM₉₀ ubicados en el rango de 1 a 64 µg/mL, obtenidos en este estudio, se encuentran por debajo de los valores reportados por otros investigadores. Jones y col. en Estados Unidos encontraron un 72% de cepas resistentes a cefotaxima con CIM₉₀ ≥ 256 µg/mL (10).

Por otro lado, al analizar el comportamiento de las 54 cepas de *P. aeruginosa* frente a carbenicilina se piensa en una recuperación paulatina de la sensibilidad frente a este antibiótico el cual tuvo un uso intensivo durante los años 1970-1980 en este país. Otros investigadores han reportado un 11,9% de resistencia a carbenicilina (CIM ≥ 128 µg/mL) (14).

Solamente un 17% de las cepas estudiadas por los autores fueron resistentes a azlocilina, demostrando la eficacia de este antibiótico. Este comportamiento quizás se deba a la poca utilización del mismo, tanto en el ámbito hospitalario como comunitario en este país (4).

Desde que apareció el primer caso de resistencia a los antibióticos, este problema ha ido en aumento hasta transformarse en una preocupación grave para la Salud Pública, con consecuencias económicas, sociales y políticas que son de alcance mundial y cruzan todas las fronteras ambientales y étnicas. Por esto, resulta necesario aumentar el conocimiento en el tema de la resistencia a los antimicrobianos y contrarrestar esta grave amenaza para la Salud Pública (15).

Aunque en este estudio no se observó una elevada resistencia de las cepas de *P. aeruginosa* frente a los cuatro beta-lactámicos ensayados, estos resultados deben ser tenidos en cuenta por el personal médico para facilitar la utilización de los antibióticos más efectivos en el tratamiento de estos pacientes. De este modo se podrán minimizar los fallos terapéuticos, disminuyendo los costos por tratamiento y obteniendo una rápida mejoría del paciente.

CORRESPONDENCIA

DRA. AILEEN GONZÁLEZ RIZO

Departamento Microbiología Diagnóstico, subdirección Atención Médica. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", IPK. CIUDAD DE LA HABANA. Cuba.

Box 601, Marianao 13, Havana 11300, Cuba

Fax: 537-246051

Teléfono: 2020436 Ext 2218, 2220

E-mail: aileen@ipk.sld.cu

Referencias bibliográficas

1. Brennan AL, Geddes DM. Cystic fibrosis. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 175-82.

2. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 194-222.
3. Henwood CJ, Livermo DM, James D, Warner M and the *Pseudomonas* Study Group. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: results of a UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy Disc Susceptibility Test. *J Antimicrobiol Chemother* 2001; 47: 789-99.
4. Salazar D, Hernández Y, Palma S, González A, Reyes T. Actividad antimicrobiana de doce fármacos frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen clínico. *Bioquímica* 2001; 26: 79-84.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. 10th informational supplement. Approved Standard (M-100, S-10). Wayne, Pa: NCCLS; 2000. p.119-20.
6. Williams R. Resistencia a los antimicrobianos: Los Hechos. *Boletín de Medicamentos esenciales*. Ginebra: OMS, 2000; 7-19.
7. Stuart B, Levy MD. Multidrug Resistance - A sign of the times. *N Engl J Med* 1998; 7: 1376-7.
8. Asboe G, Gant V, Aucken HM, Moore DA, Umasankar S, Bingham JS, et al. Persistence of *P. aeruginosa* strains in respiratory infection in AIDS patients. *AIDS* 1998; 12: 1771-5.
9. Coilleaux V, Mulin B, Capellier G, Julliot MC, Thouvere M, Talon D. Epidemiological study of variations in beta-lactam antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in two intensive care units. *J Hosp Infect* 1997; 37: 217-24.
10. Jones JRN, Pfaller MA, Doren GV, Edwin ME, Mollis RJ. Antimicrobial activity and spectrum investigation of eight broad-spectrum beta-lactam drugs: a 1997 surveillance trial in 102 medical centers in the United States. Cefepime Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 215-28.
11. Cavallo JD, Lebrane F, Fabre R, Fourtieg' Esqueoute A, Group d'étude de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa*. Survey of the antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* in France and the distribution of beta-lactam resistance mechanisms. The GERPB 1999 study group. *Pathol Biol (Paris)* 2001; 49: 534-9.
12. Robinson CA, Kuhn RJ, Craigmyle J, Anstead MI, Kanga JE. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to cefepime versus ceftazidime in patients with cystic fibrosis. *Pharmacotherapy* 2001; 21: 1320-4.
13. Gilbert DN, Moellering RC, Sande MA. The Sanford. Guide to antimicrobial therapy. 31th edition. New York: Vermont antimicrobial therapy, inc; 2001.
14. Chen Hy, Yuan M, Ibrahim IB, Livermore DM. National survey of susceptibility to antimicrobial amongst clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. 35: 521-34
15. Boletín OMS. Editorial. Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza mundial. *Boletín de medicamentos esenciales*. OMS. 2000. 28 y 29: 1.

Aceptado para su publicación el 27 de febrero de 2007