

CENTRO PROVINCIAL DE HIGIENE, EPIDEMIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA GUANTÁNAMO

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS AISLADAS EN MUESTRAS DE ESPUTO

Lic. Lourdes M. Expósito Boué¹, Lic. Sara Ortiz Vega², Lic. Elba Domínguez Caballero³, Dra. Sandra Powell Smith.⁴

¹ *Máster en Enfermedades Infecciosas. Licenciada en Ciencias Biológicas. Asistente.*

² *Tecnólogo en Microbiología.*

³ *Tecnólogo en Gestión de la Información.*

⁴ *Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista en Higiene Escolar. Asistente.*

RESUMEN

Se realiza una investigación en el Laboratorio de Microbiología del Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología (CPHEM) en el período de enero-marzo de 2009, con el objetivo de determinar la resistencia a antimicrobianos en 73 cepas aisladas de microorganismos e identificadas a partir de las muestras de esputo de pacientes con infecciones respiratorias bajas. Se determina la sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos *in vitro* por el método de Bauer Kirby. Los resultados se expresan en tabla bidimensional y la medida de resumen utilizada fue el porcentaje. El mayor número de bacterias identificadas corresponde a bacilos gram negativos. La mayor resistencia lo muestra el *Pseudomona aeruginosa*, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Se concluye que la resistencia a los antimicrobianos es un problema emergente, que exige su selección adecuada e identificación del agente etiológico.

Palabras clave: cepas, infecciones respiratorias bajas, resistencia.

INTRODUCCIÓN

El mal uso de los antimicrobianos, ya sea en hogar, hospitales, comunidades, en animales, en la agricultura, permiten la selección de cepas resistentes, que además del efecto secundario que resultan factores de riesgo para el individuo, son mayores los efectos nocivos y van más allá del individuo, implicando a la sociedad, produciendo cambios considerables en el ecosistema, con un efecto social negativo. Estas consecuencias son válidas si realmente el uso del antibiótico constituye una necesidad médica. Esta situación problema se ha identificado en el municipio Guantánamo, donde se abusa del uso de la terapia empírica y es llamativo el poco uso que se hace de los exámenes complementarios microbiológicos, en el tratamiento de estas enfermedades infecciosas cuya etiología es microbiana, en este caso las infecciones respiratorias bajas (IRB).¹⁻³

Los antimicrobianos deben ser eficaces a bajas dosis y selectivos en su acción, de modo que produzcan el efecto inhibitor deseado sobre los microorganismos sin producir lesión al huésped. Es decir deben poseer toxicidad selectiva, ser tóxicos para las células procariotas, no así para las eucariotas. De no cumplirse esto entonces tendrá efectos tóxicos para el paciente.⁴

Es importante la información que ofrece el laboratorio en cuanto al microorganismo causante de la infección y su sensibilidad antimicrobiana, para hacer un uso racional y eficiente de los antimicrobianos.

Motivados por esta situación problema se realiza el presente estudio con el objetivo de determinar la resistencia antimicrobiana de cepas aisladas de muestras de esputo en pacientes con IRB.

MÉTODO

El presente estudio se realiza en el Laboratorio de Microbiología del CPHEM, entre los meses de enero a mayo de 2009.

El universo de trabajo está formado por 73 cepas de microorganismos obtenidas de pacientes ambulatorios del municipio Guantánamo, que acuden al laboratorio a realizar investigación microbiológica de su esputo.

Procedimiento microbiológico para la obtención del dato primario:

Una vez aislado e identificado el agente etiológico responsable de la IRB, se procede a determinar la resistencia antibacteriana *in vitro*.

Se aplica el método cualitativo de difusión de Kirby Bauer utilizando discos de papel impregnados de concentraciones conocidas de cada uno de los antimicrobianos establecidos para cada tipo de bacteria; depositados en la superficie del medio de cultivo Agar Mueller Hinton, previamente sembrado con un inóculo estandarizado, creando un gradiente de concentración que se traduce al cabo de 18 horas de incubación a 37 °C en la formación de halos de inhibición del crecimiento bacteriano. De acuerdo al diámetro del halo de inhibición, se clasifican los microorganismos en las categorías de sensible (S), intermedio o moderadamente sensible (I) o resistente (R).

Técnicas de procesamiento y análisis del dato primario

En la Unidad de Análisis y Tendencia de Salud (UATS), se confecciona una base de datos en Epiinfo versión 6.0. El dato primario se procesa utilizando una computadora PC Pentium con el empleo del Paquete Estadístico Epiinfo Versión 6.0.

Fuente de información a emplear

La fuente de información a emplear es primaria, a partir de resultados obtenidos en el Laboratorio de Microbiología del CPHEM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microorganismos aislados de las muestras de esputo fueron bacilos Gram negativos (BGN) y bacterias Gram positivas, correspondiendo el mayor % a los BGN con 87 % (Tabla 1).

En la Tabla 2, se muestran los antibióticos normados para cada cepa aislada y los % de sensibilidad de cada cepa aislada frente a los antibióticos. Las penicilinas son bactericidas y actúan interfiriendo con la síntesis de la pared bacteriana, se debe tener cuidado con las reacciones e hipersensibilidad.⁵

Se observa la resistencia que exhiben la mayoría de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* ante las penicilinas (ampicillin, ticarcillin y carbenicilina), *Escherichia coli* solo muestra resistencia al ampicillin y en *Staphylococcus aureus* se observa el incremento de la resistencia a este grupo de antibióticos,

fundamentalmente a penicilina, ampicillin y ticarcillin. *Proteus mirabilis* muestra una sensibilidad total a las penicilinas. La *Pseudomona aeruginosa* muestra un 30 % de resistencia al aztreonam. Las bacterias Gram negativas mostraron elevados % de resistencia a las penicilinas.^{6,7}

Las cefalosporinas son antibióticos de amplio espectro, usados en el tratamiento de septicemias, neumonías, meningitis, infecciones del tracto biliar, peritonitis e infecciones del tracto urinario.⁵

En el caso de las cefalosporinas se observa una marcada sensibilidad por parte de *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*, excepto con cefazolin donde se observa un incremento de la resistencia por parte de *Proteus mirabilis*. La ceftriaxona alcanza niveles altos de resistencia frente al *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Pseudomona aeruginosa muestra un franco aumento de la resistencia a las cefalosporinas, en todos los casos alcanza el 70 %. *Klebsiella pneumoniae* aumenta discretamente la resistencia, no así *Staphylococcus aureus*, donde se incrementa, llegando a un 100 % de resistencia ante ceftaxidime, siendo mucho más marcada con la ceftriaxona y cefotaxime.⁷

En un estudio realizado por González Lorenzo *et al.*, obtiene baja resistencia frente a la Ceftriaxona, lo cual no coincide con esta investigación.⁶

De forma general se muestra buena sensibilidad ante los carbapenem y aminoglucósidos, observándose un incremento con *Pseudomona aeruginosa* que solo muestra franca sensibilidad a la gentamicina y *Staphylococcus aureus* muestra incremento de la resistencia a kanamicina.⁸

Los aminoglucósidos son habituales y eficaces en la práctica clínica, continúan siendo activos contra los microorganismos gram negativos aerobios.

La tobramicina, su uso es similar a la gentamicina, con mayor actividad frente a cepas de *Acinetobacter* y *Pseudomona aeruginosa*, menos activa contra los gérmenes gram negativos. No obstante en esta investigación se muestra un incremento de la resistencia a este antibiótico, llegando a 50 %.

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro, pero la emergencia de resistencia y los efectos tóxicos asociados, han disminuido su uso, no obstante todavía tiene espacio en la terapéutica

de algunas enfermedades, entre las que se encuentra la neumonía atípica y la bronquitis.⁵

Pseudomona aeruginosa exhibe resistencia a las tetraciclinas (tetraciclina y doxiciclina) y *Proteus mirabilis* incrementa la resistencia a la doxiciclina. *Staphylococcus aureus* no es resistente a la doxiciclina y *Escherichia coli* no lo es a ambas tetraciclinas.

Las quinolonas son antibióticos de amplio espectro, actúan fundamentalmente sobre bacterias Gram negativos.

Con las quinolonas, son *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, los que incrementan su resistencia frente a la norfloxacin y *Pseudomona* también se hace resistente a la levofloxacin.

Escherichia coli y *Proteus mirabilis*, son francamente sensibles a las quinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina y levofloxacina).

Proteus mirabilis, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, muestran incremento de la resistencia a cloranfenicol. El cloranfenicol es un antibiótico potente contra gram positivos, negativos y anaerobios, sin embargo, se asocia a serios efectos adversos hematológicos, cuando se administra por vía sistémica, por lo que debe reservarse para el tratamiento de infecciones severas que amenacen la vida. No debe utilizarse cuando existan otras alternativas de tratamiento.⁵

La importancia terapéutica de las sulfonamidas disminuye con el incremento de la resistencia bacteriana y la disponibilidad de otros fármacos eficaces y menos tóxicos.

Pseudomona aeruginosa aumenta su resistencia a las sulfamidas, al igual que los demás gérmenes, aunque estos de un forma más discreta.

Los macrólidos son antibióticos bacteriostáticos o bactericidas en dependencia de la dosis y el agente causal. Activo contra bacterias Gram positivas y algunos contra Gram negativos.⁵

Staphylococcus aureus incrementa su resistencia a los macrólidos y lincosamidas, así como a la vancomicina, para su uso debe ser evaluada su relación beneficio riesgo antes de aplicarse.

De forma general se obtuvo en *Klebsiella pneumoniae*, bajos niveles de resistencia, pero siempre mostró alguna resistencia a todos los antibióticos a los que se enfrentó, que oscila entre 2.3 y 22.7 %.

Escherichia coli y *Proteus mirabilis* mostraron un buen espectro de sensibilidad.

Los aislamientos de microorganismos gram negativos, correspondientes a las enterobacterias, mostraron valores aceptables de susceptibilidad antibacteriana.⁷

Se hace mucho más alarmante la resistencia que muestran las cepas aisladas de *Pseudomona aeruginosa* que incrementa su resistencia entre un 30 a 100 %, seguido de *Staphylococcus aureus* que aumenta su resistencia entre 22.2 a 100 %. No obstante, *P. aeruginosa*, muestra el 100 % de sensibilidad frente a la ciprofloxacina y gentamicina y el 70 % de ellas a los carbapenes (imipen y meropen). La marcada resistencia de *Pseudomona aeruginosa*, coincide con los resultados obtenidos en otros estudios.^{6,8}

Las cepas de *Staphylococcus* mostraron una marcada resistencia ante los antibióticos, excepto para los carbapenes (imipen y meropen), doxiciclina, las quinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina) y de los aminoglucósidos la gentamicina y amikacina.

Desde el comienzo del uso de los antibióticos en la década del 40, microbiólogos y clínicos, comenzaron a detectar resistencia y una torpe evolución de los casos tratados con estas drogas.⁹

La presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre las bacterias, inciden sobre estas y determinan una serie de mecanismos, muchos conocidos y otros por conocer, que aseguran la adquisición de la resistencia.^{1,10}

CONCLUSIONES

La resistencia bacteriana a antimicrobianos es un problema emergente y los resultados obtenidos en este trabajo son una prueba de ello, ya que los propios antimicrobianos actúan como agentes selectivos en la propagación de los microorganismos resistentes. Se debe tener presente que la selección racional de la terapia antimicrobiana apropiada es el resultado de un proceso secuencial en el que han de tenerse en cuenta todos los factores determinantes. El desarrollo de esta resistencia provoca que el tratamiento empírico que otrora fuera adecuado, hoy se traduzca en un incremento de fracasos terapéuticos. Se hace necesario, identificar al agente etiológico y la resistencia a los antimicrobianos para indicar la terapia adecuada.

RECOMENDACIONES

Se debe insistir en la correcta aplicación de la política de los antimicrobianos, ya que el mal uso y abuso contribuye a la selección de cepas resistentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Llop Hernández A, Valdés Dapena Vivanco MM, Suazo Silva JL. Microbiología y parasitología médicas. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.
2. Jawetz E, Melnick J. L, Adelberg Edward A. Manual de Microbiología Médica. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
3. Apao Díaz J, Luna Marcell N, Macola Olano S, Rodríguez González DP, Toledo Curbelo GJ. Introducción a la salud pública. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
4. Morejón García M, Salup Díaz RR, Cué Brugueron M. Actualización en antimicrobianos sistémicos. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2005.
5. Cuba. MINSAP. Formulario Nacional de Medicamentos. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2006.
6. González Lorenzo A. Resistencia antimicrobiana in Vitro: Sistema Diramic 10, un año de experiencia, Hospital Universitario Clínico Quirúrgico "Comandante Faustino Pérez"[internet]. 2003[citado 22 octubre 2010]. Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20/año%20/vol6%202003/tema05.htm>.
7. Miranda MC, Pérez F, Zuluaga T, Olivera MR, Correa A, Reyes SL, et al. Resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en unidades de cuidado intensivo en hospitales de Colombia, WHONET 2003, 2004 y 2005. 0120-4157. Biomédica [internet]. 2006[citado 12 junio 2010]; 26: 424-33. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/843/84332612.pdf>
8. Trucco AO, Prado JV, Durán TC. Red de vigilancia de resistencia antimicrobiana. Revista chilena de infectología. 2002; 19(supl. 2).
9. Organización Panamericana de Salud Pública. Vigilancia internacional de la resistencia antimicrobiana. Rev Panam Salud Pública [internet]. 1998[citado 5 mayo 2011]; 4(4): [aprox. 3p.]. Disponible en:

[http://www.scielosp.org /scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49891998001000008](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49891998001000008)

10. Asociación Médica Mundial. Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre la Resistencia a los Medicamentos Antimicrobianos. [Actualizado 26 de abril de 2002; citado 13 marzo 2011]. Disponible: <http://www.unav.es/cdb/ammhamburgo7.html>

Tabla 1. Microorganismos aislados del cultivo bacteriológico de esputos.

MICROORGANISMO AISLADO	No.	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	44	22.0
<i>Escherichia coli</i>	6	3.0
<i>Proteus mirabilis</i>	4	2.0
<i>Pseudomona auruginosa</i>	10	5.0
Subtotal de BGN	64	87.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	4.5
Subtotal de Grampositivos	9	12.3
TOTAL GENERAL	73	100

Tabla 2. Resistencia antimicrobiana de las cepas aisladas de pacientes con IRB.

Antibiótico	<i>Klebsiella pneumoniae</i> %	<i>Escherichia coli</i> %	<i>Proteus mirabilis</i> %	<i>Pseudomona aeruginosa</i> %	<i>Staphylococcus aureus</i> %
Penicilinas					
Penicilina	-	-	-	-	66.6
Oxacillin	-	-	-	-	33.3
Ampicillin	100.0	100.0	0.0	100.0	66.6
Meticillin	-	-	-	-	22.2
Ticarcillin	88.6	33.3	0.0	100.0	66.6
Carbenicilina	88.6	33.3	0.0	100.0	-
Aztreonam	22.7	0.0	0.0	30.0	-
Cefalosporinas					
Cefazolin	20.5	0.0	50.0	70.0	33.3
Cefepime	6.8	0.0	0.0	70.0	33.3
Cefotaxime	15.9	0.0	0.0	70.0	66.6
Ceftriaxona	13.6	0.0	0.0	70.0	66.6
Ceftaxidime	15.9	0.0	0.0	70.0	100.0
Cefocitin	9.1	0.0	0.0	70.0	44.4
Carbapenem					
Imipen	2.3	0.0	0.0	30.0	0.0
Meropen	2.3	0.0	0.0	30.0	0.0
Aminoglucósidos					
Gentamicina	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0
Kanamicina	4.5	33.3	0.0	-	66.6
Amikacina	4.5	0.0	0.0	70.0	0.0
Tobramicina	-	-	-	50.0	-
Tetraciclinas					
Tetraciclina	9.1	0.0	0.0	100.0	-
Doxiciclina	15.9	0.0	50.0	70.0	0.0

Quinolonas					
Ciprofloxacina	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0
Norfloxacina	2.3	0.0	0.0	30.0	44.4
Levofloxacina	2.3	0.0	0.0	30.0	0.0
Ofloxacina	2.3	0.0	0.0	70.0	-
Fenicoles					
Clornafenicol	9.1	0.0	50.0	70.0	33.3
Sulfonamidas					
Sulfametazina + Trimetropin	13.6	0.0	0.0	100.0	22.2
Sulfonamida	6.8	33.3	50.0	70.0	33.3
Macrólidos y lincosamidas					
Acitromicina	-	-	-	-	44.4
Eritromicina	-	-	-	-	33.3
Clindamicina	-	-	-	-	55.5
Otros					
Vancomicina	-	-	-	-	33.3