

Original

Sensibilidad a antimicrobianos de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en Murcia

C. Guerrero, R. Cesteros, A. Miranda, A. Menasalvas, R. Blázquez y M. Segovia

Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario J.M. Morales Meseguer, Murcia

RESUMEN

En este trabajo hemos estudiado la sensibilidad a diversos antimicrobianos de 1293 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidos de diversas muestras clínicas durante los años 1996 a 1999. *P. aeruginosa* se aisló más frecuentemente en las muestras de orina (61,2%) en los pacientes ambulatorios y en las muestras de vías respiratorias bajas (40,2%) en los pacientes hospitalizados. Los antimicrobianos más activos, con resistencia $\leq 10\%$, fueron amikacina, ceftazidima, imipenem y tobramicina. Aztreonam, ciprofloxacino y gentamicina mostraron resistencia $> 10\%$. Los porcentajes de resistencia para ceftazidima, aztreonam e imipenem de los aislamientos intrahospitalarios y de los servicios de máximo riesgo fueron significativamente superiores a los encontrados en los de procedencia comunitaria y de otros servicios hospitalarios. Durante los cuatro años del estudio se produce un aumento estadísticamente significativo de la resistencia de *P. aeruginosa* a todos los antimicrobianos estudiados excepto al imipenem.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa* - Sensibilidad antimicrobiana - Resistencia

Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in Murcia, Spain

SUMMARY

The source and antimicrobial susceptibility of 1293 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* obtained from 1996 to 1999 were studied. Urine was the most common source for outpatient isolates (61.2%), while for hospitalized patients respiratory samples were the most frequent (40.2%). The most active antimicrobials with resistance rates $\leq 10\%$ were ceftazidime, imipenem, tobramycin and amikacin. By contrast, aztreonam, ciprofloxacin and gentamicin showed resistance levels $> 10\%$. The percentages of resistance to ceftazidime, aztreonam and imipenem in isolates from inpatients and from patients in the intensive care unit were significantly higher than those in isolates from outpatients and other clinical departments. Comparison of susceptibility data from 1996 to 1999 showed a significant increase in the resistance rate for all of the antibiotics studied but imipenem.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa* - Antimicrobial susceptibility - Resistance

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno típicamente nosocomial causante de un número importante de infecciones hospitalarias. Las infecciones por este microorganismo son particularmente importantes en las unidades de cuidados intensivos, donde constituye la causa más común de neumonía asociada a ventilación mecánica (1), y en los pacientes neutropénicos, en los cuales se estima que es causa de un 5% a 12% de las infecciones (2). En estos enfermos, el riesgo de infecciones por *P. aeruginosa* obliga al uso de antibióticos activos frente a este patógeno en el tratamiento empírico.

La selección de un tratamiento antibiótico empírico debe basarse en el conocimiento de los agentes etiológicos más frecuentes y de sus patrones de sensibilidad antimicrobiana. Uno de los principales problemas que plantea *P. aeruginosa* en la actualidad es el de la resistencia a los antimicrobianos. En los últimos años se han descrito casos de cepas con resistencia a todos los antimicrobianos disponibles, y se ha observado un aumento de la resistencia a los agentes antipseudomónicos (3, 4). Estos hechos han motivado la realización de estudios multicéntricos en diversos países (5-7) con el objetivo de conocer el papel de *P. aeruginosa* en las infecciones y obtener datos globales sobre su sensibilidad antimicrobiana. En España se ha realizado un estudio (8) con aislamientos procedentes de 136 hospitales.

Los estudios de este tipo de ámbito nacional son de gran valor, sobre todo si se comparan con estudios posteriores, ya que muestran tendencias y alertan sobre la emergencia de problemas de resistencia. Sin embargo, los patrones de sensibilidad de los microorganismos pueden presentar variaciones geográficas, e incluso pueden variar entre hospitales de una misma región en función de las características de la población y del uso de los antibióticos. Por este motivo nos planteamos estudiar los aislamientos clínicos de *P. aeruginosa*, con el fin de conocer las infecciones en que se encuentra implicado y su grado de resistencia a los antimicrobianos en nuestro hospital, comparando los resultados con los descritos recientemente en España.

MATERIAL Y MÉTODO

Se han revisado retrospectivamente todos los aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidos en nuestro centro entre los años 1996 y 1999. El Hospital Morales Meseguer es un centro de reciente apertura (1994), dotado de 400 camas, que atiende a una población de 200.000 habitantes, cuenta con una unidad de cuidados intensivos y, desde 1999, con una unidad de onco-hematología.

Aislamientos

Se han incluido todos los aislamientos, teniendo en cuenta que si un mismo paciente tenía cepas diferentes (distinto antibiograma) en la misma muestra o en muestras distintas se incluían tantos aislamientos como antibiogramas existiesen. Cuando un mismo paciente tuvo diversos aislamientos con el mismo antibiograma durante un periodo de un mes, sólo se incluía uno de ellos.

Para analizar los resultados, según el tipo de muestra, se establecieron tres grupos. Los aislamientos de vías respiratorias bajas incluyeron esputos, broncoaspirados, lavados broncoalveolares y telescopados. Todos los líquidos de lugares ordinariamente estériles (bilíales, peritoneales, pleurales e intraoculares) se incluyeron en la categoría de líquidos estériles. Finalmente, en el grupo de otras muestras se incluyeron biopsias de tejido, prótesis, exudados conjuntivales y aquéllas cuyo origen no se especificaba.

Identificación y pruebas de sensibilidad

Para la identificación y la determinación de la sensibilidad se utilizaron paneles *MicroScan Combo gramnegativos 1S* (Baxter Diagnostics, Inc., West Sacramento, California) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad se utilizó la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853. Además, según el protocolo habitual de trabajo, la resistencia a ceftazidima, aztreonam e imipenem se confirmó mediante el método de difusión con discos. A las cepas con identificación dudosa se les realizó una galería *API 20 NE* (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia).

Los datos analizados (tipo de muestra, servicio, procedencia hospitalaria o comunitaria y sensibilidad a antimicrobianos) se introdujeron en una base de datos (*Microsoft Access*). Para facilitar el análisis de los datos, los servicios hospitalarios se agruparon en tres categorías: máximo riesgo (UCI y onco-hematología), médicos y quirúrgicos. Para el análisis entre variables se utilizó la prueba χ^2 . Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. Los cálculos fueron realizados utilizando el paquete estadístico *WinStat 3.0*.

RESULTADOS

Procedencia de los aislamientos

Se estudiaron un total de 1293 aislamientos obtenidos de 1076 pacientes. De éstos, 729 (56,3%) eran de procedencia hospitalaria y 564 (43,6%) eran de pacientes no hospitalizados. Los datos correspondientes a la distribución de los aislamientos por tipo de muestra se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Distribución de los aislamientos de *P. aeruginosa* por tipo de muestra y procedencia del paciente.

Muestra	Intrahospitalarias	Extrahospitalarias	Total
Orina	138 (18,9%)	345 (61,2%)	483 (37,3%)
Vías respiratorias bajas	293 (40,2%)	15 (2,65%)	308 (23,8%)
Heridas	162 (22,2%)	74 (13,1%)	236 (18,2%)
Exudados óticos	31 (4,25%)	116 (20,5%)	147 (11,3%)
Sangre	45 (6,17%)	13 (2,3%)	58 (4,48%)
Líquidos estériles	14 (1,92%)	0	14 (1%)
Otras	46 (6,3%)	1 (0,17%)	47 (3,6%)
Total	729 (56,3%)	564 (43,6%)	1293

Tabla 2. Porcentajes globales de resistencia de los aislamientos de *P. aeruginosa*. Comparación entre cepas hospitalarias y comunitarias.

Antimicrobiano	Punto de corte (mg/l)	Rango (mg/l)	Resistencia* (%)			
			Global	Hospital	Comunidad	p
Amikacina	>16	>8->16	3,2	4	2,3	0.1
Aztreonam	>8	>1->16	14,2	16,3	11,2	0.01
Ceftazidima	>8	<1->16	10	13,8	5,3	<0.001
Ciprofloxacino	>1	<0,12->2	21,7	22,6	20,4	0.3
Gentamicina	>4	<4->8	23,3	23,3	23,2	0.9
Imipenem	>4	<1->8	7	9,6	3,7	<0.001
Tobramicina	>4	<4->8	4,5	5	3,7	0.2

*Se incluyen las categorías de intermedio y resistente.

El mayor porcentaje de aislamientos se obtuvo de las muestras de orina (37,3%), seguido de las muestras de vías respiratorias bajas (23,8%) y de los exudados de herida (18,2%). La distribución de las cepas en función de la procedencia (hospitalaria o comunitaria) de las muestras mostró que más del 80% de las comunitarias procedían de orina (61%) y exudados óticos (20,5%), mientras que en los pacientes hospitalizados los aislamientos de vías respiratorias bajas (40,2%) y de heridas (22,2%) fueron los más frecuentes.

En la distribución por servicios, el 69,5% de los aislamientos procedía de servicios médicos; los de servicios quirúrgicos y de máximo riesgo representaron el 18,6% y el 11,8%, respectivamente.

Sensibilidad a los antimicrobianos

Los resultados globales de la resistencia a los antimicrobianos estudiados se muestran en la Tabla 2. Los antimicrobianos más activos, con porcentajes de resistencia $\leq 10\%$, fueron amikacina, ceftazidima, imipenem y tobramicina. Por el contrario, aztreonam, gentamicina y ciprofloxacino

tuvieron porcentajes de resistencia $>10\%$. En general, los aislamientos intrahospitalarios fueron más resistentes que los de origen comunitario (Tabla 2). La resistencia a aztreonam (16,3%), ceftazidima (13,8%) e imipenem (9,6%) en las cepas hospitalarias fue significativamente superior a la observada en las de origen comunitario (11,2%, 5,3% y 3,7%, respectivamente).

Los servicios donde se encontraron los mayores grados de resistencia fueron los de máximo riesgo. En éstos, los porcentajes de resistencia para aztreonam (37,2%), ceftazidima (30,7%) e imipenem (24,8%) fueron significativamente superiores ($p < 0.05$) a los observados en los servicios médicos (12,8%, 6,7% y 4,1%, respectivamente) y en los quirúrgicos (15,7%, 9,5% y 6,6%, respectivamente). La resistencia al resto de los antimicrobianos estudiados fue similar en los distintos servicios.

Del total de aislamientos estudiados, el 42,4% mostraron resistencia a alguno de los antimicrobianos estudiados, y de éstos el 37% eran resistentes a más de un antimicrobiano. En la Tabla 3 se muestran los datos sobre la resistencia cruzada de *P. aeruginosa* a los fármacos estudiados. Casi un 70% de los aislamientos resistentes a la ceftazidima fue-

ron sensibles al imipenem, y más de la mitad lo fueron al ciprofloxacino. Alrededor del 80% de los aislamientos resistentes a la gentamicina fueron sensibles a la tobramicina y la amikacina, y prácticamente todos los resistentes a la amikacina también lo fueron a la gentamicina y la tobramicina. Un alto porcentaje de los aislamientos resistentes al ciprofloxacino fueron sensibles a la ceftazidima (74%), el imipenem (78%), la tobramicina (81%) y la amikacina (86%); sin embargo, sólo un 37% fueron sensibles a la gentamicina.

En la Tabla 4 se muestra la evolución de la resistencia de *P. aeruginosa* a los diferentes antimicrobianos desde 1996 hasta 1999. Durante el periodo de estudio se ha producido un aumento de la resistencia que ha sido estadísticamente significativo para todos los antimicrobianos estudiados excepto el imipenem. Considerando este hecho, en el último año del estudio sólo la amikacina, el imipenem y la tobramicina mantenían porcentajes de resistencia <10%.

DISCUSIÓN

Las infecciones por *P. aeruginosa* ocupan un lugar importante entre las infecciones hospitalarias. Según un estu-

dio reciente, en Europa son la segunda causa de neumonía nosocomial (20,9%) y de infecciones de piel y tejidos blandos (14%), la tercera de infección urinaria (7,3%) y la cuarta (5,5%) de bacteriemia (9).

En nuestro centro, las muestras en que *P. aeruginosa* se aisló con más frecuencia fueron las de orina (37,3%), las de vías respiratorias bajas (23,8%) y las de heridas (18,2%). Estos tres orígenes coinciden con los encontrados como más frecuentes en otros estudios (5, 8), aunque existen diferencias en los porcentajes y en la frecuencia con que se obtuvieron los aislamientos. Mientras que en un estudio llevado a cabo en Reino Unido (5) los resultados son similares a los obtenidos en nuestro centro (orinas 29%, tracto respiratorio inferior 22,2% y heridas 20%), en el estudio multicéntrico español las muestras de vías respiratorias bajas (30,9%), seguidas de los exudados de heridas y abscesos (27,3%) y finalmente las orinas (21,6%) fueron los orígenes más frecuentes. Las diferentes proporciones de aislamientos comunitarios y sus porcentajes aportados por los distintos servicios son los factores que explican las diferencias en el orden de frecuencia encontradas entre los distintos estudios. La proporción de aislamientos comunitarios en el estudio realizado en Reino Unido fue semejante

Tabla 3. Resistencia cruzada de los aislamientos de *P. aeruginosa*.

Antimicrobiano (nº de cepas resistentes)	Resistencia cruzada (%)						
	Amikacina	Aztreonam	Ceftazidima	Ciprofloxacino	Gentamicina	Imipenem	Tobramicina
Amikacina (43)	–	56	46	76,7	100	18,6	93
Aztreonam (210)	11,4	–	62,3	41,4	43,8	25,7	12,8
Ceftazidima (131)	16,7	80	–	45,8	54,2	31	19
Ciprofloxacino (234)	14	37,2	25,6	–	63	22	18
Gentamicina (300)	14	30,6	23,6	50	–	17,6	19
Imipenem (91)	8,8	59,3	45	57,1	58,2	–	8,8
Tobramicina (58)	69	46,5	43	72,4	98	13,8	–

Tabla 4. Porcentajes de resistencia de los aislamientos de *P. aeruginosa* desde 1996 a 1999.

Antimicrobiano	Año (nº de aislamientos)				p
	1996 (323)	1997 (326)	1998 (310)	1999 (334)	
Amikacina	1,5%	1,6%	4,2%	5,7%	0.004
Aztreonam	9%	14,7%	17,7%	16%	0.01
Ceftazidima	4,6%	10,7%	12,2%	12,9%	0.001
Ciprofloxacino	20,7%	16%	26,4%	23,6%	0.009
Gentamicina	18,5%	18,7%	30%	26%	<0.001
Imipenem	5,8%	6,1%	9,6%	6,6%	0.2
Tobramicina	1,8%	3,7%	5,5%	6,9%	0.01

a la de nuestro centro (48% y 43,6%, respectivamente) y menor que la del estudio español (31%). Igualmente, en estos tres estudios existen diferencias en los porcentajes de cepas correspondientes a los servicios de máximo riesgo, siendo del 15%, el 11,8% y el 24,4%, respectivamente.

Aunque *P. aeruginosa* se considera un patógeno típicamente nosocomial, cabe destacar la alta proporción (43%) de cepas procedentes de pacientes ambulatorios y el alto porcentaje aislado de muestras de orina (61,2%). El papel de *P. aeruginosa* en las infecciones urinarias siempre se ha relacionado con la existencia de anomalías estructurales del tracto urinario. Aunque en este estudio no disponemos de datos sobre los pacientes, la opinión de algunos expertos (*Uso racional de la antibioticoterapia en el tratamiento de las infecciones de vías urinarias bajas en España [año 2010], Estudio prospectivo Expert*, Zambon, S.A.) es que *P. aeruginosa* muestra una tendencia a aumentar como causa de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios sin alteraciones. Quizás sería interesante realizar estudios prospectivos que permitan demostrar esta tendencia.

La resistencia antimicrobiana es uno de los principales problemas que plantean las infecciones por *P. aeruginosa*. En nuestro hospital hemos podido observar un aumento del grado de resistencia a lo largo de estos cuatro años. En el primer año del estudio, los porcentajes de resistencia para la mayoría de los antibióticos estaban muy por debajo de los encontrados en otros centros (10, 11), pero en el último año los porcentajes de resistencia para ceftazidima (13%), aztreonam (18%), gentamicina (26%), tobramicina (7%), amikacina (5,7%) y ciprofloxacino (21%) son similares a los encontrados en el resto de España (ceftazidima 15%, aztreonam 23%, gentamicina 31%, tobramicina 10%, amikacina 9% y ciprofloxacino 23%) (8). Por el contrario, la resistencia a imipenem en nuestro centro continúa siendo inferior a la observada globalmente en España (6,6% y 14%, respectivamente). La adquisición de resistencia por *P. aeruginosa* se ha relacionado con el uso de los antimicrobianos; así, diversos estudios han demostrado que el tratamiento con agentes antipseudomónicos es el principal factor de riesgo para la aparición de resistencia a estos fármacos (12, 13). En nuestro centro, el aumento de la resistencia se ha producido principalmente en los aislamientos intrahospitalarios. Consideramos que dicho aumento refleja el modelo de apertura progresiva del hospital, en el cual la complejidad de los enfermos ha ido aumentando progresivamente, lo cual comporta un aumento en el número de infecciones y en el uso de antibióticos. El uso restringido del imipenem durante estos primeros años podría explicar el bajo grado de resistencia a este antibiótico.

La resistencia de *P. aeruginosa* a los distintos antimicrobianos resulta generalmente de la acción conjunta de varios mecanismos de resistencia. Este hecho se refleja en los datos obtenidos en el presente estudio sobre resistencia cruzada. Cabe mencionar que a diferencia de los resultados del estudio multicéntrico español, donde un alto porcentaje (44%) de aislamientos resistentes a la amikacina fue sensible a la tobramicina, en nuestro centro casi la totalidad de los resistentes a la amikacina también lo fueron a la tobramicina (93%). Estudios sobre resistencia a los aminoglucósidos han puesto de manifiesto que los mecanismos de resistencia a estos fármacos son variables según la localización geográfica (14).

Los datos obtenidos en nuestro trabajo muestran que el espectro de infecciones y el grado de resistencia de *P. aeruginosa* en nuestro centro coinciden en gran parte con los descritos en el estudio multicéntrico español (8). Las diferencias encontradas ponen de manifiesto la existencia de variaciones que pueden atribuirse al distinto uso de los antibióticos en cada centro y a variaciones geográficas en los mecanismos de resistencia de este patógeno. Por este motivo es importante que, además de los estudios multicéntricos, cada laboratorio de microbiología analice de forma sistemática los datos de sensibilidad antimicrobiana de sus cepas, especialmente de aquellos microorganismos con problemas de resistencia antimicrobiana.

Correspondencia: Dra. C. Guerrero, Servicio de Microbiología, Hospital J.M. Morales Meseguer, Avda. Marqués de los Vélez s/n, 30008 Murcia. e-mail: carsmile@hotmail.com

BIBLIOGRAFÍA

1. Rello, J., Torres, A. *Microbial causes of ventilator-associated pneumonia*. *Semin Respir Infect* 1996; 11: 24-31.
2. Maschmeyer, G., Braveny, I. *Review of the incidence and prognosis of Pseudomonas aeruginosa infections in cancer patients in the 1990s*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 915-925.
3. Arruda, E.A., Marinho, I.S., Boulos, M. y cols. *Nosocomial infections caused by multiresistant Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 620-623.
4. Chen, H.Y., Yuan, M., Ibrahim-Elmagboul I.B., Livermore, D.M. *National survey of susceptibility to antimicrobials among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 521-534.
5. Henwood, C. J., Livermore, D. M., James, D., Warner, M., and the Pseudomonas Study Group. *Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa: Results of a survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy disc susceptibility test*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 789-799.
6. Bonfiglio, G. S., Garciotto, V., Russo, G. y cols. *Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: An Italian survey*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 307-310.

7. Fluit, A.C., Verhoef, J., Schmitz, F. J., and the European SENTRY Participants. *Antimicrobial resistance in Europe isolates of Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 370-374.
8. Bouza, E., García-Garrote, F., Cercenado, E., Marín, M., Díaz, M.S. *Pseudomonas aeruginosa: A survey of resistance in 136 hospitals in Spain*. Antimicrob Agents Chemotherapy 1999; 43: 981-982.
9. Fluit, A. C., Schimitz, F. J., Verhoef, J., and the European SENTRY Participants Group. *Frequency of isolation of pathogens from bloodstream, nosocomial pneumonia, skin and soft tissue, and urinary tract infections occurring in european patients*. Eur J Clin Infect Dis 2001; 20: 188-191.
10. Cercenado, E.Y., García Garrote, F. *Mecanismos de resistencia en Pseudomonas aeruginosa*. Rev Clin Esp 1998; 198: 10-16.
11. Gobernado, M. *Antibióticos activos frente a Pseudomonas aeruginosa y su uso clínico*. Rev Clin Esp 1998; 198: 51-61.
12. Nicolas, T., Matthew, H.S., Yehuda, C. *Imipenem resistant Pseudomonas aeruginosa: Risk factors and antibiotic susceptibility patterns*. Clin Infect Dis 1997; 25: 1094-1098.
13. Yehuda, C., Nicolas, T., George, M.E., Matthew, H.S. *Emergence of antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa: Comparison of risk associated with different antipseudomonal agents*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1379-1382.
14. Schmitz, F.J., Verhoef, J., Fluit, A.C., and the SENTRY Participants Group. *Prevalence of aminoglycoside resistance in 20 European University Hospitals participating in the European SENTRY antimicrobial surveillance programme*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18: 414-421.