

Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen hospitalario multirresistentes a 21 antibióticos

Jane-Castillo Vera,* Rosa María Ribas-Aparicio,* Lourdes Osorio-Carranza,**
Gerardo Aparicio*

RESUMEN

Se llevó a cabo la determinación del perfil de resistencia a 21 antibióticos en 24 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas del Hospital de Infectología del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Las muestras fueron colectadas durante un período de tres meses y correspondieron a 2 aislamientos por semana. Se realizó la identificación de las especies por procedimientos microbiológicos estándar. Se investigó la susceptibilidad a 21 antibióticos usando el método de difusión en agar, utilizando discos de papel filtro y el método de dilución en placa para el imipenem, acorde a las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio de los Estados Unidos Americanos (CLSI). Catorce de las 24 cepas mostraron un fenotipo de multirresistencia a los 21 antibióticos estudiados, mientras que 6 cepas mostraron resistencia a sólo 2 antibióticos. Estos resultados indican que durante un período de tres meses en el hospital estudiado las cepas de *P. aeruginosa* con fenotipo de multirresistencia y fenotipo de resistencia intermedia compartieron el nicho ecológico. El antibiótico que mostró ser el más efectivo contra *P. aeruginosa* fue el imipenem. La concentración mínima inhibitoria del imipenem fue de $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ para algunas de las cepas multirresistentes. Se demostró que 14/24 cepas de *P. aeruginosa* en estudio tienen un comportamiento de multirresistencia a los antibióticos. Este estudio resalta la necesidad de reforzar las medidas de control de las infecciones intrahospitalarias, relacionando el uso y abuso de los antibióticos que favore-

ABSTRACT

The resistance profile to 21 antibiotics in 24 strains of *Pseudomonas aeruginosa* strains from the Infectology Hospital of the Mexican Institute of Social Security (IMSS) in Mexico was performed. The samples were collected during a period of three months corresponding to two isolations per week. *P. aeruginosa* identification was achieved by microbiological standard procedures. The susceptibility to 21 antibiotics was investigated by using the disk diffusion method, and the agar dilution method for imipenem according to the recommendations of the Clinical Laboratory and Standards Institute of the United States of America (CLSI). Fourteen of the 24 strains showed a multiresistant phenotype to 21 antibiotics tested; while 6 strains showed resistance only to 2 antibiotics. These results indicate that during a three month period in the hospital under study there was a co-existence of multiresistant and low marker resistance strains sharing the ecological niche. The most effective antibiotic against *P. aeruginosa* was imipenem. The minimal inhibitory concentration for imipenem was up to $64 \mu\text{g/mL}$ for most of the multiresistant strains. This study demonstrated the presence of 14/24 multiresistant *P. aeruginosa* strains over a 3 month period. Our findings emphasize the need to reinforce the measures of infection control related to the use and abuse of antibiotics that favor the selection of *P. aeruginosa* strains resistant to antibiotics recommended for treatment.

* Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

** Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" del Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F.

Correspondencia:

Dr. Gerardo Aparicio.

Laboratorio de Bacteriología Médica del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Carpio y Plan de Ayala, Col. Casco de Santo Tomás, 11340 México, D.F. Fax: 5729 62 07, e-mail: gaparici@hotmail.com

Esta investigación fue apoyada por el Instituto Politécnico Nacional clave: 20050153.

Recibido: 07-10-2005

Aceptado: 07-04-2006

cen la selección de cepas de *P. aeruginosa* que son resistentes a los antibióticos.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, multirresistencia, antibióticos, nosocomial

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, panresistant, antibiotics, nosocomial.

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es la especie del género *Pseudomonas* más importante con respecto al número y tipo de infecciones generadas. Es una de las causas principales de infecciones nosocomiales, como neumonía, infecciones en el tracto urinario y bacteriemia, especialmente de aquellos que se encuentran en la unidad de terapia intensiva, ya que reciben tratamientos con antibióticos de amplio espectro, dando como resultado un aumento en la morbilidad y en la mortalidad, períodos de hospitalización prolongados y un incremento en costos. Esta bacteria representa un problema importante en pacientes con quemaduras y existe un grupo poblacional especialmente vulnerable, formado por los enfermos de fibrosis quística y pacientes hospitalizados con cáncer.¹⁻⁵ *P. aeruginosa* se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza debido a su capacidad para sobrevivir en ambientes acuáticos, además puede representar un problema en los hospitales, ya que llega a encontrarse en pomadas, jabones, fluidos biológicos, soluciones de aplicación óptica, en tinas de hidroterapia y equipos de terapia respiratoria.⁶

La resistencia que presentan las bacterias a los antimicrobianos, es uno de los principales problemas de la terapéutica actual, la cual se ha desarrollado por el uso imprudente y el abuso de los antibióticos. *P. aeruginosa* desde hace varias décadas tiene importancia clínica debido a la resistencia intrínseca a varios antibióticos de las familias de los β -lactámicos y de las quinolonas, además de antibióticos diversos como las tetraciclinas y el cloramfenicol. Los mecanismos bioquímicos que se han asociado con este fenómeno son una baja permeabilidad en la membrana, la producción de β -lactamasas cromosomales del tipo AmpC; la reducción de porinas como la OprD y la sobreexpresión de bombas de expulsión activa como la MexAB-OprM.^{7,8} Hoy día se suma a lo anterior, la selección frecuente en ambientes hospitalarios de cepas que tienen un fenotipo de multirresistencia, lo cual resulta de varios eventos de mutaciones puntuales de genes con una actividad específica y/o

mediante la adquisición de nuevo material genético, siendo esto último lo más frecuente.⁹ Los carbapenemes, imipenem y meropenem, así como las cefalosporinas de tercera y de cuarta generación tienen un amplio espectro de actividad, aunque ya se han descrito resistencias, principalmente en los bacilos Gram negativos no fermentadores.¹⁰ Así, aunque algunos β -lactámicos se consideran el arma principal contra infecciones causadas por *P. aeruginosa*, la resistencia a esos antibióticos representa el mayor desafío para el tratamiento, así como cuando esa resistencia está asociada además a otros antibióticos como aminoglucósidos y quinolonas, ya que existe un riesgo mayor en la mortalidad de los pacientes, comparativamente a otras especies bacterianas.¹¹⁻¹³

La selección de cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes parece estar asociada a la capacidad que presentan de mantenerse en un ambiente clínico sometido a una presión de uso permanente de antibióticos.¹⁴ En nuestro país existen escasas investigaciones que refieran el espectro de resistencia de las bacterias aisladas de las infecciones nosocomiales; sin embargo, estudios como el de Cornejo-Juárez y col. (2005)¹⁵ destacan la relevancia y la necesidad de generar información útil para evaluar un programa de control de uso de antimicrobianos de un hospital. Por lo anterior, es necesario que en nuestro país se realicen estudios sobre cepas emergentes y su resistencia a los antibióticos en los hospitales con el fin de implementar medidas terapéuticas específicas. De los métodos descritos para determinar la susceptibilidad a los antibióticos, el de difusión en agar de antibióticos contenidos en discos de papel filtro es el más práctico, tiene buena reproducibilidad y cuenta con una técnica de control de calidad que asegura la confiabilidad del procedimiento.^{16,17} Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el determinar el perfil de resistencia a 21 antibióticos útiles en el tratamiento de infecciones intrahospitalarias causadas por cepas de *P. aeruginosa*, demostrando que las cepas multirresistentes se pueden seleccionar y con ello, interferir con una terapia antimicrobiana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Se emplearon 24 cepas clínicas de *P. aeruginosa* aisladas en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" del IMSS. Como éste no fue un estudio con interés epidemiológico con respecto al origen y relación entre los aislamientos, se decidió el incorporar 2 cepas por semana durante el periodo agosto a octubre del 2004, considerando que las cepas provinieran de procesos diversos como causa de infección intrahospitalaria y que demostraran ser resistentes al menos a uno de los antibióticos que se analizan en las pruebas de susceptibilidad en el Hospital de Infectología.

Identificación bacteriológica

La identificación se llevó a cabo aplicando pruebas convencionales y que se refieren en la literatura.¹⁸ Las pruebas seleccionadas incluyeron: prueba de oxidasa positiva, catalasa positiva, hemólisis beta en gelosa sangre, producción de piocianina y de fluoresceína en gelosa Müeller-Hinton, olor a masa de tortilla, reacción alcalina sobre alcalina en agar hierro triple azúcar (TSI), metabolismo oxidativo en medio O/F adicionado de glucosa y crecimiento a 42°C. Todas las cepas fueron identificadas como *P. aeruginosa*.

Determinación de la susceptibilidad a los antibióticos por el método de difusión en agar utilizando discos de papel filtro

El procedimiento que se describe a continuación se realizó tanto para las cepas de referencia empleadas para llevar a cabo el control de calidad del procedimiento, así como para las cepas intrahospitalarias motivo de este estudio y de acuerdo a las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (*Clinical and Laboratory Standards Institute* [CLSI]) antes conocido como el Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (*National Committee for Clinical Laboratory Standards* [NCCLS]).^{16,17} Para cada cepa aislada e identificada, se tocaron con un asa cuatro o cinco colonias del mismo tipo morfológico y se inocularon en un tubo con caldo Müeller-Hinton, incubándose de 2 a 4 h a 37°C hasta que apareció una leve turbiedad. Lo anterior se hizo con el propósito de ajustar el inóculo de prueba, tomando como referencia el tubo 0.5 de la escala del nefelómetro de McFarland, igualando la tur-

bidez de los tubos problema y del nefelómetro sobre un fondo blanco bien iluminado que presentaba una línea negra gruesa. La siembra del inóculo se hizo en cajas con 20 mL de gelosa Müeller-Hinton con 4 mm de espesor –conservadas a 4°C en bolsas de plástico y selladas para evitar la deshidratación–, usando un hisopo que se sumergió en la suspensión bacteriana ajustada, quitando el exceso de inóculo presionando y girando el hisopo sobre la pared interna de tubo por arriba del nivel del caldo. Cada caja se sembró en tres direcciones y a 60° para obtener una distribución uniforme sobre toda la superficie del agar. Las cajas inoculadas se dejaron reposar por cinco minutos a temperatura ambiente para que se absorbiera el inóculo. Se colocaron los unidiscos no más de cinco en cada caja de Petri. Los discos se distribuyeron uniformemente para evitar una sobreposición de las zonas de inhibición del crecimiento. Para asegurar un contacto con la superficie, los sensidiscos se presionaron suavemente sobre la gelosa con ayuda de una pinza estéril. La selección de los discos a usar en cepas de *P. aeruginosa*, así como la concentración fue con base en las recomendaciones del CLSI (*Cuadro I*).^{16,17} Los discos empleados fueron de la marca Becton Dickinson y se mantuvieron en bolsas selladas en refrigeración de acuerdo a las instrucciones del proveedor. Las placas se invirtieron e incubaron a 35°C en una incubadora de marca nacional durante 18 a 24 h. Posteriormente se midieron los halos de inhibición en milímetros con una regla por el fondo de la caja, los resultados se registraron y después fueron comparados con los valores señalados en los cuadros correspondientes. Los diámetros de las zonas de inhibición de las cepas clínicas se interpretaron y se utilizaron para determinar las categorías de susceptible y resistente. Este procedimiento se repitió por triplicado obteniéndose resultados reproducibles.

El control de calidad de la prueba se realizó siguiendo las recomendaciones del CLSI, utilizando como microorganismo de referencia la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 y la cual se empleó en cada experimento. El procedimiento se consideró válido si la cepa de referencia proveía diámetros en los valores de susceptibilidad que estaban comprendidos dentro de los intervalos de referencia que se muestran en el *cuadro I*.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) por el método de diluciones en agar

El procedimiento que se describe a continuación se realizó tanto con la cepa de referencia empleada para

Cuadro I. Criterios del control de calidad del método de difusión en disco de papel filtro.

Agentes antimicrobianos	Concentración del disco (µg)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Amikacina	30 µg	18-26 mm
Azlocilina	75 µg	24-30 mm
Aztreonam	30 µg	23-29 mm
Carbenicilina	100 µg	18-24 mm
Cefepime	30 µg	24-30 mm
Cefoperazona	75 µg	23-29 mm
Ceftazidima	30 µg	22-29 mm
Ceftizoxima	30 µg	12-17 mm
Ceftriaxona	30 µg	17-23 mm
Ciprofloxacina	5 µg	25-33 mm
Imipenem	10 µg	20-28 mm
Levofloxacina	5 µg	19-26 mm
Meropenem	10 µg	27-33 mm
Mezlocilina	75 µg	19-25 mm
Netilmicina	30 µg	17-23 mm
Norfloxacina	10 µg	22-29 mm
Ofloxacina	5 µg	17-21 mm
Piperacilina	100 µg	25-33 mm
Ticarcilina	75 µg	21-27 mm
Ticarcilina/ácido clavulánico	75/10 µg	20-28 mm
Tobramicina	10 µg	19-25 mm

Tomada de: CLSI, 2005^{16,17}

llevar a cabo el control de calidad del procedimiento, como con las cepas clínicas motivo de este estudio de acuerdo a las recomendaciones del CLSI.¹⁹ Este procedimiento exclusivamente se realizó para evaluar la actividad del imipenem, debido a que es uno de los antibióticos que se administra en los casos de infección más severos por su actividad contra cepas de *P. aeruginosa*. Lo primero que se realizó fue la preparación de las cajas conteniendo diferentes concentraciones del antibiótico. Se utilizó la sal del imipenem (Merck Sharp & Dohme), la cual se disolvió y diluyó en agua desionizada calidad inyectable. La concentración inicial de trabajo fue de 110,000 µg/mL y a partir de ésta se realizaron una serie de diluciones dobles en agar dando lugar a concentraciones entre 128 µg/mL y 0.0156 µg/mL. Cada placa se llevó a un volumen final de 15 mL correspondiendo 1.5 mL de la dilución con 13.5 mL de gelosa Müeller-Hinton, considerando el mezclar suavemente para evitar la formación de burbujas y se vertió el contenido en cajas de Petri colocadas sobre una superficie plana sin desniveles. Después se realizó la preparación del inóculo, para lo cual con un asa se tocaron de cuatro o cinco colonias aisladas del mismo tipo morfológico y se inocularon en un tubo con caldo Müeller-Hinton, incubándose de 2 a 4 h a 37°C hasta que apareció una leve opacidad. Lo anterior se hizo con el propósito de ajustar el inóculo de prueba, tomando como referencia el tubo

0.5 de la escala del nefelómetro de McFarland, colocando los tubos problema y del nefelómetro sobre un fondo blanco bien iluminado que presentaba una línea negra gruesa. Se realizó una dilución 1:10 de la suspensión previamente ajustada, para obtener una densidad bacteriana de 10⁷ y se cargó en un replicador de Steers. En seguida se inocularon las placas que contenían las diferentes concentraciones del antibiótico, disponiendo en su sitio la base del replicador de Steers que contenía las cepas ajustadas y se inocularon una a una las cajas de Petri que contenían las diferentes concentraciones del antibiótico. Las cajas se invirtieron e incubaron a 35°C por 18 h. Finalmente, se determinó la concentración mínima que inhibió el desarrollo de cada una de las cepas, para así determinar las categorías de susceptible y de resistente. El control de calidad del procedimiento se realizó utilizando como microorganismos de referencia la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, la cual se empleó en cada prueba, observándose la concentración del imipenem que inhibió el crecimiento y que está referido en los cuadros elaborados para dicho fin.

RESULTADOS

Obtención de los perfiles de resistencia de acuerdo al método de difusión en discos de papel filtro

Se realizó el método de difusión en agar de 21 antibióticos contenidos en discos de papel filtro para las 24 cepas de *P. aeruginosa* de origen intrahospitalario, como se indicó en material y métodos. Las cepas presentaron perfiles de resistencia que variaron de 2 hasta los 21 antibióticos probados, como se muestra en el *cuadro II*. Las cepas fueron agrupadas en perfiles, de acuerdo a una asignación de seis grupos que correspondieron del A al F. Se observó que las 10 ce-

pas del perfil A fueron resistentes a todos los antibióticos probados, mientras que las 4 cepas de los perfiles B y C resultaron susceptibles a 1 y 2 antibióticos respectivamente. Los 3 primeros perfiles correspondieron a cepas con una multirresistencia amplia, mientras que los perfiles D, E y F se asociaron con una resistencia limitada, ya que en 6 cepas la resistencia fue para 2 antibióticos.

Después se hizo un análisis detallado de la resistencia que presentaban las cepas, organizando los datos por familia de antibióticos y considerando los seis perfiles de resistencia obtenidos. Los resultados se muestran en el *cuadro III*. Las 10 cepas del grupo A resultaron resistentes a los 21 antibióticos evaluados, lo cual puede deberse a la presencia de diferentes mecanismos de resistencia. Las 2 cepas del grupo B fueron resistentes a los antibióticos de las diferentes familias evaluadas con excepción de monobactámicos y carbapenemes, ya que una cepa fue sensible al aztreonam y la otra al imipenem respectivamente. En el grupo C, se amplió la susceptibilidad al grupo de las cefalosporinas, ya que una de las dos cepas presentó sensibilidad al cefepi-

Cuadro II. Resistencia de 24 cepas de *P. aeruginosa* de origen clínico a 21 antibióticos.

Número de cepas resistentes	Número de antibióticos a los que fueron resistentes	Perfiles asignados*
10	21	A
2	20	B
2	19	C
2	6	D
2	5	E
6	2	F

* Los perfiles fueron asignados por los autores

Cuadro III. Resistencia de 24 cepas de *P. aeruginosa* de origen clínico que presentan diferente perfil de resistencia a 21 antibióticos de diferentes familias. Se presenta el número de cepas resistentes en cada uno de los perfiles.

Antibióticos por familia	Perfiles de resistencia detectados (No. de cepas)						Total
	A (n = 10)	B (n = 2)	C (n = 2)	D (n = 2)	E (n = 2)	F (n = 6)	
Familia penicilinas							
Piperacilina	10	2	2	1	0	0	15/24
Ticarcilina	10	2	2	1	0	0	15/24
Ticarcilina /ácido clavulánico	10	2	2	1	0	0	15/24
Mezlocilina	10	2	2	1	0	0	15/24
Carbenicilina	10	2	2	0	0	0	14/24
Azlocilina	10	2	1	0	0	0	13/24
Familia cefalosporinas							
Ceftizoxima	10	2	2	0	2	5	21/24
Cefoperazona	10	2	2	0	1	0	15/24
Ceftriaxona	10	2	2	2	1	2	19/24
Ceftazidima	10	2	1	0	0	0	13/24
Cefepime	10	2	1	0	0	0	13/24
Familia monobactámicos y carbapenemes							
Aztreonam	10	1	2	0	0	0	13/24
Meropenem	10	2	2	1	0	0	15/24
Imipenem	10	1	1	1	1	0	14/24
Familia aminoglucósidos							
Netilmicina	10	2	2	2	2	4	22/24
Tobramicina	10	2	2	1	2	1	18/24
Amikacina	10	2	2	1	1	0	16/24
Familia quinolonas							
Ofloxacina	10	2	2	0	0	0	14/24
Ciprofloxacina	10	2	2	0	0	0	14/24
Levofloxacina	10	2	2	0	0	0	14/24
Norfloxacina	10	2	2	0	0	0	14/24

me y a la ceftazidima, mientras que la otra lo fue a la azlocilina y el imipenem. A partir del grupo D se observaron cambios importantes, ya que sólo la netilmicina y la ceftriaxona resultaron marcadores comunes para las dos cepas de este perfil de resistencia; además de resultar variada la resistencia a otros aminoglucósidos, a penicilinas y carbapenems. De las cepas del grupo E, se encontró resistencia común a los antibióticos netilmicina, tobramicina y la ceftizoxima; mientras que fue variable en la amikacina, cefoperazona, ceftriaxona e imipenem. Del grupo F no se presentó ningún antibiótico para el cual se compartiera la resistencia por las 6 cepas, resultando resistentes de forma variable como para la netilmicina, la tobramicina, la ceftizoxima y la ceftriaxona. Considerando el conjunto de cepas, se observó que la susceptibilidad mayor se presentó para la ceftazidima, el cefepime, el aztreonam y el imipenem. Debido a la importancia de este último en el tratamiento de los casos más difíciles de infección por *P. aeruginosa*, se decidió realizar la técnica de dilución seriada en placa y así determinar el nivel de resistencia que presentaban las cepas a este antibiótico.

Obtención de la concentración mínima inhibitoria al imipenem

Los resultados de la MIC mostraron en 11 cepas un fenotipo de resistencia, de donde 6 cepas generaron el valor más alto siendo de ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$. Las MIC al imipenem por las cepas consideradas como panresistentes variaron entre 64 y 32 $\mu\text{g/mL}$, con excepción de una cepa que presentó un valor de 4 $\mu\text{g/mL}$, que finalmente fue reubicada en el criterio de susceptible. Dos cepas presentaron valores intermedios de MIC ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$, 3 cepas mostraron valores bajos de MIC ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$; el resto de las cepas tuvieron concentraciones de 4 a 1 $\mu\text{g/mL}$ correspondiendo al intervalo de susceptibilidad. Así mismo, las 10 cepas pertenecientes a los perfiles de resistencia D, E y F, en los cuales 2 cepas presentaron resistencia al imipenem por el método de difusión en disco de papel filtro, mostraron un comportamiento diferente por el método de dilución, ya que resultaron con valores de MIC de 4 y 2 $\mu\text{g/mL}$, por lo que fueron reubicadas dentro de las susceptibles. Debido a que la MIC resulta ser un método de mayor sensibilidad para detectar la resistencia de las cepas, de las 14 cepas evaluadas como resistentes por el método de difusión en disco de papel filtro, finalmente sólo 11 fueron consideradas como resistentes al imipenem.

DISCUSIÓN

En este estudio se reportan cepas de *P. aeruginosa* aisladas en el Hospital de Infectología del IMSS con un comportamiento de multidrogorresistencia. El concepto de multirresistencia se empezó a utilizar durante los años setenta aplicado a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y de *Streptococcus pneumoniae* con un perfil de resistencia contra 2 o más agentes antibacterianos utilizados habitualmente en el tratamiento de las infecciones producidas por estos microorganismos. Con posterioridad, el término se aplicó a patógenos oportunistas, que presentaban resistencia a 3 o más antibióticos. Flamm y cols. en 2002 reportaron la multirresistencia de cepas de *P. aeruginosa*, al observar que eran resistentes al menos a 3 de los antibióticos siguientes: amikacina, cefepime, ceftazidima, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, piperacilina, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-clavulanato y/o tobramicina.²⁰

Los 21 antibióticos analizados en este estudio se describen en la literatura como útiles para realizar el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*. De las 24 cepas analizadas, observamos que 14 presentaron, más que un fenómeno de multirresistencia, un fenómeno de panresistencia; entendiéndose ésta como que las cepas fueron susceptibles hasta 2 de los 21 antibióticos utilizados y lo cual ya fue reportado empleando el mismo criterio para *Stenotrophomonas maltophilia*, otro patógeno de interés intrahospitalario.²¹ Esta resistencia variada significa una situación preocupante y urge la necesidad de evaluar cepas de diferentes nosocomios para entender el grado de diseminación de este fenómeno entre las cepas de *P. aeruginosa*.

Se corroboró que en las cepas de *P. aeruginosa* de este estudio la multirresistencia fue frecuente, ya que más del 50% de las cepas colectadas al azar fueron resistentes de 19 a 21 antibióticos. Esto indica que las cepas se están seleccionando en el ambiente del hospital incluido en este estudio, ya que al realizar una recuperación al azar por 3 meses se observó que la mayor parte del lote de cepas resultaron multidrogorresistentes. Este comportamiento también puede interpretarse como que son cepas con una mayor virulencia, ya que a mayor número de marcadores de resistencia, mayor resultó el número de cepas de cada perfil asignado. Estudios en México realizados por Celaya y Moreno en 2001,¹² mostraron diversidad en el fenómeno de resistencia, pero no tan marcada como la que se observó en este estudio. De forma similar, Cavallo y cols. en el 2000,¹⁰ analizaron el per-

fil de resistencia de 1,310 cepas de *P. aeruginosa* y encontraron un 25% de resistencia al imipenem, cef-tazidima y piperacilina.

El establecimiento de políticas adecuadas en la terapéutica de las infecciones, ayuda al control de la diseminación de la resistencia bacteriana. Ejemplo de esto es el tratamiento de elección que se debe dar en casos de neumonía severa o septicemia en las que se sospeche de *P. aeruginosa* en los que se debe administrar una combinación de un β -lactámico y un aminoglucósido o una fluoroquinolona; todo con el objetivo de evitar la selección de cepas resistentes,²² ya que un incremento de la multidrogorresistencia complica la selección de la terapia empírica.²³ Los carbapenemes, y en particular el imipenem, se registran como los antibióticos de elección en los casos más severos.

En este trabajo se pudo observar que el fenómeno de resistencia de las penicilinas, quinolonas y carbapenemes fue similar, es decir el mismo número de cepas fue resistente frente a los antibióticos de las tres familias, lo que pudiera sugerir que se presenta una co-resistencia, mientras que para el resto de los antibióticos y en conjunto por cada familia de los mismos, los resultados fueron variables. Los antibióticos a los que un menor número de cepas fueron resistentes correspondieron a carbapenemes y a cefalosporinas, lo que confirma el hecho que el imipenem y las cefalosporinas de tercera generación sean los antibióticos empleados en el campo clínico para resolver los casos más difíciles. La introducción de carbapenemes en la práctica clínica representa un gran adelanto para el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias Gram negativas, ya que el imipenem, meropenem y aztreonam son de los antibióticos de elección para el tratamiento de muchas infecciones causadas por *P. aeruginosa* resistentes a penicilinas y cefalosporinas.¹¹ Lo anterior destacó la importancia de analizar el comportamiento de las cepas de *P. aeruginosa* frente a diferentes concentraciones del imipenem, por lo que determinamos la MIC a dicho antibiótico. Once de las cepas incluidas en este estudio resultaron resistentes al imipenem de acuerdo a los valores obtenidos por la MIC, en donde 6 cepas generaron el valor más alto ($\geq 64 \mu\text{g/mL}$), valor que es comparable con el reportado en la literatura por otros autores.^{24,25}

En conclusión, en este estudio se demuestra que un ambiente hospitalario de estas características es un lugar propicio para que se seleccionen cepas de *P. aeruginosa* que pueden ser consideradas como multirresistentes, ya que el aislamiento de las cepas correspondió a un período de tres meses. Los antibióti-

cos probados en el estudio incluyeron a aquéllos como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, tanto como carbapenemes, encontrando un buen número de cepas que resultaron resistentes a dichos antibióticos que son considerados como de elección para los procesos infecciosos de mayor riesgo. Este estudio ilustra la necesidad de mejorar las políticas de uso de los antibióticos en los hospitales y así coadyuvar en las medidas de control aplicables a las infecciones intrahospitalarias.

REFERENCIAS

- Bertrand X, Thouverez M, Patry C, Balvay P, Talon D. *Pseudomonas aeruginosa*: antibiotic susceptibility and genotypic characterization of strains isolated in the intensive care unit. *Clinic Microbiol Infect* 2001; 7: 706-708.
- George RH. *Pseudomonas* infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1987; 62: 438-439.
- Govan JRW, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol Rev* 1996; 60: 539-574.
- Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin RMD (Eds.). *Principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. New York, N.Y. USA: Churchill Livingstone, Inc.; 2000. p.1980-2003.
- Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 57-71.
- McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 147-179.
- Gibbons A. Exploring new strategies to fight drug resistance microbes. *Science* 1992; 257: 1036-1064.
- Hancock RE. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative Gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 593-599.
- Poole K. Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 479-487.
- Cavallo JD, Fabre R, Leblanc F, Nicolas-Chanoine MH, Thabaut A, Groupe d'Etude de la Resistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux Bétalactamines. Antibiotic susceptibility and mechanisms of β -lactam resistance in 1,310 strains of *Pseudomonas aeruginosa*: a French multicenter study (1996). *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 133-136.
- Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 306-325.
- Celaya MR, Moreno JN. Estudio bacteriológico y determinación de la sensibilidad a 20 antibióticos, en una población de pacientes atendidos en el Hospital General de México durante el año de 1999. *Enf Infect Microbiol* 2001; 21: 129-144.
- Kriegskauykat J, Porter E, Lomovskaya O, Wong-Berlinger A. Use of an efflux pump inhibitor to determine the prevalence of efflux pump-mediated fluoroquinolone resistance and multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 565-570.
- Okeke IN, Klugman KP, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O'Brien TF, Pablos-Mendez A, Laxminarayan R. Antimicrobial resistance in developing countries. Part II: strategies for containment. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 481-493.
- Cornejo-Juarez P, Velasquez-Acosta C, Díaz-González A, Volkow-Fernandez P. Trend of antimicrobial drug-suscep-

- tibility of blood isolates at an oncological center (1998-2003). *Salud Pública Mex* 2005; 47: 288-293.
16. CLSI/NCCLS. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard*. 8th edition. M02-A8. CLSI, Wayne, Philadelphia, USA; 2005.
 17. CLSI/NCCLS. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement M100-S15*. CLSI, Wayne, Philadelphia, USA; 2005.
 18. Aparicio OG. Géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Stenotrophomonas*, En: Lugo de la Fuente G (ed.). *Bacteriología Médica*. 3ª ed. México D.F.; Ediciones Cuéllar: 2005. p. 63-72.
 19. CLSI/NCCLS. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard*. 6th edition. M07-A6. CLSI, Wayne, Philadelphia, USA; 2005.
 20. Flamm, RK, Weaver MK, Thornsberry C, Jones ME, Karlovsky JA, Sahm DF. Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2431-2436.
 21. Demko CA, Stern RC, Doershuk CF. *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: incidence and prevalence. *Pediatr Pulmonol* 1998; 25: 304-308.
 22. Bodmann KF. Current guidelines for the treatment of severe pneumonia and sepsis. *Chemotherapy* 2005; 51: 227-233.
 23. Neuhauser MM, Weinstien RA, Rdyman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units. *JAMA* 2003; 289: 885-888.
 24. Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C, Amicosante G, Daturi R, Lee K. Simple microdilution test for detection of metallo- β -lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4388-4390.
 25. Hemalatha V, Sekar U, Kamat V. Detection of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients. *Indian J Med Res* 2005; 122: 148-152.

