



Bioquímica

ISSN: 0185-5751

publicacionesbioquimia@prodigy.net.mx

Sociedad Mexicana de Bioquímica A. C.

México

Salazar, Daniel; Hernández, Yasmín; Palma, Sara; González, Aileen; Reyes, Teresa
Actividad antimicrobiana de doce fármacos frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen
clínico
Bioquímica, vol. 26, núm. 4, octubre-diciembre, 2001, pp. 79-84
Sociedad Mexicana de Bioquímica A. C.
Distrito Federal, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57611574002>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

MICROBIOLOGIA

Actividad antimicrobiana de doce fármacos frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen clínico

Daniel Salazar¹, Yasmín Hernández², Sara Palma³, Aileen González³, Teresa Reyes³.

RESUMEN

La *Pseudomonas aeruginosa* presenta una resistencia muy particular frente a diferentes antimicrobianos. Por este motivo nos propusimos conocer el comportamiento de 117 cepas de *P. aeruginosa* de origen clínico frente a 12 fármacos: estreptomicina, gentamicina, carbenicilina, azlocilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, ofloxacina, cloranfenicol y tetraciclina. La concentración mínima inhibitoria(CMI) se determinó por el método de microdilución en caldo. La mayor actividad la mostraron gentamicina (CMI 0.25-4 μ g/mL), ciprofloxacina (CMI 0.125-1 μ g/mL) y ceftazidima (CMI \geq 64 μ g/mL), mientras que los antibióticos menos efectivos fueron estreptomicina (CMI \geq 64 μ g/mL), cefotaxima (CMI=128 μ g/mL), ofloxacina (CMI= 32 μ g/mL) y carbenicilina (CMI=1024 μ g/mL). Se detectaron 7 cepas de *P. aeruginosa* resistentes a ofloxacina (CMI 8- 32 μ g/mL) y una cepa con resistencia intermedia a ciprofloxacina (CMI=2 μ g/mL). En este estudio encontramos 17 cepas multiresistentes (resistentes a seis o más fármacos), los cuales conformaron 10 patrones de resistencia. Estos resultados evidencian la necesidad de una vigilancia microbiológica para detectar el comportamiento de esta especie bacteriana ante las nuevas quinolonas y la propagación de cepas resistentes a antimicrobianos de amplio espectro de acción.

Palabras claves: susceptibilidad antimicrobiana, concentración mínima inhibitoria, *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUCCION

La *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria oportunista¹, responsable de un amplio espectro de enfermedades desde bacteremia, neumonía, infecciones del sistema nervioso central, tracto urinario hasta infecciones locales de tejidos blandos, muchas de las cuales son nosocomiales²⁻⁴. Este microorganismo, que presenta una baja patogenicidad y raramente produce infecciones en individuos inmunocompetentes, es capaz de colonizar e infectar a pacientes con heridas quirúrgicas, inmunodeprimidos, o aquellos

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa presents a very peculiar resistance to different drugs. For this reason our purposes in this study was to know the behavior of the 117 *P. aeruginosa* strains isolated from clinical samples against twelve drugs: streptomycin, gentamycin, carbenicilin, azlocilin, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, nalidixic acid, ciprofloxacin, ofloxacin chloranphenicol and tetracycline. We used the microdilution minimum inhibitory concentration (MIC) method. Gentamycin (MIC 0.25-4 μ g/mL), ciprofloxacine (MIC 0.125-1 μ g/mL) and ceftazidime (MIC \geq 64 μ g/mL) showed the major activity against *P. aeruginosa* strains, by the other hand, others antimicrobians like cefotaxime (MIC=128 μ g/mL), ofloxacin (MIC=32 μ g/mL) and carbenicilin (MIC=2 μ g/mL) shown low activity against our *P. aeruginosa* strains. We detected 7 resistant strains to ofloxacin (MIC 8-32 μ g/mL) and one intermediate resistant strains to ciprofloxacine (MIC=2 μ g/mL). We found 17 multi-resistant *P. aeruginosa* strains (resistance to six or more drugs) producing 10 resistance patterns. These results show the need for a microbiological surveillance in order to know the behaviour of these bacteria against the new quinolones and so the propagation of the resistant strains to broad-spectrum drugs.

Key words: drug susceptibility, minimum inhibitory concentration (MIC), *Pseudomonas aeruginosa*.

sometidos a tratamiento excesivo con antimicrobianos de amplio espectro, a muchos de los cuales ya se ha reportado resistencia⁵⁻⁶.

El uso indiscriminado de antibióticos en la práctica médica y la agricultura rompió el equilibrio del ecosistema en el que existía un balance entre los microorganismos productores de antibióticos y aquellas poblaciones sensibles, de las que surgían cepas resistentes⁷⁻⁸.

El problema de la resistencia es especialmente importante debido a la diseminación mundial de plásmidos portadores de genes que tienen la capacidad de conferir resistencia contra múltiples antimicrobianos simultáneamente.

La resistencia bacteriana se ha convertido en un flagelo que engloba a un gran número de fármacos, frente a las cuales, los microorganismos desarrollan mecanismos de resistencia consistentes en la alteración de diferentes fármacos, ya sea por inactivación enzimática, baja penetración de los fármacos a través de la membrana o por una extracción activa de éstas a través de la membrana celular⁹.

La *Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por poseer una resistencia innata a una gran variedad de agentes antimicrobianos, por lo

¹ Hospital Pediátrico "Pedro Borrás". Ciudad de La Habana. Cuba

² Centro de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Artemisa, La Habana. Cuba.

³ Departamento de Microbiología. Asistencia Médica. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Ciudad de La Habana. Cuba.

Sobretiros: Lic. Daniel Salazar Rodríguez, Laboratorio Diagnóstico Microbiología. Atención Médica, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". IPK. Apartado Postal No. 601, Mariano 13, Ciudad de la Habana, Cuba. E-mail: aileen@ipk.sld.cu

que se han realizado muchos intentos para detener el aumento de la resistencia de esta bacteria a los fármacos, que constituye un serio problema tal como lo ocurrido con las cepas de *Mycobacterium* resistentes a múltiples fármacos y *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) ¹⁰⁻¹³.

Debido a la frecuencia con que los pacientes inmunodeprimidos son tratados con antibióticos, producto a la incidencia de infecciones oportunistas que padecen, lo que conlleva al uso de antibióticos incluso en determinadas ocasiones de forma profiláctica, provocando una alta incidencia de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a los fármacos. Se han reportado diferentes patrones de resistencia a partir de cepas aisladas de especímenes de este tipo de pacientes ¹⁴.

Por la alta frecuencia de *P. aeruginosa* en muestras de pacientes inmunodeprimidos y teniendo en cuenta que la antibioticoterapia de las infecciones causadas por este microorganismo es un tema controversial por los fallos terapéuticos observados ¹⁵, se hizo interesante conocer la incidencia real del problema, al menos en nuestro entorno, por lo que se propuso el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana y los niveles de resistencia de las cepas de *P. aeruginosa* circulantes entre pacientes infectados por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y pacientes con fibrosis quística del páncreas (FQ).

MATERIAL Y METODOS

Cepas utilizadas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, donada gentilmente por la Dra. Sara C. Esnard (Instituto de Higiene y Epidemiología Microbiología, Cuba), fue usada para el control cuantitativo de los antimicrobianos.

Muestra: Se estudiaron 117 cepas de *P. aeruginosa* de las cuales 65 procedían de pacientes con VIH\SIDA y 52 de pacientes con fibrosis quística (FQ) en ambos casos a partir de secreciones del tracto respiratorio: (esputos, exudados faríngeos, secreción bronquial obtenida por aspiración). Los pacientes presentaban sintomatología respiratoria como motivo de ingreso y el aislamiento se reiteró por lo menos en tres muestras con intervalos de 24 horas entre una y otra, sin el hallazgo de ningún otro patógeno de significación en las mismas durante los meses de Octubre de 1996-Septiembre de 1997. Las cepas fueron aisladas en los Laboratorios de Microbiología Clínica de los Hospitales del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" y Hospital Universitario "Juan Manuel Márquez" respectivamente. Ambas instituciones ubicadas en Ciudad de la Habana.

Antimicrobianos a evaluar: Se utilizaron los siguientes antibióticos en su forma químicamente activa: gentamicina y estreptomicina; (Fluka, Suiza), carbenicilina, azlocilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftazima, ciprofloxacina, ofloxacina, ácido nalidíxico, cloranfenicol y tetraciclina; (Sigma, EE.UU.).

Los mismos se almacenaron según las indicaciones de los fabricantes. Los antimicrobianos como estreptomicina y cefuroxima, ácido nalidíxico fueron incluidos en el estudio con futuro fines de caracterización para futuros estudios.

Para la determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (C.M.I.), seguimos los procedimientos recomendados por el Comité de Normas de los Laboratorios Clínicos de Norteamérica (NCCLS) ¹⁶. Para determinar las diluciones

necesarias para las diferentes soluciones de antimicrobianos se utilizó la fórmula:

$$\text{Peso(mg)} = \frac{\text{Volumen(mL)} \times \text{Concentración}(\mu\text{g/mL})}{\text{Potencia}(\mu\text{g/mL})}$$

Soluciones madres: Las soluciones madres se prepararon con los solventes normados. Los antimicrobianos se diluyeron por separados en 20 mL de agua destilada y posteriormente se almacenaron a menos 20 °C, hasta su uso. Las soluciones de trabajo de los fármacos fueron preparadas a una concentración diez veces mayor que la mayor concentración que se incorporó al medio, diluyendo 1:10 la solución madre para su uso. Se probaron cuatro diluciones por encima y cuatro diluciones por debajo de las cifras por las NCCLS ¹⁶ dadas como criterio de susceptibilidad en cada antimicrobiano.

Diluciones de los fármacos antimicrobianos utilizados (μg/mL)

gentamicina	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25
estreptomicina	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25
azlocilina	2084	1024	12	256	128	64	32	16	8	4
ceftazidima	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1
cefuroxima	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1
cefotaxima	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2
ciprofloxacina	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
ofloxacina	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25
ácido	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1
nalidíxico										
Cloranfenicol	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1
Tetraciclina	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5
										0.125

En el cuadro 1 se reflejan los criterios de susceptibilidad antimicrobiana tenidos en cuenta para este estudio.

Procedimiento para la determinación de la concentración mínima inhibitoria por microdilución en caldo

Paso 1. En condiciones de esterilidad, se depositaron 50 μL de caldo Mueller-Hinton (Oxoid, Inglaterra), suplementado con cationes de CA(2+)(3.68g CaCl₂·2H₂O/100mL de agua destilada) y Mg(2+) (8.36 g MgCl₂·6H₂O/100mL de agua destilada) desde las columnas 3-12 de una placa de microdilución de 96 pocillos de fondo plano (Maxi-Sorp, Dinamarca).

Paso 2-3. Después se adicionaron 50 μL y 100 μL de las soluciones de trabajo en los pocillos de las columnas 1 y 2 respectivamente. De la columna No.2 se extrajeron 50 μL del fármaco, se realizaron diluciones al doble hasta la columna 12, descartándose de esta última columna 50 μL de la mezcla.

Paso 4. Se adicionaron 5 μL de la suspensión bacteriana en cada pocillo de la placa (columna 2-12), dentro de los 15 minutos de ajustada la densidad óptica del inóculo, lográndose una concentración del mismo de 5x10(5) UFC/mL en cada pocillo. El pocillo No.1 constituyó el control de esterilidad del fármaco. Se realizaron por cada prueba control de crecimiento bacteriano y control de esterilidad del medio de cultivo.

Paso 5. Para prevenir la desecación, las placas de microdiluciones con sus tapas fueron selladas con papel metálico y se incubaron a 35 °C durante 18 a 24 horas. La lectura se realizó con el auxilio de

Cuadro 1. Criterios de susceptibilidad antimicrobiana

Antimicrobianos		Sensible	Intermedio	Resistente
β lactámicos	Aminoglucósidos	Gentamicina	≤4	-
		Estreptomicina	≤4	-
	Penicilinas	Carbenicilina	≤128	256
		Azlocilina	≤64	-
Quinolonas	Cefalosporinas	≤4	16	≥32
		≤8	16	≥64
		≤8	16	≥32
	Cefuroxima	2	≥4	
Otros	Cefotaxima	4	≥8	
	Ceftazidima	-	≥32	
Cloranfenicol	≤8	-	≥32	
	Tetraciclinas	≤4	-	≥16

un espejo visor de microdilución y se consideró el valor de las CMI, como la menor concentración del antimicrobiano que fuera capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, interpretándose los resultados como Sensible(S), Intermedio(I), Resistente(R), expresados en $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los resultados se realizó por el método de comparaciones de proporciones del Programa EPINFO versión 6.02 para $p < 0.05$.

RESULTADOS

La actividad mínima inhibitoria “*in vitro*” de los 12 antimicrobianos contra las 117 cepas de *P. aeruginosa* estudiadas por la técnica de microdilución en caldo se resume en el cuadro 2 donde se manifestaron los altos niveles de resistencia frente a los antibióticos que incluyen el grupo anti-Pseudomonas.

El análisis estadístico de los resultados no arrojó valores con diferencias significativas ($p < 0.05$), entre los grupos de pacientes, por lo que nos limitaremos a hacer un análisis general del comportamiento de las cepas estudiadas.

Cuadro 2. Comportamiento de las cepas estudiadas por CIMs ($\mu\text{g}/\text{mL}$) frente a cada droga antimicrobiana

Grupos	Drogas antimicrobianas											
	Aminoglucósidos		β Lactámico				Quinolonas			Otros		
	Fármacos	STR	GEN	Penicilinas		Cefalosporinas		NAL	CIP	OFL	CHL	TET
CIMs $\mu\text{g}/\text{mL}$				CAR	AZL	CXM	CTX					
1024			5	1								
512			2									
256			45									
128	4		45	8	117	10						
64	7		19	94		8	1	117		86	13	
32	91	1	1	10		31			1	20	46	
16	11		4		51	1			4	8	41	
8	3	4			17	66			2	3	17	
4					33				4			
2			18			16		1		17		
1			47					6		41		
0.5			42					15		47		
0.25			5					5		1		
0.125								90				

Sensible

Intermedio

Resistente

STR: estreptomicina; GEN: gentamicina; CAR: carbenicilina; AZL: azlocilina; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; NAL: ácido nalidixico; CIP: ciprofloxacina; OFL: ofloxacina; CHL: cloranfenicol; TET: tetraciclina.

Cuadro 3. CIMs₅₀, CIMs₉₀ y rango para *P. aeruginosa* (n=117) frente a 12 agentes antimicrobianos

Fármacos	Punto de ruptura		CIMs ₅₀	CIMs ₉₀	Rango
	S	R			
STR	≤4	≥8	16	16	1-64
GEN	≤4	≥8	1	2	0.25-16
CAR	≤128	≥512	128	256	32-1024
AZL	≤64	≥128	64	64	16-1024
CXM	≤4	≥32	128	128	128-128
CTX	≤8	≥64	16	64	8-128
CAZ	≤8	≥32	8	8	2-64
NAL	≤8	≥32	64	64	64-64
CIP	≤1	≥4	0.5	0.5	0.125-2
OFL	≤2	≥8	1	2	0.25-32
CHL	≤8	≥32	64	64	8-64
TET	≤4	≥16	32	32	8-64

STR: estreptomicina; GEN: gentamicina; CAR: carbenicilina; AZL: azlocilina; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; NAL: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; OFL: ofloxacina; CHL: cloranfenicol; TET: tetraciclina.

tamiento de las cepas de *P. aeruginosa* ante los antimicrobianos evaluados.

En el grupo de los aminoglucósidos, la estreptomicina mostró baja efectividad en el 96.5% de las cepas, con altos niveles de resistencia(CMI=8-64 µg/mL), excepto cuatro cepas con una CMI=1-4 µg/mL, mientras que la gentamicina mostró una elevada efectividad en el 99.1% de las cepas de *P. aeruginosa*, mostrando una CMI=0.25-4 µg/mL y sólo una cepa resistente (CMI=16 µg/mL).

En el grupo de las quinolonas, ácido nalidíxico(100%) mostró la más baja efectividad y elevado nivel de resistencia con CMI=64 µg/mL. Por otro lado, la mayor actividad antimicrobiana se observó en la ciprofloxacina (99.1%) con CMI = 0.125 µg/mL, seguida de ofloxacina(90.5%) con CMI = 0.25 µg/mL.

Dentro de este grupo se encontró una cepa con resistencia intermedia a ciprofloxacina (CMI=2 µg/mL) y siete cepas ofloxacina resistentes (CMI=8-32 µg/mL) y 4 cepas (3.6%) con resistencia intermedia (CMI=4 µg/mL).

Entre los β -lactámicos del grupo de las penicilinas, la azlocilina (92.3%) mostró una elevada actividad (CMI=16-64 µg/mL) y 9 cepas(7.6%) resistentes con CMI = 8-1024 µg/mL, mientras que la carbenicilina mostró sensibilidad en el 55.5% de las cepas con CMI=32-128µg/mL, 45 cepas mostraron resistencia intermedia (CMI = 256 µg/mL) y 7 cepas con altos niveles de resistencia (CMI=512-1024 µg/mL).

Con respecto al grupo de las cefalosporinas, todas las cepas (100%) mostraron altos niveles d resistencia a cefuroxima (CMI=128 µg/mL), mientras que la ceftazidima tuvo una alta efectividad en el 98.2% de las cepas (CMI=2-8 µg/mL) y sólo encontramos una cepa resistente con CMI=64 µg/mL,y una cepa con sensibilidad intermedia (CMI=16 µg/mL), no así frente a cefotaxima donde el 70% de las cepas mostraron niveles de resistencia intermedia (CMI=16-32 µg/mL) y 18 cepas (%) fueron resistentes con CMI=64-128 µg/mL.

Las cepas estudiadas fueron altamente resistentes frente a los antimicrobianos usados más comúnmente tales como, el cloranfenicol (90.5%) con CMI=32-64 µg/mL y la tetraciclina (85.4%) con CMI=16-64µg/mL.

El análisis de los resultados de las CMI 50-90 (Cuadro 3) arrojó que sólo gentamicina, ciprofloxacina y ofloxacina tenían CMI 50 por debajo de los valores críticos de susceptibilidad, mientras que sólo gentamicina y ciprofloxacina presentaron CMI 90 por debajo de esos valores críticos. Para el resto de los fármacos los valores de CMI 50-90 se comportaron iguales o mayores que sus respectivos puntos críticos de susceptibilidad. De igual manera se reflejan los rangos de concentraciones de antimicrobianos para las cuales es factible alcanzar la CMI.

En este estudio encontramos tres cepas procedentes de pacientes con FQ y 14 cepas de pacientes con VIH/SIDA, con patrones de resistencia a tres ó más de los fármacos ensayados, lo que permitió configurar 10 patrones de resistencia múltiple. (Cuadro 4).

Cuadro 4: Patrones de multirresistencia de 17 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes FQ y VIH positivos

Patrón	No.	Antibióticos								Total	Total	Total	
		FQ	VIH	FQ+VIH									
1	STR				NAL	CXM	CTX	CHL	TET		1	7	8
2	STR	GEN			NAL	CXM		CHL	TET	CAR	1	1	
3	STR		OFL		NAL	CXM	CTX	CHL			1	1	
4	STR				NAL	CXM	CTX	CHL	TET	CAR	1	1	
5			OFL		NAL	CXM	CTX		TET	CAR	1	1	
6	STR		OFL		NAL	CXM	CTX		TET	CAR	1	1	
7	STR		OFL		NAL	CXM	CTX	CHL	TET		1	1	
8			OFL		NAL	CXM		CHL	TET	CAR	1	1	
9	STR		OFL		NAL	CXM	CTX	CHL	TET	CAR	1	1	
10	STR				NAL	CXM	CTX	CHL	TET		CAZ	1	1
Total											3	14	17

STR: estreptomicina; GEN: Gentamicina; CAR: Carbenicilina; CXM: Cefuroxima; CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; NAL: Acido nalidíxico; CIP: Ciprofloxacina; OFL: Ofloxacina; CHL: Cloranfenicol; TET: Tetraciclina.

DISCUSION

La resistencia bacteriana a los fármacos es uno de los serios problemas en la terapia de las enfermedades infecciosas y en la práctica epidemiológica. Ninguna sustancia antimicrobiana actúa sin el riesgo futuro de que los microorganismos desarrollen resistencia frente a ella¹⁷.

La *P. aeruginosa* se aísla con frecuencia a partir de muestras respiratorias de pacientes con VIH/SIDA¹⁸ y de pacientes con FQ¹⁹ sometidos a tratamientos antimicrobianos prolongados²⁰.

En este estudio de CMI, que se realiza por vez primera en el contexto local, encontramos aislamientos de cepas de *P. aeruginosa* con resistencia a múltiples fármacos y ésto nos hace pensar que la presión selectiva creada por el uso de los agentes antimicrobianos en nuestros pacientes constituyó uno de los factores determinantes para la aparición de dichas cepas, lo que justifica que se hayan encontrado un número de cepas con resistencia a la mayoría de los fármacos ensayados, exceptuando ciprofloxacina, gentamicina y ceftazidima. Estudios foráneos reportan aún mayor espectro de resistencia, incluyendo cepas de *P. aeruginosa* resistentes a la mayoría de los antibióticos empleados en la práctica clínica, con niveles notables de resistencia a cefalosporinas de tercera generación y a quinolonas^{11,21-23}.

Grupo β Lactámico

La demostración de la resistencia de la totalidad de las cepas a la cefuroxima indica la inactividad natural de este fármacos frente a *P. aeruginosa*, mientras que al enfrentarlas a ceftazidima obtuvimos que el 98.2% de las cepas fueron sensibles con CMI 90=8 μ g/mL, solamente el 0.85% de las cepas estudiadas fueron resistentes. Estos valores están por debajo de otros reportes²⁴⁻²⁶, pero coincidió en que la ceftazidima sigue siendo la más activa dentro de las cefalosporinas ensayadas²⁸⁻³¹. Muder (1997) asoció la resistencia de esta bacteria a cefalosporinas con el grado de exposición a los antibióticos³⁰, mientras que Martínez- Beltrán y col. (1990) asociaron esta resistencia a los cambios de permeabilidad celular y a la hiperproducción de enzimas β -lactamasa inducida³¹. Sin embargo, Yamano y col. (1991) relacionaron esta alta resistencia con la ausencia o disminución de determinadas proteínas de membrana externa con función de porinas³².

La *P. aeruginosa* mostró resistencia intermedia (CMI=256 μ g/mL) en el 37.6% de las cepas frente a la carbenicilina, que era el antibiótico de referencia en la década de los años 70-80³³. Tal vez este fenómeno sea señal de recuperación paulatina de la sensibilidad debido al abandono del uso del fármaco,³⁴ que ha suprimido la presión selectiva ejercida sobre ella cuando se empleó indiscriminadamente. De igual manera, se consideró que la alta sensibilidad de *P. aeruginosa* ante azlocilina y piperacilina, las cuales son los ureidopenicilinas que resultaron las más activas³³ de los fármacos estudiados, se considera que se debe a la poca utilización de las mismas en el ámbito hospitalario y comunitario en Cuba.

Grupo aminoglucósidos

Los aminoglucósidos con excepción de la estreptomicina siguen siendo fármacos con una elevada efectividad anti-*Pseudomonas*^{27-28,34-35}. En este estudio se encontró una elevada actividad antimicrobiana de gentamicina (CMI=0.25 μ g/mL), coincidiendo con reportes internacionales³⁶⁻³⁷ donde el 100% de las cepas son sensibles a gentamicina, convirtiéndola en el más efectivo agente terapéutico "in vitro" contra *P. aeruginosa*. Otros autores^{4,35} describen resistencia moderada a gentamicina.

Se encontró una cepa resistente a gentamicina (CMI=16 μ g/mL). Este resultado constituye una información valiosa cuando se necesite un tratamiento efectivo frente a infecciones difíciles de tratar, debido a que la terapia de elección es usualmente la combinación de un aminoglucósido (gentamicina, tobramicina) con un β -lactámico anti-*Pseudomonas*²⁸.

Grupo quinolonas.

Desde la utilización profiláctica de quinolonas en 1991, no se habían observado cambios significativos de la susceptibilidad de las enterobacterias hasta 1995, en el cual aparecen cepas quinolonas resistentes, sin embargo en los últimos años la susceptibilidad de *P. aeruginosa* ha disminuido pasando de un 90% a un 58.2%³⁸. Los resultados sugieren, que a pesar del hallazgo de un bajo porcentaje de cepas resistentes (5.9%), cuatro cepas con resistencia intermedia a ofloxacina y una cepa con resistencia a ciprofloxacina, se debe prestar mucha atención ya que esto constituye una señal de alerta frente a un fenómeno que representa un problema en diversos países del mundo y que puede dar lugar en el futuro al surgimiento en Cuba de cepas con altos niveles de resistencia a quinolonas, debido a que se han descrito mecanismos de resistencia para estos antibióticos mediados por plásmidos³⁹.

Grupo tetraciclina-cloranfenicol.

La elevada resistencia de las cepas estudiadas, revela la poca utilidad de estos antibióticos y aunque estos fármacos no se encuentran dentro de la primera línea en el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*, pueden emplearse para el tratamiento de pacientes alérgicos a fármacos primarios¹⁶ siempre y cuando estos resultados estén avalados por estudios del laboratorio.

En conclusión se encontraron 10 patrones de resistencia múltiple lo que sugiere la presencia de plásmidos de resistencia en las cepas, siendo necesario realizar estudios posteriores en este sentido. Se considera que es necesaria la vigilancia de los niveles de resistencia de las cepas de *P. aeruginosa* mediante la CMI en los medios hospitalarios, especialmente en las cepas aisladas de pacientes sometidos a antibioticoterapias prolongadas, para una adecuada elección de la terapia, siendo imprescindible aplicar una política racional en la elección de los mismos para disminuir la propagación de la resistencia entre estos microorganismos.

REFERENCIAS

1. MLot C. *Pseudomonas* Thwart the Eye's multitiered infection defenses. ASM. News 2000; 66(2): 66.
2. Baltch AL, Obrig TG, Smith RP, Hammer MC, Concoy JV, Lutz F. Production of cytotoxin by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Can J Microbiol 1998; 33: 104-111.
3. Cohn LA, Weber A, Phillips T, Lory S, Kaplan M, Smith A. *Pseudomonas aeruginosa* infection of respiratory epithelium in a cystic fibrosis xenograft model. J Infect Dis 2001; 183: 919-27.
4. Tacconelli E, Trumbarello M, Ventura G, Lucia MB, Caponera S, Cauda R. Drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in HIV infected patients. J Chemoth 1995; 7: 180-83.
5. Holder IA. *Pseudomonas aeruginosa* burn infections: pathogenesis and treatment, In M. Campa (ed), *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen. New York: Plenum Press; 1993.p. 275-295.
6. Mayshall GC. Nosocomial burn wound infections, In: GC Mayshall (ed), Hospital Epidemiology and infections control. Baltimore, Md: The Williams & Williams Co.; 1996.p. 225-236
7. Peterson SS, Koch C, Hoiby N, Rosendal K. An Epidemic spread of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Cystic Fibrosis Center. J Antimicrob Chemother 1986; 17: 505-516.

8. Richard P, Floch RL, Chamoux C, Pannier M, Espaze E, Richet M. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a burn unit: role of microbial in the emergence of multiply resistant strains. *J Infect Dis* 1994; 170:377-383.
9. McIntyre D, Ebsworth D R. Multi- drug Resistance: A sign of the times. *Editorials* 1998; 338(19): 1376-77.
10. Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa*. In GL: Mandell, RG. Douglas and JE. Bennett(ed). *Principles and practice of infectious diseases*. 3rd ed. Churchill Livingstone. New York. 1990. Glyn et al. Resistance- A signs of the times. *Editorials* 1998; 338(9): 1376-1377.
11. Xian- Zhi Li, LI Zhang, Ramarkrishnan Srikumar, Keith Poole. b- Lactamase Inhibitors are substrates for the multidrug efflux pumps of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998; 42: 399-403
12. Stuart B, Levy MD. Action against antibiotic resistance: no time to lose. *The Lancet* 1998; 351: 1298-1299.
13. Archer GI, Mayshall CG. Comparison of epidemiological markers used in the investigation of an outbreak of Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 395-399.
14. Kielhofren M, Atmar RC, Hamill RJ, Mush MD. Live-threatening *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients with human immunodeficiency virus infections. *Clin Infect Dis* 1992;14: 403-11.
15. Bingen E, Dernamen E, Picard B. Molecular epidemiological analysis of *Pseudomonas aeruginosa* strains causing failure of antibiotic therapy in cystic fibrosis patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 432-437.
16. NCCLS. Zone diameter interpretative standard and equivalent Minimum Inhibitory concentration (MIC). Break points for *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* (M100-S10)(M7) 2000: 119-120.
17. Chartoni de Souza E. Las bacterias resistentes, una guerra casi perdida. *Ciencia Hoy* 1999; 9(50):1-5
18. Asboe, Gant V, Aucken HM, Moore DA, Umasankar S, Bingham JS, et al. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* strains in respiratory infection in AIDS patients. *AIDS* 1998; 12(4): 1771-1775.
19. Taylor RF, Morgan DW, Nicholson PS, Mackay IS, Hodson ME, Pitt TL. Extrapulmonary sites for *Pseudomonas aeruginosa* in adults cystic fibrosis. *Thorax* 1992; 47: 426-428.
20. Abman SK, Ogle JW, Harbeck RJ. Early bacteriology immunology and clinical courses of young infants with cystic fibrosis identified by neonatal screening. *J Pediatric* 1991; 119: 211-217.
21. Kolar M, Majek V, Salezona J, Kratka J, Kou Kalaora D. Resistance to antibiotics in gram- negative rods from clinical material of hospital and community origin. *Acta Univer Polacki Olomuc Fac Med* 1995; 139: 33-35.
22. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV. Multicenter evaluation of the antimicrobial activity for six broad- spectrum beta- lactamase in Venezuela using the E-test method. *The Venezuela Antimicrobial. Infect Dis* 1998; 20(31): 45-52.
23. Jones RN, Pfaller MA, Marshall SA, Hollis RJ, Wilke WW. Antimicrobial activity of 12 broad- spectrum agents tested against 270 nosocomial blood stream infection isolates caused by non enteric gram-negative bacilli: occurrence resistance, molecular epidemiology and screening for metallo enzymes. *Diag Microbiol Infect Dis* 1997; 29(3): 187-192.
24. Calleaux V, Mulin B, Capellier G, Julliot MC, Thourerez M, Tolon D. Epidemiological study of variations in beta lactamase antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in two intensive care units. *J Hosp Infect* 1997; 37(3): 217-24
25. Gales AC, Pignatan AC, Jones RN, Baret M, Sader HS. Evaluation in vitro activity of new fluoroquinolones, cephalosporins and carbapenemes against 569 gram-0 negative bacterial. *Rev Asoc Med Bras* 1997; 43(2): 137-144.
26. Chen G, Hu Y, FuKucki K, Wakuta R, Zhang X, Yang Z, et al. Analysis of genome- type serovar and antibiotics susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in Beijing Hospital China in 1991 to 1993. *Rinsho-Bejori* 1997; 45(11): 1091-1097.
27. Danell F, Hall LM, Duke B, Gur D, Livermore DM. Oxa-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(6): 1362-6.
28. Greenwood D, Eley E. A turbidimetric study of the responses of selected strains of *Pseudomonas aeruginosa* to eight antipseudomonal beta lactamase antibiotics. *J infect Dis* 1982; 145(1): 110-117.
29. Colom K, Fdez-Aranquiz A, Suinaga E, Cisterna R. Emergence of resistance to beta lactamase agents in *Pseudomonas aeruginosa* with group I beta lactamase in Spain. *Eur Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14(11): 964-971.
30. Muder RR, Brennen C, Dienning SD, Stout JE, Wagener MM. Multiply antibiotic- resistant gram-negative bacilli in a long term-care facility use. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 18(12): 809-813.
31. Martinez- Beltrán J, Calderon C, Sierra MP, Álvarez M, Canton R. *In vitro* activity of carbapenems against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* hiperproducers of group 1 chromosomal beta-lactamase. *Enferm Infect Microbiol Clin* 1997; 15 suppl 1: 20-26.
32. Yamano Y, Nishikawa T, Komatsu Y. Outer membrane protein responsible for the penetration of beta lactamase and quinolones in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26: 175-184.
33. García-San Miguel J, Mayolas Masferrer J. *Infecciones por Pseudomonas aeruginosa*. En: Ferreras, Rozman. *Medicina Interna*. 14^a ed. España: Mosby-Doyma Libros; 1994. p. 2304-2305.
34. El-Karsh, Tawfik AF, Al-Shammary F, Al Salah S, Kambal AM, Shibli AM. Antimicrobial resistance and prevalence of extended spectrum beta lactamase among clinical isolates of gram negative bacteria in Riyadh. *J Chemother* 1995; 7(6): 509-514.
35. Millesimo M, De Intinis G, Chirillo G, Musso T, Saroia D. *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates: serotypes, resistance phenotypes and plasmid profiles. *Eur J Epid* 1996; 12: 123-129.
36. Adjai O, Brenja RC. Secondary bacterial infection in Granalan patients with scabies. *East Afr Med J* 1997; 74(11): 729-731.
37. Kadurugamurwa JI, Lam JS, Bereridge TJ. Interaction of gentamycin with the A band and B band lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa* and its possible lethal effect. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(4): 715-721.
38. Trup J, Kumora A, Oravcova E, Pichna P, Kukuckora E, Gransora S, et al. Resistance pattern of 2816 isolates from 17631 blood culture and etiology of bacteremia and fungemia in a single cancer institution. *Acta Oncol* 1997; 36(6): 643-649.
39. Martinez- Martínez L, Pascual A, Sacoby Ga. Quinolone resistance from a transferable Plasmid *Lancet* 1998; 351(9): 797-809.