

ARTICULO ORIGINAL

Actividad *in vitro* de fluoroquinolonas en bacilos gramnegativos aislados de urocultivos de pacientes ambulatorios***In vitro* activity of fluoroquinolones in gramnegative rods isolated from ambulatory patients urocultures**Fariña N^{I,II}, Sanabria R^I, Laspina F^I, Samudio M^I, Figueredo L de^{II}, Miño de Kaspar H^{III}^IInstituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, ^{II}Laboratorio San Roque, ^{III}Departamento de Oftalmología, Universidad Ludwig-Maximilians, Munich (Alemania)**RESUMEN**

Las fluoroquinolonas constituyen un grupo de antibióticos, ampliamente utilizado en infecciones del tracto urinario (ITU), por su excelente actividad frente a las enterobacterias y por su vía de eliminación. El objetivo de este estudio es determinar la resistencia a las fluoroquinolonas: ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina en bacilos gramnegativos aislados de ITU. Se incluyeron en el estudio todos los bacilos gramnegativos, aislados de pacientes adultos con ITU, que concurren en forma consecutiva al laboratorio San Roque, desde junio de 2005 a marzo de 2006. Para determinar la resistencia, se utilizó el método de difusión en agar siguiendo normas estandarizadas del NCCLS. De las 380 cepas aisladas el 81,7% correspondió a *Escherichia coli*, 11,6% *Klebsiella pneumoniae*, 3,4% *Proteus mirabilis*, 1% *Enterobacter aerogenes*, 0,8% *Enterobacter cloacae*, 0,5% *Citrobacter koseri*, 0,5% *Citrobacter freundii* y 0,5% *Klebsiella oxytoca*. El 17,6% de todos los aislamientos, fue resistente a todas las fluoroquinolonas ensayadas (58 cepas de *E. coli*, 7 cepas de *K. pneumoniae* y 2 de *E. cloacae*). La resistencia de *E. coli* a las tres fluoroquinolonas fue del 18,7%, y de *K. pneumoniae* 15,9%. Una cepa de *E. coli*, sensible a gatifloxacina, presentó sensibilidad intermedia a ciprofloxacina y levofloxacina. Las tres fluoroquinolonas testadas presentaron igual actividad frente a bacilos gramnegativos, aislados de ITU. Esta resistencia es relativamente alta, debido a que la resistencia a un antibiótico a ser utilizado en forma empírica, no debe superar el 20%.

Palabras claves: Infección del tracto urinario, fluoroquinolonas, resistencia.

ABSTRACT

Fluoroquinolones constitute a group of antibiotics frequently used in urinary tract infections (UTI), due to their high activity against enterobacteria, and their elimination route. The objective of this study is to determine the resistance rate of gramnegative rods isolated from UTI to fluoroquinolones: ciprofloxacin, levofloxacin and gatifloxacin. In this study, all strains of gramnegative rods isolated from urine cultures from adult patients with UTI, attending the San Roque Laboratory, from June 2005 to March 2006 were included. Antibiotics susceptibility was determined by the diffusion method following the recommendation of NCCLS. Out of 380 strains, 81.7% was *Escherichia coli*, 11.6% *Klebsiella pneumoniae*, 3.4% *Proteus mirabilis*, 1% *Enterobacter aerogenes*, 0.8% *Enterobacter cloacae*, 0.5% *Citrobacter koseri*, 0.5% *Citrobacter freundii* and 0.5% *Klebsiella oxytoca*. 17.6% of all isolates was resistant to all fluoroquinolones tested (58 strains of *E. coli*, 7 of *K. pneumoniae*, and 2 of *E. cloacae*). Resistance rate of *E. coli* to all fluoroquinolones was 18.7%, and 15.9% of *K pneumoniae*. One strain of *E. coli*, sensible to gatifloxacin, was intermediate to ciprofloxacin and levofloxacin. The three fluoroquinolones tested presented similar activity against gramnegative rods isolated from UTI. This resistance rate is relatively high, considering that for empirical use, the resistance rate to an antibiotic must not exceed 20%.

Keywords: Urinary tract infection, fluoroquinolones, resistance.

* Autor correspondiente: **Dra. Norma Fariña**

Dirección: Dr. Montero y Lagerenza

Teléfono: 595 21 422 069 / 59521 423618

E-mail: microbiologia@iics.una.py

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las infecciones más frecuentemente diagnosticadas en el paciente ambulatorio. En los Estados Unidos se estima una incidencia de 8 millones de ITU por año¹. Esta patología es mucho más frecuente en mujeres que en varones y puede afectar sólo las vías urinarias inferiores o las superiores e inferiores. Cuando la infección se produce en el tracto urinario con anomalías funcionales o estructurales se habla de infección complicada¹.

La gran mayoría de las ITU son debidas a bacilos gramnegativos, siendo el principal responsable *Escherichia coli*². Como consecuencia de un aumento de la resistencia a trimetoprima-sulfametoxazol en *E coli* y debido a que poseen excelente actividad frente a estos microorganismos, varios autores han preconizado el uso de las fluoroquinolonas como tratamiento de primera elección en ITU^{2,3,4,5}.

Las 6 fluoroquinolonas derivan del ácido nalidixico y difieren de éste por el agregado de un átomo de flúor en la posición 6, con lo que se amplía su espectro de acción y se limita los efectos adversos. Con el agregado de un grupo piperacínico en posición 7 (ciprofloxacina) o un grupo metilpiperacínico en posición 7 (levofloxacina, gatifloxacina), se aumenta la potencia sobre gramnegativos. Cuando llevan un doble anillo pirrolidónico en la posición 7 aumenta la actividad sobre bacterias grampositivas (moxifloxacina) y un grupo metoxi en la posición 8 mejora la actividad frente a anaerobios (moxifloxacina, gatifloxacina)^{4,2}.

Las fluoroquinolonas actúan en el ADN cromosómico bacteriano uniéndose a las topoisomerasas, que son enzimas que participan en la síntesis de ADN, por desenrollamiento y enrollamiento del ADN cromosómico, inhibiendo su acción⁴.

La mayoría de estos compuestos se eliminan de forma significativa por vía renal, básicamente por secreción tubular, la ciprofloxacina además puede eliminarse por vía transintestinal. La moxifloxacina se elimina por vías no renales².

Sin embargo, el amplio uso de fluoroquinolonas ha llevado a un aumento de su resistencia, demostrándose en diversos estudios una significativa resistencia en bacterias frecuentemente aisladas en ITU^{2,3,4}.

En nuestro país, este grupo de antibióticos es ampliamente utilizado tanto en ITU como en muchas otras infecciones, por lo que nuestro objetivo fue determinar la frecuencia de resistencia a tres fluoroquinolonas: ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina en bacilos gramnegativos aislados de ITU y comparar la actividad antibacteriana entre ellas.

MATERIALES Y METODOS

Cepas: Se incluyeron en el estudio, cepas de bacilos gramnegativos, aislados de urocultivos positivos, de pacientes adultos, que concurren al laboratorio San Roque para estudio microbiológico, desde junio del 2005 a marzo del 2006.

Los criterios de positividad empleados para el urocultivo fueron recuentos igual o mayores a 100.000 u.f.c/ml y presencia de reacción inflamatoria (> 10 leucocitos, 400X).

Urocultivo: Fueron cultivadas 5 µl de cada muestra de orina en agar de eosina azul de metileno y agar sangre (5% sangre de carnero), incubadas a 35°C por 18 horas. Previo al cultivo se realizó sedimento urinario y coloración de Gram. La identificación bioquímica de los aislamientos se llevó a cabo según métodos clásicos².

Sensibilidad antimicrobiana: se realizó por el método de difusión de Kirby Bauer en agar Mueller Hinton, utilizando un inóculo con una turbidez igual a 0,5 de la escala de Mc Farland. Una vez hisopadas las placas, fueron colocados los discos de las fluoroquinolonas ensayadas y luego incubadas durante 18 horas a 35 °C. Se utilizaron cepas de referencia de *Escherichia coli* ATCC 25922 y de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y se consideraron los puntos de corte establecidos por el Nacional Comité for Clinical Laboratory Standards (CLSI actualmente)².

Las fluoroquinolonas ensayadas fueron ciprofloxacina 5µg (Oxoid, Inglaterra), levofloxacina 5 µg (Oxoid, Inglaterra) y gatifloxacina 5 µg (Oxoid, Inglaterra).

RESULTADOS

De las 380 cepas de bacilos gramnegativos aisladas de orina (358 provenientes de mujeres y 22 de varones), 310 aislamientos fueron de *Escherichia coli* (81,7%), 44 de *Klebsiella pneumoniae* (11,6%), 13 de *Proteus mirabilis* (3,4%), 4 de *Enterobacter aerogenes* (1%), 3 de *Enterobacter cloacae* (0,8%), 2 de *Citrobacter koseri*(0,5%), 2 de *Citrobacter freundii* (0,5%) y 2 de *Klebsiella oxytoca* (0,5%).

De estos 380 aislamientos, 67(17,6%) fueron resistentes a todas las fluoroquinolonas ensayadas (58 aislados de *Escherichia coli*, 7 de *Klebsiella pneumoniae* y 2 de *Enterobacter cloacae*) (tabla 1).

Tabla 1. Comparación *in vitro* de la resistencia antimicrobiana de bacilos gramnegativos aislados de ITU

	Ciprofloxacina	Levofloxacina	Gatifloxacina
<i>E. coli</i> (n=310)	58 (18,7%)	58 (18,7%)	58 (18,7%)
<i>K. pneumoniae</i> (n=44)	7 (15,9%)	7 (15,9%)	7 (15,9%)
<i>E. cloacae</i> (n=3)	2 (66,7%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)
Total (n=380)	67 (17,6%)	67 (17,6%)	67 (17,6%)

Considerando solo los aislamientos de *E. coli* se obtuvo una resistencia de 18,7% (58/310) (tabla 1). Un aislado de *E. coli* presentó sensibilidad intermedia a ciprofloxacina y levofloxacina, pero fue sensible a gatifloxacina.

Con respecto a *Klebsiella pneumoniae* obtuvimos una resistencia de 15,9% (7/44), a todas las fluoroquinolonas ensayadas (tabla 1) y con respecto a *Enterobacter cloacae*, de tres cepas aisladas dos presentaron resistencia a todas las fluoroquinolonas (tabla 1).

No se registró resistencia a las fluoroquinolonas en 13 aislados de *Proteus mirabilis*.

Teniendo en cuenta la resistencia según el sexo, encontramos que en los varones, 31,8% de los aislamientos (7/22) fueron resistentes a las fluoroquinolonas, todos correspondieron a *E. coli* y en las mujeres, 16,7% (60/358) fueron resistentes.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, como era de esperar *Escherichia coli* fue el bacilo gramnegativo más frecuentemente aislado de ITU^{2,3}.

La resistencia de las enterobacterias aisladas de ITU a ciprofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina fue de 17,6% y considerando solo los aislamientos de *E. coli* la resistencia fue de 18,7%. Sabido es que la sensibilidad a los antibióticos de los distintos gérmenes causantes de infecciones del tracto urinario varía de una zona geográfica a otra. Estudios realizados en Estados Unidos reportan una resistencia a las fluoroquinolonas del 5% para *E. coli* aislados de ITU¹, a diferencia de lo publicado en varios países europeos y latinoamericanos en donde la resistencia a las fluoroquinolonas va en continuo aumento^{16,17,18}. Así en un estudio latinoamericano, en aislamientos provenientes de infecciones urinarias determinando concentración inhibitoria mínima, se encontró en 403 aislados de *E. coli* 22,6% de resistencia a la ciprofloxacina, 21,3% a la levofloxacina y 20,8% a la gatifloxacina, y en 43 aislados de *Klebsiella pneumoniae* 18,6% de resistencia a ciprofloxacina, levofloxacina y 16,3% de resistencia a gatifloxacina¹⁹. La alta resistencia a las fluoroquinolonas que hemos encontrado, ya descrita por varios autores, es reflejo del incremento de su utilización en pacientes con infecciones urinarias, en la profilaxis de pacientes con neutropenia, en gastroenteritis y otras infecciones²⁰. El tratamiento previo con fluoroquinolonas se ha señalado como uno de los factores principales de riesgo para la resistencia de *E. coli*. Existe una relación inversa entre concentración de quinolona y selección de mutantes resistentes, por lo que no se debería infradosear para minimizar la selección de bacterias resistentes. La presencia de anomalías en el tracto urinario, la cateterización urinaria y la edad se citan como otros factores de riesgo.

En este estudio no analizamos la procedencia de la muestra, si ésta provenía de una infección complicada o no, tampoco si hubo tratamiento previo con fluoroquinolonas. En cierta medida podríamos estar sobreestimando la resistencia, considerando que en muchos casos las infecciones urinarias son tratadas empíricamente, sin ningún cultivo previo, pero efectivamente se recibe en el laboratorio un porcentaje importante de muestras de orina de infecciones recurrentes y de infecciones complicadas. En un trabajo realizado en España se encontró al analizar los episodios individualmente, que en las infecciones complicadas la resistencia a las fluoroquinolonas era del 21% mientras que en las infecciones no complicadas era del 4%²¹.

En este estudio las tres fluoroquinolonas testadas ciprofloxacina, levofloxacina y gatifloxacina presentaron igual actividad frente a los bacilos gramnegativos aislados de infecciones urinarias, lo que refleja la resistencia cruzada que hay hacia las fluoroquinolonas en los gérmenes gramnegativos como fuera reportado por varios autores^{18,22}, por lo que para el tratamiento de bacilos gramnegativos en ITU, no es recomendable utilizar fluoroquinolonas más nuevas, si presenta resistencia a alguna fluoroquinolona.

Para ser usado de manera empírica un antibiótico en infección urinaria no complicada, no debe superar el 20% de resistencia. En este trabajo el valor encontrado está muy cerca del límite

establecido, por lo que deberíamos implementar una vigilancia constante sobre la resistencia a estos antibióticos, monitoreándola periódicamente y cuidando la correcta dosificación y el cumplimiento del tratamiento, a fin de evitar o por lo menos postergar la pérdida de un grupo de antibióticos muy valioso en el tratamiento empírico de infecciones del tracto urinario y numerosas otras infecciones.

AGRADECIMIENTO

A la Fundación Hannelore-Georg Zimmermann, Munich-Alemania por el subsidio recibido para la realización de esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002; 113(Suppl):5S-13S.
2. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Enfermedades infecciosas: Principios y prácticas. 6ta ed. Buenos Aires: ELSEVIER; 2006
3. Ronald A. The etiology of urinary tract infection: Traditional and emerging pathogens. *Am J Med* 2002; 113(Suppl): 14S-19S.
4. Alós JI. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 2003;21(5):261-8.
5. Talan DA, Stamm WE, Hooton TM, Moran GJ, Burke T, Irvani A, et al. Comparison of ciprofloxacin (7 days) and trimethoprim-sulfamethoxazole (14 days) for acute uncomplicated pyelonephritis in women: a randomized trial. *JAMA* 2000; 283:1583-90.
6. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of study of urinary tract isolates from outpatients: comparison of the activities of trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. The Canadian Urinary Isolate Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 44: 1089-92.
7. Gupta K, Sahm DF, Mayfield D, Stamm WE. Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in women: a nationwide analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 89-94.
8. Codiés Jackson L, Machado Reyes A, Hamilton Cordiés L. Quinolonas y terapia antimicrobiana. *Acta Médica* 1998; 8(1): 58-65.
9. Prado V, Giangreco M, Durant C. Actividad comparativa *in vitro* de moxifloxacina y otros antimicrobianos frente a patógenos respiratorios. *Rev Méd Chile* 2000; 128: 1319-26.
10. Garau J, Xercavins M, Rodríguez M, Gomez JR, Coll I, Vidal D. Emergence and dissemination of quinolone resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2736-41
11. Horcajada JP, Vila J, Moreno Martínez A, Ruiz J, Martínez JA, Sanchez M. Molecular epidemiology and evolution of resistance to quinolonas in *Escherichia coli* after prolonged administration of ciprofloxacin in patients with prostatitis. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 55-9.
12. Lopes AA, Salgado K, Martinelli R, Rocha H. Aumento da frequência de resistência à norfloxacina e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. *Rev Assoc Med Bras* 1998; 44(3), 196-200.
13. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico microbiológico. 5ta ed. Buenos: Panamericana; 1999
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteen international supplement. Pensilvania(USA):. National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004.
15. Barnett BJ, Stephens DS. Urinary tract infection: an overview. *American Journal of Medical Science* 1997; 314: 245-9.
16. Acar JF, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *CID* 1997; 24, Suppl. 1, S67-73.
17. Bretones JJ, Pino y Pino MD, Morales M, Abad J, Molina MJ, Garófalo V. Estudio observacional de los urocultivos y antibiogramas realizados ambulatoriamente en un área de salud. *Medifam* 2002; 12(7): 34-9
18. Gales AC, Jones RN, Gordon A, Sader HS, Wilke WW, Beach, ML. *et al.* Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infection pathogens in hospitalized patients in Latin America: report from the second year of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000; 45: 295-303.
19. Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari ACC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines?. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2006; 101(7): 741-8.
20. Loza E, Cantón R, Pascual A, Tubau F, Morosini I, Almaraz F, et al. "Actividad *in vitro* comparativa de garenoxacino. Programa SENTRY España (1999-2000). *Enferm Infecc Microbiol Clín* 2003; 21(8): 404-9.
21. Oteo J, Aracil B, Hoyo JF, Perianes J, Gómez-Garcés JL, Alós JI. *et al.* Do the quinolones still constitute a valid empiric therapy for community acquired tract infections in Spain. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5:654-6
22. Thomas JK, Forrest A, Bhavnani SM, Hyatt JM, Cheng A, Ballow CH. Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 521-7.