

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD AMOXICILINA ACIDO CLAVULANICO*

COMPARATIVO CON AMPICILINA Y CEFALOTINA IN VITRO

*Jaime Guevara***

INTRODUCCION

El propósito de este estudio era determinar la ocurrencia de la producción de Betalactamasas en aislados clínicos de rutina en América Central y determinar el grado de sensibilidad de esos aislados bacterianos tanto a la ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y la cefalotina.

La amoxicilina es un antibiótico betalactámico semisintético, efectivo tanto en presencia de organismos gran positivo como gran negativo. Al igual que con otros antibióticos betalactámicos, la amoxicilina actúa interfiriendo en la producción de pectidóglucos en la pared celular bacteriana. Una de las razones más comunes para el desarrollo de resistencia antibacteriana ante un antibiótico betalactámico, es el desarrollo de la producción de betalactamasa. Las betalactamasas destruyen el antibiótico al hidrolizar la estructura del anillo betalactámico de la molécula para formar el ácido peniciloico que no presenta actividad antibacteriana. La degradación de la molécula de amoxicilina puede prevenirse en la presencia de ácido clavulánico, un inhibidor de betalactamasa. El ácido clavulánico es producto de la fermentación del *Streptomyces clavuligerus* y también posee una estructura betalactámica. Desactiva las betalactamasas al unirse a éstas por lo que detiene su capacidad para hidrolizar otras estructuras betalactámicas. (2-6-9-10) El ácido clavulánico es un efectivo inhibidor de betalactamasas de

los tipos Richmond II, III, IV y V, actúa sinérgicamente con la amoxicilina.(6)

MATERIAL Y METODOS

El ácido clavulánico es un efectivo inhibidor de *S. aureus* productoras de betalactamasas y de Enterobacteriaceas que producen betalactamasas mediante plasma. El ácido clavulánico mezclado con amoxicilina ha mostrado ser un efectivo inhibidor de cepas de *H. influenzae*, *E. coli*, *N. gonorrhoea* y *Salmonella typhi*, productoras de betalactamasas. (4-6-8)

Es muy importante determinar si una cepa bacteriana es productora de Betalactamasa ya que ésta puede afectar el tipo de terapia usada en el tratamiento de una infección común. Una prueba directa de producción de betalactamasas puede ser útil al escoger el antibiótico adecuado. El disco de cefinace producido por Becton Dickinson puede ser convenientemente utilizado para probar la presencia de Betalactamasas, los discos de papel están impregnados con la cefalosporina cromogénica nitrocefina. Cuando la betalactamasa hidroliza la nitrocefina el disco se torna rosado.(1-7)

A fin de determinar la producción de betalactamasas con un disco de cefinase, se humedece el disco con solución salina estéril y se coloca una muestra o colonia del cultivo de prueba directamente sobre la superficie del disco. Si el organismo está produciendo betalactamasa desarrolla un color rosado alrededor de las bacterias en el disco. El cambio de color ocurrirá en el plazo de 5 minutos para la mayor parte de las

* Augmentin de Laboratorios SmithKline Beecham.

** Químico Bacteriólogo. Hospital Nacional de Niños.

cepas bacterianas, no obstante algunos Streptococos pueden durar hasta una hora para presentar reacción de color.

RESULTADOS

En este estudio, realizado en cuatro países del área Centroamericana se aislaron 150 cepas de Guatemala, 90 cepas en El Salvador, 254 aislados en Costa Rica y 136 en Panamá, para un total de 630 cepas estudiadas.

A todas las cepas se les estudió producción de Betalactamasas utilizando los discos de cefinace y fueron comparados con los discos de ampicilina, amoxicilina - ácido clavulánico y la cefalotina utilizando el método de sensibilidad con discos Kirby-Bauer.(5)

Las suspensiones de las separaciones se realizaron en el caldo de Mueller-Hinton y con solución salina estéril normal (0.9% NaCl en agua) y luego se estandarizaron extendiendo la turbidez al equivalente a un 0.5 del standard de McFarland. La suspensión bacteriana fue esparcida con un aplicador por la superficie de agar Mueller-Hinton en un plato de Petri. Los platos de agar se presentaron de manera que el espesor del mismo fuera de aproximadamente de 4mm de profundidad. Los discos de papel conteniendo los antimicrobianos mencionados fueron entonces colocados en la superficie de agar y los platos de Petri fueron encubados durante 16 a 18 horas a 35° C.

Los diámetros de las zonas de inhibición se midieron y compararon con los criterios recomendados de "sensibilidad - intermedio - resistente" para cada uno de los antibióticos.

Los aislados bacterianos fueron obtenidos de diferentes sitios de los pacientes tanto ambulatorios como hospitalizados según el siguiente detalle:

Piel y tejidos blandos 26.7%

Tracto respiratorio 13.2%

Orina 31.3%

Sangre 8.3%

Otros 20.5%

Los pacientes podían estar internados, o

ser ambulatorios, 348 pacientes eran internados y 234 ambulatorios. Es decir 55.2% y 37.1% respectivamente. En 48 pacientes no fue determinada su procedencia.

Los microorganismos aislados fueron los siguientes:

249 cepas de *S. aureus* 39.5%

148 cepas de *E. coli* 23.5%

47 cepas de *K. pneumoniae* 7.5%

23 cepas de *E. influenzae* 3.7%

19 cepas de *B. catarrhalis* 3.0%

144 cepas de otros 22.8%

Resultados de las pruebas por el método de Kirby-Bauer, fueron reportados en términos de los tamaños de las zonas de inhibición en milímetros, utilizando la tabla correspondiente para cada uno de estos diferentes agentes.

Respecto a la incidencia de la producción de betalactamasas el 70.6% fue positivo 25.7% negativo y el 3.7% no se especificó.

En la evaluación de sensibilidades a los patógenos se demostró una sensibilidad a la amoxicilina más ácido clavulánico en 489 aislados, es decir en 77.6% con un rango intermedio de 7.6% es decir 48 aislados del total, mientras que se observó una resistencia en 89 aislados que representan el 14.1%. Respecto a la ampicilina quedó ampliamente demostrado la elevada incidencia de resistencia que se encuentra hoy día a este producto, fueron sensibles el 21.4% de los aislados bacterianos, un 4.8% intermedio y 73% resistentes.

Respecto a la Cefalotina 461 cepas fueron sensibles, es decir el 73.2%, un 43 intermedio (6.8%) y 11 cepas del total, es decir el 17.6% mostró resistencia. Analizando las cepas de mayor incidencia en la producción de betalactamasas *S. aureus* mostró la mayor incidencia ya que de las 244 cepas aisladas el 87.1% fueron B-Lactamasas positivo.

La misma incidencia se ha observado en el transcurso de los últimos años en diversos estudios realizados en diferentes partes del mundo. Esta bacteria cada vez se vuelve más resistente a los antibióticos betalactámicos.

Sobre la sensibilidad a los antibióticos estudiados, se demostró que las cepas de *S. aureus* fueron sensibles a Amoxicilina + ácido clavulánico en el 93.6% de los casos con sólo un 6% de resistencia, mientras que ampicilina alcanzó el 9.2% de sensibilidad y el 89.2% fue resistente.

En el caso de la cefalotina también muestra una alta sensibilidad con 95.6% de los casos, 2.4% de resistencia y 1.6% de intermedia. La mayoría de las cepas aisladas de *S. aureus* fueron obtenidas de piel y tejidos blandos como es natural. También hay un rubro de otros en que se demuestra que el 27.7% de los casos de se obtuvo de otras cepas de otros orígenes que no fueran piel ni tracto respiratorio, ni orina, ni sangre.

En el caso de *E. coli* 148 cepas aisladas de los diferentes países muestran que hay un 63.5% de betalactamasas positivas y un 31.1% de negativos. En cuánto a las sensibilidades 73.6% de estas cepas fueron sensibles a Amoxicilina + ácido clavulánico. Se presentó un 10.1% de resistencia, y 15% de los casos que se ubicaron en las zonas intermedias. Con respecto a ampicilina el 57% de los casos fueron resistentes a la misma y 35.8% sensibles a esta droga. Respecto a esta cefalotina el 64.2% fue sensible demostrándose un 20% de resistencia y un 15% de zona intermedia. Amoxicilina + ácido clavulánico y cefalotina en las zonas intermedias tienen la misma incidencia pero hay una mayor resistencia de *E. coli* a cefalotina que con Amoxicilina + ácido clavulánico.

El *H. influenzae* de difícil localización, presentó una incidencia positiva de las betalactamasas en el 26% de los casos aislados y un 65.2% de incidencia negativa, esto coincide con la información que se obtiene internacionalmente. (3) Como es natural, la mayoría de los aislados de *H. influenzae* provenían de tracto respiratorio y de pacientes ambulatorios. Podemos establecer que el 100% de las cepas aisladas de *H. influenzae* fueron sensibles a Amoxicilina + ácido clavulánico mientras que el 52% a la ampicilina y un 65% a la Cefalotina.

B. catarrhalis, otros de los patógenos de

difícil localización pero que cada vez es más creciente su producción de betalactamasas fueron obtenidas del tracto respiratorio, observándose el 52% de betalactamasas positivas y 47% betalactamasas negativas. Sobre Amoxicilina + ácido clavulánico hubo sensibilidad en el 94% de los casos, mientras que con ampicilina sólo 52% y un 32% de resistencia. Con cefalotina un 47.4% de sensibilidad y una alta zona intermedia con 21% de los casos.

K. pneumoniae fueron obtenidos 47 aislados en los diferentes países muestran el 78% de betalactamasa positivo. La mayoría de estas cepas provenían de muestras de orina y eran en su mayoría pacientes internados.

Sobre las sensibilidades observamos que el 64% fueron sensibles a Amoxicilina + ácido clavulánico con un 10% de resistencia y 23% de zona intermedia mientras que ampicilina no mostró ninguna sensibilidad a las cepas estudiadas, por el contrario el 98% de las cepas de *K. pneumoniae* fueron resistentes a ampicilina. Respecto a cefalotina el 60% mostró sensibilidad y un 26% de resistencia. Dentro del grupo de otros se encuentra una gran cantidad de diversas bacterias determinadas principalmente en Guatemala y Panamá. En Costa Rica el estudio fue muy específico en investigar solamente las bacterias mencionadas anteriormente.

De este grupo el 56.3% fueron betalactamasas positivas. En cuanto a las sensibilidades a los antibióticos, podemos observar que el 53% fueron sensibles, a la Amoxicilina + ácido clavulánico. El 25% fueron sensibles a la ampicilina y un 67% resistente. En cuánto a la cefalotina muestra una tasa similar de sensibilidad Amoxicilina + ácido clavulánico con 53% pero una mayor resistencia que a la Amoxicilina + ácido clavulánico con 44% de resistencia. La mayoría de estas otras bacterias fueron extraídas de la orina, piel y tejidos blandos, con esto podemos indicar la gran variedad de espectros en la que puede actuar la Amoxicilina+ el ácido clavulánico.(3)

COMENTARIOS

El presente estudio in-vitro nos permitió estudiar el comportamiento sobre la incidencia de las betalactamasas, cada vez más creciente en los hospitales Centroamericanos en pacientes tanto ambulatorios como internados. Se podría concluir que en la mayoría de las cepas de infecciones comunes hoy día, están generando protección a los antibióticos bacterianos mediante la producción de enzimas betalactamasas.

Analizando los resultados podemos inferir que la Amoxicilina + ácido clavulánico es una droga que actúa ya sea en presencia o no de betalactamasas, eliminando estas bacterias según lo que demuestra este estudio in-vitro. Estadísticamente es superior a la ampicilina que cada vez muestra mayor resistencia a las bacterias.

Respecto a la Cefalotina si bien es cierto muestra una alta tasa de sensibilidad, también tiene una mayor incidencia de resistencia de las cepas estudiadas y la desventaja de que su forma es parenteral.

RESUMEN

Se evaluaron 630 cepas aisladas de 5 centros hospitalarios ubicados en Guatemala, El Salvador, Costa Rica y Panamá, para determinar la incidencia de B-lactamasas y las sensibilidades de las bacterias ante Amoxicilina + ácido clavulánico, Ampicilina y Cefalotina. Las cepas aisladas provienen de extracciones hechas a pacientes tanto ambulatorios como hospitalarios. Las bacterias estudiadas de mayor importancia clínica por su patogenicidad en la práctica diaria fueron *S. aureus*, *H. influenza*, *K. pneumonia*, *E. coli* y *B. catarrhalis*. Además se estudiaron un grupo de estas bacterias que incluyeran proteus, Estreptococos entre otros. Los resultados revelaron la elevada incidencia de bacterias generadoras de B-lactamasas, la elevada resistencia a ampicilina, así como las altas tasas de susceptibilidad a la Amoxicilina + ácido clavulánico. Cefalotina también mostró altas tasas de susceptibilidad.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Becton Dickenson Microbiology Systems. 1986. BBI Sensi-Disc antimicrobial susceptibility test discs (package insert). Becton Dickenson Microbiology Systems, Cockeysville, Md.
- 2.- Brown, A.G., D. Butterworth, M. Cole, G. Hanscomb, J.D. Hood, C. Reading, and G.N. Rolinson. 1976. Naturally occurring B-lactamase inhibitors with antibacterial activity. *J. Antibiot.* 29: 668-669.
- 3.- Finch R. *Med, Int.* 1988; 34 (4): 332
- 4.- Hunter. P.A. K. Coleman. J. Fisher, and D. Taylor, 1980. In Vitro synergistic properties of clavulanic acid, with ampicillin, amoxicillin and ticarcillin. *J. Antimicrob. Chemother.* 6:455-570.
- 5.- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1988. Performance standards for Antimicrobial Disk Susceptibility tests. Tentative standard M2-T4. National Committee for clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
- 6.- Neu, H.C., and K.P. Fu. 1978. Clavulanic acid - a novel inhibitor of B-lactamases. *Antimicrob, Agents Chemother.* 14:650-655.
- 7.- O'Callaghan, C.H., A. Morris, S.M. Kirby, and A.H. Shingler. 1972. Novel method for detection of B-lactam by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1:283-288.
- 8.- Powell. M., and J. D. Williams. 1987. In vitro activities of aztreonam, imipenem, and amoxicillin-clavulanate against ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob, Agents Chemother.* 31:1871-1873.
- 9.- Reading, C., and M. Cole. 1977. Clavulanic acid; a B-lactamase from *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11:852-857.
- 10.- Wise, R., J. M. Andrews, and K. A. Bedford, 1978. In vitro study of clavulanic acid in combination with penicillin, amoxicillin and carbenicillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 13:389-393.
- 11.- Thomsberry C. *Clin. Ther; (suppl. A.):*20