

ARTÍCULO ORIGINAL

## Actividad *in vitro* de niveles séricos y urinarios de amoxicilina y amoxicilina-sulbactam sobre 820 cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones urinarias bajas extrahospitalarias. Estudio sudamericano

JOSÉ MARÍA CASELLAS<sup>1\*</sup>, MATÍAS VISSER<sup>1</sup>, BÁRBARA COCO<sup>1</sup>, NATALIA MAC DOUGALL<sup>1</sup>, HUGO COHEN S.<sup>2</sup>, JORGE SOUTRIC<sup>3</sup>, HÉCTOR ARENOSO<sup>3</sup> y GRUPO COLABORATIVO LATINOAMERICANO\*

*In vitro* activity at serum and urinary levels of amoxicillin and amoxicillin-sulbactam against 820 *Escherichia coli* strains isolated from community acquired urinary tract infections. South American collaborative study

We previously showed urinary activity against *Escherichia coli* both after oral amoxicillin-sulbactam and sulbactam alone. A study was performed in 10 laboratories from 8 countries to determine the etiology of community acquired lower urinary tract infections (CALUTI) in patients aged 3-to 7 years in South America. Each laboratory sent data from 100 consecutive isolates including susceptibility to amoxicillin and amoxicillin-sulbactam by agar diffusion and also sent 20 consecutive *E. coli* isolates resistant (R) to amoxicillin-sulbactam to CEA reference laboratory, where MICs were determined for amoxicillin, amoxicillin-sulbactam (2/1) and sulbactam. Urines from 12 volunteers who received a single oral dose 500/500 mg amoxicillin-sulbactam were collected at 0-2; 2-4 and 4-6 h and urinary inhibitory titers (UIT) were determined against 5 R and 1 susceptible (S) isolates from each center. Levels of amoxicillin and sulbactam were determined. Results: Etiology: *E. coli* 820/1000 (82%) was prevalent; *P. mirabilis* and *K. pneumoniae* (4,3% each), *S. saprophyticus* 4,1% other 5,3%. Diffusion test: 59,4% *E. coli* were R to amoxicillin, 16,9 intermediate (I) and 23,7 S whereas results for amoxicillin-sulbactam were 28% R; 19,2 I and 52,8 S. MICs: 102 *E. coli* R to amoxicillin-sulbactam were studied; MIC<sub>90s</sub> (µg/ml) were the following: amoxicillin > 2.048; amoxicillin-sulbactam 256/128 and sulbactam alone 128. UITs: ranged from > 1/32 at 2 h dose; 1/16-1/4 h and 1/4-1/2 at 6 h against all the isolates. Antibacterial urine levels (µg/ml) obtained for amoxicillin and sulbactam respectively were at 2 h 1.414 and 1.904; at 4 h 691 and 1.257 and at 6 h 462 and 641. Our results confirm the prevalence of *E. coli* and explain discrepancies between resistance shown by agar diffusion test and clinical success observed in the treatment of CALUTI.

**Key words:** Urinary tract infections; amoxicillin-sulbactam; Latin America.

<sup>1</sup> Centro de Estudios en Antimicrobianos (CEA), Bs. As., Argentina

<sup>2</sup> Hospital Manuel Belgrano, San Martín, B A, Argentina

<sup>3</sup> Departamento Médico de Laboratorios Bagó, Argentina

Estudio financiado por Laboratorios Bagó.

\***Grupo Colaborativo Latinoamericano:** René Botelho, Hospital de Clínicas, La Paz, Bolivia; Lidia Carvajal, Hospital de Niños, Córdoba, Argentina; Catalina Culasso, Hospital de Niños, Córdoba, Argentina; Roxana De La Vega, Hospital de Clínicas, La Paz, Bolivia; M. del Carmen Espínola, Hospital de Previsión Social, Asunción, Paraguay; Patricia García, Pontificia Universidad Católica de Chile; Humberto Guerra, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú; Damián Ingaramo, IDIMYC, Rosario, Argentina; Walter Pedreira, Universidad Nacional, Montevideo, Uruguay; Adriana Reis, Universidade Federal de Sao Paulo, Brasil; Hélio Sader, Universidade Federal de Sao Paulo, Brasil; J. Pablo Scappini, IDIMYC, Rosario, Argentina; Gabriela Tomé, LACCIM, Martínez, BA, Argentina y Jeannette Zurita, Universidad Nacional, Quito, Ecuador.

Recibido: 27 junio 2002

Aceptado: 18 diciembre 2002

## Introducción

Las infecciones urinarias (IU), bajas e inclusive muchas IU altas no bacteriémicas que ocurren en niños y en pacientes del sexo femenino sin obstrucciones de las vías urinarias, dependen para su tratamiento de los niveles urinarios de los antibacterianos, y no necesariamente de sus niveles séricos<sup>1</sup>.

*Escherichia coli* es la especie prevalente en las IU no complicadas adquiridas en la comunidad en ambos sexos y en todos los grupos etarios.

Amoxicilina-sulbactam es un antimicrobiano que combina dos moléculas  $\beta$ -lactámicas: amoxicilina, y un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas: sulbactam, que es capaz de bloquear la producción, a niveles normales, de la  $\beta$ -lactamasa plasmídica TEM-1 responsable de más de 95% de ocurrencia de resistencia en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes en la comunidad<sup>2</sup>. Con el agregado de sulbactam y otros inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, la resistencia a aminopenicilinas en las cepas de *E. coli* que varía entre 60 y 80% en Sudamérica, desciende a niveles que oscilan entre 30 y 45%<sup>3</sup>. Ello implica que, teóricamente, en ese porcentaje, deberían fracasar los tratamientos con amoxicilina-sulbactam de IU bajas causadas por *E. coli*.

Sin embargo, basados en investigaciones que previamente habíamos efectuado<sup>4</sup>, Bantar et al. demostraron<sup>5</sup> en estudios *ex-vivo* en voluntarios, que amoxicilina-sulbactam alcanza un título inhibitorio de la orina (TIO) suficiente para erradicar cepas hiperproductoras de la  $\beta$ -lactamasa TEM-1. Más adelante, estudios realizados por nuestro grupo de trabajo demostraron que la actividad inhibitoria de amoxicilina-sulbactam y de amoxicilina-clavulanato es también debida a la acción intrínseca del inhibidor solo, independientemente de su combinación con aminopenicilinas. La concentración de sulbactam que se alcanza en orina con las combinaciones comercializadas de amoxicilina-sulbactam supera los 1.000  $\mu\text{g/ml}$ , la que es considerablemente mayor que las CIMs que hemos observado a sulbactam de todas las cepas de *E. coli* ensayadas hasta ahora en la Argentina y que oscilan entre 32 y 256  $\mu\text{g/ml}$ <sup>6</sup>.

En base a estos estudios postulamos que los resultados de los antibiogramas efectuados con cepas aisladas de orina en pacientes que desarrollan IU bajas no complicadas, no bacteriémicas, comunitarias (IUBNCC), muestran resultados fallaces cuando expresan resistencia ya que los puntos de corte que se utilizan, establecidos para concentraciones séricas, no se corresponden con las concentraciones de amoxicilina ni de sulbactam esperables en la orina. Para ello decidimos efec-

tuar un estudio multicéntrico en Sudamérica destinado a los siguientes objetivos:

- Determinar en 10 centros sudamericanos, la prevalencia de las especies bacterianas responsables de IU bajas, extrahospitalarias, no complicadas, no bacteriémicas, de orinas consecutivamente obtenidas de niños y adultos, y su susceptibilidad a amoxicilina y amoxicilina-sulbactam por el método de discos convencional.
- Determinar en 20 cepas consideradas resistentes a amoxicilina-sulbactam, provenientes de cada centro, el valor de la CIM por macrodilución de amoxicilina, sulbactam y la combinación amoxicilina-sulbactam.
- Correlacionar los resultados obtenidos por el método de discos con los valores de CIM de cada fármaco y la concentración de los mismos alcanzables en la orina.
- Determinar el TIO en voluntarios luego de la ingestión de 500/500 mg de amoxicilina-sulbactam, así como las concentraciones de amoxicilina y sulbactam alcanzadas en las orinas emitidas.

## Material y Método

**Centros participantes:** Argentina: Hospital de Niños, Córdoba. IDIMYC, Rosario. LACCIM, Martínez, B A.; Bolivia: Hospital de Clínicas, La Paz; Brasil: Universidade Federal, Sao Paulo; Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile; Ecuador: Universidad Nacional, Quito; Paraguay: Hospital de Previsión Social, Asunción; Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima; Uruguay: Universidad Nacional, Montevideo.

**Cepas:** Cada centro recuperó en forma sucesiva 100 aislamientos provenientes de la orina de pacientes ambulatorios de ambos sexos, mayores de 3 años, que presentaban IUBNCC. Las orinas debían presentar desarrollo de más de 10.000 ufc/ml de un cultivo monomicrobiano, coincidente con un sedimento urinario en el que se observaran más de 10 leucocitos por campo (400 x) para ser incluidas en el estudio.

Las cepas fueron identificadas a nivel de especie de acuerdo a las recomendaciones de la American Society for Microbiology<sup>7</sup>.

Se remitieron al centro coordinador, Centro de Estudios en Antimicrobianos (CEA):

- Veinte cepas, sucesivamente aisladas, resistentes a amoxicilina-sulbactam de acuerdo a los criterios de NCCLS para ampicilina-sulbactam<sup>8</sup> que fueron inoculadas en tubos Eppendorf conteniendo agar blando Columbia

(Biokar, Francia). Aquellos centros que no recuperaron 20 cepas de *E. coli* resistentes entre las 100 cepas estudiadas, prosiguieron estudiando cepas sucesivas hasta completar el número de 20 cepas resistentes. Por otra parte, y con el objetivo de disponer de cepas testigo, cada centro remitió 5 cepas consideradas susceptibles a amoxicilina-sulbactam.

- Una planilla con la información sobre datos demográficos del paciente, cantidad de leucocitos por campo, recuento de colonias, identificación bacteriana, y susceptibilidad a amoxicilina y amoxicilina-sulbactam por el método de discos.

**Estudios efectuados por el centro coordinador.**

- Las cepas recibidas fueron sembradas y se comprobó su pureza y correcta identificación.
- Se efectuó la determinación de la CIM de amoxicilina, sulbactam y la combinación amoxicilina-sulbactam.
- Se determinaron los niveles urinarios de amoxicilina y de sulbactam en la orina de los voluntarios.
- Se determinó el TIO de los voluntarios a cepas seleccionadas de *E. coli* resistentes y susceptibles a amoxicilina-sulbactam.

**Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.**

- **Difusión:** Se utilizaron discos de un mismo lote de amoxicilina 10 µg y amoxicilina-sulbactam 10/10 µg (Medicatec, Argentina), y fueron controlados en el CEA de acuerdo a las recomendaciones de la NCCLS M2-A7<sup>9</sup> para ampicilina-sulbactam 10/10 con cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *E. coli* ATCC 35218. En Chile, por razones operativas se utilizaron discos preparados localmente, pero controlados en el CEA. Cada laboratorio usó el mismo lote de agar Mueller Hinton (Biokar, Francia).
- **Dilución:** Las CIM para amoxicilina, sulbactam y la combinación amoxicilina-sulbactam fueron determinadas en el CEA en forma duplicada usando el método de macrodilución en

agar, de acuerdo a las recomendaciones de NCCLS M100-S2<sup>8</sup>. Se utilizó un aparato replicador de Steers para la inoculación. Amoxicilina-sulbactam fue utilizada en relación 2:1. Se utilizó amoxicilina sódica y sulbactam sódico como fármaco puro con potencia valorada provistos por Laboratorios Bagó Argentina. Se ensayaron diluciones de 0,5 a 2.048 µg/ml de amoxicilina, 8 a 512 µg/ml de sulbactam y 1/0,5 a 518/256 µg/ml de amoxicilina-sulbactam

**Puntos de corte**

- Los puntos de corte utilizados en este estudio y de acuerdo a curvas de regresión previamente realizadas para *E. coli* y *P. mirabilis*<sup>4</sup> se detallan en la Tabla 1.
- Se consideraron los puntos de corte a nivel urinario basados en las concentraciones de antimicrobianos alcanzadas en la orina luego de una dosis oral de amoxicilina-sulbactam de 500/500 mg y en comprobaciones previas<sup>5</sup> de los valores pico alcanzables por amoxicilina: 1.716 µg/ml (SD ± 744) y sulbactam: 1.850 µg/ml (SD ± 922). En base a ello estimamos puntos de corte a “nivel urinario” para susceptibilidad: amoxicilina < 512 µg/ml; sulbactam < 512 µg/ml y la combinación amoxicilina-sulbactam < 512/256 µg/ml.

**Títulos inhibitorios de las orinas de voluntarios frente a aislamientos de *E. coli*.** Las orinas de 12 voluntarios que dieron su consentimiento escrito (6 del sexo masculino; edad media 32 años, rango 23-39 años; peso medio 68 kg), y que recibieron una única dosis oral de 500/500 mg de amoxicilina-sulbactam, fueron recolectadas antes de la administración de la asociación amoxicilina-sulbactam y a las 2, 4 y 6 h post administración. Se determinaron los TIO sobre 5 cepas de *E. coli* resistentes a amoxicilina-sulbactam, tanto por el método de difusión como de dilución y sobre una cepa susceptible.

La técnica para la determinación del TIO fue la previamente descrita por nosotros<sup>4,6</sup>. En breve:

**Tabla 1. Límites de corte para los métodos de difusión en agar y dilución seriada en agar utilizados en este estudio**

Antimicrobiano	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
	S	I	R	S	I	R
Amoxicilina	> 16	12-16	< 12	< 16	16	> 16
Amoxicilina-sulbactam	> 18	14-18	< 14	< 16/8	16/8	> 16/8

S: susceptible; I: intermedio; R: resistente

las muestras de orina fueron conservadas a  $-20^{\circ}$  C hasta su proceso. La orina pre-administración del antimicrobiano (basal) y las post-administración correspondientes a cada horario fueron descongeladas a temperatura ambiente y se efectuaron diluciones progresivas al 1/2 utilizando para ello la orina basal del propio voluntario; se obtuvieron así diluciones desde 1/1 a 1/32. Cada dilución de orina fue colocada en volúmenes de 5 ml en tubos estériles con tapa de rosca. A cada uno de ellos se les incorporó 0,1 ml de una suspensión de cada cepa en estudio ajustada a la concentración de  $10^9$  ufc/ml. Se destaca que no se emplearon medios de cultivo como diluyente ya que la intención fue conocer los TIO en las condiciones propias de la orina vesical. Empleamos un alto inóculo de  $10^9$  ufc/ml para remedar las altas concentraciones de *E. coli* que se alcanzan habitualmente en la orina vesical en las infecciones urinarias bajas luego de un adecuado tiempo de retención (2 horas)<sup>1,3,10</sup> y por otra parte, desafiar a los antibacterianos con un aporte importante de  $\beta$ -lactamasas en las cepas productoras de las mismas. Se incubó un control de orina basal sin antimicrobiano y sin inóculo, para cada voluntario para demostrar su esterilidad, y por otra parte, tubos sin contener antimicrobiano de cada muestra horaria para demostrar la capacidad de desarrollo de la cepa inoculada en las orinas correspondientes. Todos los tubos se incubaron a  $35^{\circ}$  C durante 18 horas. Al cabo de ese tiempo observamos los tubos para determinar la

turbidez por medio de un fotocolorímetro. El primer tubo en que no se observó desarrollo visible fue considerado el correspondiente al TIO. Por ejemplo, si no se observó desarrollo en el tubo correspondiente en el tubo 1/4 pero fue observada a la dilución 1/8, el valor 1/4 fue considerado el TIO.

**Concentraciones urinarias de amoxicilina y sulbactam.** En las mismas orinas emitidas por los voluntarios se determinaron las concentraciones de amoxicilina y sulbactam por un método microbiológico que describiéramos recientemente y que comprobamos que no ofrecía variaciones con los datos obtenidos por cromatografía líquida de alta resolución<sup>7</sup>.

### Resultados

En la Tabla 2 se muestra la prevalencia de especies responsables de IU bajas extrahospitalarias en los 10 centros participantes en un total de 1.000 cepas estudiadas. Los aislamientos de *E. coli* fueron predominantes en todos los países, como era de esperar, con un rango de 70 a 95% y un promedio de 82% que coincidió con estadísticas previas realizadas por el Comité de Antibióticos de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica<sup>11</sup>. Llamó la atención que en Chile el porcentaje de 14% de *Proteus mirabilis* aislados se apartó del rango encontrado en otros países (1 a 5%) y que en el mismo sentido el porcentaje de *K. pneumoniae* aislados en el labo-

Tabla 2. Especies responsables de IU bajas en 1.000 urocultivos realizados en los 10 centros participantes

Centros	Gram negativos					Gram positivos				
	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Klebsiella spp</i> <sup>(1)</sup>	<i>Enterobacter spp</i> <sup>(2)</sup>	Otras <i>Enterobacteriaceas</i> <sup>(3)</sup>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. agalactiae</i>
	Frecuencia %					Frecuencia %				
Córdoba (AR)	93	4	3	-	-	-	-	-	-	-
Rosario (AR)	70	4	11	5	5	2	3	-	-	-
Martínez (AR)	84	5	2	-	-	-	8	-	1	-
Bolivia	86	1	2	5	3	-	3	-	-	-
Brasil	70	2	6	5	-	2	10	2	2	1
Chile	75	14	3	5	2	-	1	-	-	-
Ecuador	95	3	2	-	-	-	-	-	-	-
Paraguay	77	3	6	3	-	-	8	-	-	3
Perú	81	2	6	3	-	3	5	-	-	-
Uruguay	89	5	2	1	-	-	3	-	-	-
Total (%)	820 (82)	43 (4,3)	43 (4,3)	27 (2,7)	10 (1)	7 (0,7)	41 (4,1)	2 (0,2)	3 (0,3)	4 (0,4)

<sup>(1)</sup> *K. pneumoniae* 36; *K. oxytoca* 7

<sup>(2)</sup> *E. cloacae* 24; *E. aerogenes* 3

<sup>(3)</sup> *Proteus vulgaris* 3; *Citrobacter freundii* 2; *Morganella morganii* 2; *Proteus penneri* 3

ratorio de la ciudad de Rosario de 11% también se apartó del rango de los demás centros (2 a 6%). Dado que se trató de infecciones extrahospitalarias estas diferencias no pueden ser atribuibles a brotes. No se observaron diferencias en el aislamiento de bacterias Gram positivas.

En la Tabla 3 se detalla el porcentaje de susceptibilidad a amoxicilina y amoxicilina-sulbactam obtenido por el método de difusión en agar para 820 cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con IU bajas extrahospitalarias. El rango de resistencia en *E. coli* a amoxicilina fue muy amplio (40 a 84,9%), considerando que para la NCCLS las cepas que caen en la categoría intermedia son consideradas como susceptibles en las IU bajas<sup>8,9</sup>. Los porcentajes de resistencia más bajos se observaron en Argentina, Brasil y Chile, los más elevados en Bolivia, Paraguay y Uruguay. La resistencia a amoxicilina-sulbactam también presentó un amplio rango (16 a 50,6%) siendo los valores de resistencia más elevados los encontrados en Perú, Argentina y Uruguay y los menores en Paraguay y Chile.

En la Tabla 4 pueden observarse los valores de CIM de 100 cepas de *E. coli* resistentes a amoxicilina-sulbactam por el método de difusión obtenidas de los 10 centros sudamericanos, así como los valores observados con las cepas de control ATCC. Se destaca que el valor de la CIM<sub>50</sub> de amoxicilina es considerablemente elevado (> 2.048 µg/ml) y además que el valor de la CIM<sub>90</sub> de sulbactam fue 10 veces menor que la concentración alcanzable por este compuesto en la orina vesical (Tabla 6).

En la Tabla 5 puede comprobarse los valores de TIO de los voluntarios luego de la administración de amoxicilina-sulbactam a una dosis oral de 500:500 mg sobre 60 cepas de *E. coli* seleccionadas con diferentes CIMs. Se comprueba que hasta la hora 6 se observaron TIO superiores a 1/2 en todos los horarios para 55 de las 60 cepas estudiadas (91,7%) y que la totalidad de las restantes cepas fueron inhibidas por la orina sin diluir o por diluciones hasta 1/4.

Finalmente, en la Tabla 6 se detallan las concentraciones medias de amoxicilina y de sulbactam

**Tabla 3. Susceptibilidad de 820 cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con IUBNCC a amoxicilina y amoxicilina-sulbactam por el método de difusión en agar**

Centros	Nº	Amoxicilina			Amoxicilina-sulbactam		
		Susceptible %	Intermedio %	Resistente %	Susceptible %	Intermedio %	Resistente %
Córdoba (AR*)	93	41,9	11,8	46,4	65,6	14	20,4
Rosario (AR)	70	47,1	12,9	40	54,3	10	35,7
Martínez (AR)	84	16,7	14,3	69	45,3	5,9	48,8
Bolivia	86	5,8	9,3	84,9	76,7	12,8	10,5
Brasil	79	18,6	32,9	48,5	50	31,4	18,6
Chile	75	45,3	9,4	45,3	57,3	26,7	16
Ecuador	95	16,8	25,3	57,9	41	29,5	29,5
Paraguay	77	9	17	74	58,4	27,3	14,3
Perú	81	17,3	14,8	67,9	34,6	14,8	50,6
Uruguay	89	7,9	21,3	70,8	44,9	19,2	35,9
Total	820	23,7	16,9	59,4	52,8	19,2	28

\* AR: Argentina

**Tabla 4. CIM de amoxicilina, amoxicilina-sulbactam y sulbactam sobre 100 cepas de *Escherichia coli* resistentes a amoxicilina-sulbactam por el métodos de difusión en agar sobre cepas de *E. coli* ATCC**

Antimicrobiano	Rango CIM*	CIM <sub>50</sub> *	CIM <sub>90</sub> *	ATCC25922	ATCC35218
Amoxicilina	32 - >2.048	> 2.048	> 2.048	4	512
Amoxicilina-sulbactam	< 8/4 - 512/256	32/16	256/128	4/2	16/8
Sulbactam	32 - 256	64	128	32	64

\* (µg/ml)

**Tabla 5. Títulos inhibitorios obtenidos en las muestras de orina de voluntarios sobre 60 cepas de *E. coli* con diferentes niveles de susceptibilidad a amoxicilina-sulbactam**

CIM ( $\mu\text{g/ml}$ )	Nº	Hora 0	Hora 2*	Hora 4*	Hora 6*
8/4	10	0	> 1/32	1/32	1/16
16/8	10	0	1/32	1/16	1/16
32/16	23	0	1/8	1/2	1/2
64/32	12	0	1/8	1/4	1/2
128/64	4	0	1/4	1/2	1/1
256/128	1	0	1/1	1/1	1/1

\* Expresado en horas después de la administración de amoxicilina-sulbactam.

**Tabla 6. Concentración urinaria de amoxicilina y amoxicilina-sulbactam en la orina de voluntarios luego de una dosis oral de amoxicilina-sulbactam (500/500 mg)**

Hora	Amoxicilina	Sulbactam
2 h	1.414 *	1.904 *
4 h	691	1.257
6 h	462	641

\* ( $\mu\text{g/ml}$ )

que se hallaron en la orina de los voluntarios luego de recibir la dosis mencionada. Como puede comprobarse, los valores alcanzados hasta las 6 horas superan la concentración correspondiente a la máxima CIM obtenida para sulbactam (128  $\mu\text{g/ml}$ ).

## Discusión

Nuestro estudio muestra que *E. coli* fue responsable de más de 70% de los aislamientos de orina en casos de IUBNCC en ambos sexos en los centros de los países sudamericanos que participaron del estudio. *P. mirabilis* y *K. pneumoniae* (4,3% cada uno); *Staphylococcus saprophyticus* (4,1%) y otras especies (5,2%) constituyeron el resto de los aislamientos. Llamamos la atención sobre la baja incidencia de *Enterococcus*; ello fue probablemente debido a que solicitamos a los investigadores que excluye cepas de enterococos de orinas que hubieran sido refrigeradas por más de una hora, ya que, como es bien conocido, los enterococos son capaces de reproducirse a 4° C.

El número de cepas de *E. coli* estudiadas (820) es realmente significativo. Sin embargo, puede argumentarse que habiendo participado un solo centro en la mayoría de los países, los datos

no representan necesariamente una realidad nacional. Si bien a nivel continental los porcentajes coinciden con estudios previos realizados por SLIPE<sup>11</sup>.

La resistencia observada a amoxicilina-sulbactam en *E. coli* fue de 28% en promedio en base a los puntos de corte de la NCCLS<sup>9</sup>. Esta resistencia, es aplicable a infecciones extrauritarias y es debida a la incapacidad de los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (sulbactam, ácido clavulánico, tazobactam) de efectuar un bloqueo suicida irreversible de la  $\beta$ -lactamasa TEM-1 prevalente en *E. coli* cuando ésta se hiperproduce<sup>2</sup>. La hiperproducción de TEM-1 es frecuente en nuestro medio<sup>5</sup> (R. Zememann, comunicación personal) y los valores de CIM para amoxicilina en tales casos superan los 2.000  $\mu\text{g/ml}$ , lo que impide que los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas puedan cumplir su cometido de reducir la CIM de amoxicilina en la combinación con el inhibidor, a concentraciones que estén por debajo de las alcanzables en plasma. Sin embargo, es consenso entre los pediatras<sup>3,14</sup> que el uso de aminopenicilinas unidas a inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, de cefalosporinas de 1ª generación y de nitrofurantoína, son clínicamente efectivas en IUBNCC a pesar de la resistencia anunciada en los antibiogramas<sup>3</sup>. Esta discrepancia entre la efectividad clínica en IUBNCC y los resultados de los antibiogramas se debe a que en éstos no se consideran los niveles de antibacteriano alcanzables en la orina en relación a la concentración de antibacterianos que inhiben a las cepas de *E. coli* u otros microorganismos. Es un problema similar al de las discrepancias, recién resueltas en este siglo, entre la actividad de amoxicilina en infecciones respiratorias y la llamada resistencia a penicilina que es aplicable a infecciones del sistema nervioso central. Para estas diferencias relacionadas a los puntos de corte que se usan en los antibiogramas el CDC acuñó el término “*the in vivo-in vitro paradox*”<sup>15</sup> que bien puede aplicarse en nuestro caso.

Los valores de CIM de amoxicilina-sulbactam observados en 100 cepas de *E. coli* consideradas resistentes por el método de discos, mostraron que los valores de CIM<sub>90</sub> para las mismas fue de 256/128 µg/ml para amoxicilina-sulbactam y 128 µg/ml en sulbactam. Es de destacar que ambas concentraciones se encuentran francamente debajo de las que se obtienen en la orina luego de la administración de una dosis oral de 500:500 de amoxicilina-sulbactam. Por lo tanto, considerando los niveles urinarios de amoxicilina y de amoxicilina-sulbactam obtenidos luego de dicha dosis, todas las cepas aisladas de infecciones urinarias bajas no complicadas debieran considerarse como probablemente "susceptibles a niveles urinarios" de amoxicilina-sulbactam. Como demostramos previamente estas mismas consideraciones serían aplicables a combinaciones de amoxicilina con otros inhibidores de β-lactamasas tales como amoxicilina-ácido clavulánico<sup>6</sup>.

La actividad de sulbactam como único antibacteriano sobre *E. coli* es probablemente debida a la acción de este compuesto bloqueando a ciertas PBP, lo que ocurre a concentraciones superiores a las que se alcanzan en suero (D. Livermore, comunicación personal).

Los TIO obtenidos en la orina de voluntarios sobre 50 cepas resistentes a amoxicilina-sulbactam por el método de discos, demuestran que ni los resultados denominados "intermedio" ni los "resistentes" por el método de discos según la NCCLS, son capaces de predecir posibles fallas terapéuticas en pacientes tratados con fármacos que alcanzan altos niveles urinarios tales como amoxicilina-sulbactam, lo que ha sido también demostrado con otros antibacterianos tales como cefalosporinas de 1ª generación<sup>12,13</sup>.

En conclusión, estos resultados proporcionan una base farmacodinámica para explicar el éxito observado con el uso de amoxicilina-sulbactam en el tratamiento de IU bajas no complicadas no bacteriémicas, aún en los casos en los que el antibiograma supone resistencia y, por lo tanto, probable ineficacia clínica.

## Resumen

Previamente, habíamos demostrado la actividad que poseen amoxicilina-sulbactam y sulbactam solo frente a *Escherichia coli* en la orina. Realizamos un estudio para determinar la etiología de las infecciones urinarias bajas no complicadas de la comunidad (IUBNCC) en Sudamérica. Participaron 10 laboratorios de 8 países sudamericanos. Cada laboratorio envió al centro coordinador

(CEA, Bs. Aires) los resultados de susceptibilidad a amoxicilina y amoxicilina-sulbactam por el método de discos en 100 aislamientos consecutivos obtenidos de pacientes de 3 a 70 años con IUBNCC y además remitieron 20 cepas de *E. coli* consecutivas consideradas resistentes a amoxicilina por el método de discos. En el CEA se comprobó la CIM de amoxicilina, amoxicilina-sulbactam (2:1) y sulbactam solo; se determinó el título inhibitorio de la orina (TIO) en 12 voluntarios que recibieron una dosis oral de 500:500 mg de amoxicilina-sulbactam. Las orinas se recolectaron a las 0 a 2, 2 a 4 y 4 a 6 h luego de la administración de amoxicilina-sulbactam y los TIO se verificaron sobre 5 cepas de *E. coli* resistentes (R) y 1 cepa sensible (S) a amoxicilina-sulbactam seleccionadas con diferentes CIM, entre las recibidas de cada centro participante; se determinaron las concentraciones de amoxicilina y sulbactam en la orina por un método microbiológico. Resultados: *E. coli* fue predominante 820/1.000 (82%); *P. mirabilis* y *K. pneumoniae* (4,3% ambas); *S. saprophyticus* (4,1%) y otros (5,3%). Susceptibilidad por discos en *E. coli*: 59,4% R a amoxicilina; 16,9% intermedias (I) y 23,7% S y para amoxicilina-sulbactam 28% R, 19,2% I y 52,8% S. Determinación de CIM: se estudiaron 102 *E. coli*, R a amoxicilina-sulbactam, las CIM<sub>90</sub> (µg/ml) fueron: amoxicilina > 2.048; amoxicilina-sulbactam: 256/128 y sulbactam solo, 128. TIO: Variaron desde > 1/32 a las 2 h; 1/16-1/4 a las 4 h y 1/4-1/2 a las 6 h para todas las cepas estudiadas. Niveles de ATB en orina (µg/ml): amoxicilina y sulbactam respectivamente a las 2 h: 1.414 y 1.904; a las 4 h: 691 y 1.257 y a las 6 h: 462 y 641. Nuestros resultados confirman el predominio de *E. coli* en IUBNCC en Sudamérica y explican las discrepancias entre la resistencia supuesta por el método de discos y los éxitos clínicos logrados con amoxicilina-sulbactam en IUBNCC.

## Bibliografía

- 1.- Nicolle L E. Measurement and significance of antibiotic activity in the urine. In: Lorian V. Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th Ed. Baltimore, M R, USA Williams & Wilkins 1996; 793-812.
- 2.- Livermore D M. β-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 557-84.
- 3.- Casellas J M. Antibióticos y antibiogramas en infecciones urinarias pediátricas adquiridas en la comunidad. Arch Latin Nefr Ped 2001; 1 (1): 17-34.
- 4.- Casellas J M, Arenoso H, Soutric J et al. Estudio comparativo *in vitro* de 3 asociaciones de inhibidores suicidas de β-lactamasas con aminopenicilinas. Rev Esp Quimioter 1993; 6: 289-97.

- 5.- Bantar C, Nicola F, Arenoso H et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of amoxicillin-sulbactam, a novel aminopenicillin- $\beta$ -lactamase inhibitor combination, against *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1503-4.
- 6.- Casellas J M, Visser M, Tomè G, Cohen H, Soutric J, Arenoso H. Erradicación de *Escherichia coli* de la orina vesical por amoxicilina-sulbactam. *Actividad intrínseca del inhibidor*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19: 206-10.
- 7.- Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover F, Tenover R. *Manual of Clinical Microbiology*. 7<sup>th</sup> Ed. American Society for Microbiology. Washington DC, 1999.
- 8.- National Committee for Laboratory Standards. 22: M100-S2. Wayne PE, 2002.
- 9.- National Committee for Laboratory Standards. 22: M2-A7. Wayne P E, 2002.
- 10.- Virtanen S, Oksanen T, Peltonen T. Colony counts and the diagnosis of urinary tract infection in infants and children. *Annis Pediat* 1982; 8: 269-74.
- 11.- Casellas, Prado V, Farinati A. Mesa redonda Datos de SLIPE (El Salvador).
- 12.- Casellas J M, Exeni C, Berardi C et al. Estudio clínico y microbiológico acerca de la eficacia de cefalexina a dos dosis diarias comparada con cotrimoxazol en el tratamiento de infecciones urinarias bajas no complicadas adquiridas en la comunidad en niñas. *Arch Arg Ped* 2003; 101 (en prensa).
- 13.- Casellas J M, Exeni C, Exeni R et al. Clinical success when treating lower non complicated pediatric urinary tract infections with cefadroxil are not in accordance with the results of agar diffusion susceptibility tests. *The Brazilian J Infec Dis* 2003; 7 (en prensa).
- 14.- Infección urinaria. En Libro Azul de Infectología Pediátrica. 2<sup>a</sup> Edición. p. 107-120. Comité Nacional de Infectología. Sociedad Argentina de Pediatría. Buenos Aires. 2002.
- 15.- Heffelfinger J D, Dowell S F, Jorgensen J H et al. Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: From the drug-resistant *S. pneumoniae* therapeutic working group. *Arch Intern Med* 2000 160: 1399-408.

Correspondencia a:  
José María Casellas  
E-mail: casellasjm@cpsarg.com