

SEROTIPOS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA MAS FRECUENTEMENTE IMPLICADAS EN BACTERIURIAS SIGNIFICATIVAS EN NUESTRO MEDIO

Maricela Urbina de Hernández
Auramarina Villalobos de Roldán
Alfredo Villalobos C.¹

RESUMEN

Se practica la serotipia a 77 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas a partir de muestras de orina de pacientes con conteo de 100.000 o más colonias por ml. de orina, procesadas en su mayoría en las Secciones de Bacteriología del H.U.M. y H.C.U. Una minoría de las cepas provienen de muestras procesadas en otros laboratorios de la localidad.

Se siguió la técnica de aglutinación en lámina de Habs y complementada por el Subcomité Internacional de *Pseudomonas*, utilizando un set de 4 antiseros polivalentes y 16 monovalentes.

En el estudio se logró el tipaje del 83,12% de las cepas. Entre ellas, 12 serotipos diferentes fueron encontrados.

Los serotipos 4 y 6 fueron los que con mayor frecuencia se observaron (14,29%), siguiéndole en orden de frecuencia los serotipos 1 (12,99%) y 11 (10,39%).

En el H.U.M. el serotipo predominante fue el 1, y en segundo lugar el 4.

El serotipo que con mayor frecuencia se encontró en el H.C.U. fue el serotipo 6.

De las 13 cepas que resultaron no tipiables, 6 se mostraron como no aglutinables, 5 autoaglutinables y 2 aglutinaron con más de un antisuero tanto polivalentes como monovalente.

Al analizar nuestros resultados, compartimos con otros autores (31) que la serotipia usando bacterias vivas es un método confiable para dilucidar el origen de las infecciones nosocomiales ocasionadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUCCION

La importancia de emplear marcadores epidemiológicos que permitan trazar las infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* a nivel hospitalario es cada día mayor, debido principalmente al aumento que las mismas han tenido en los últimos años, lo cual se ha visto favorecido por el incremento de pacientes con factores predisponentes para adquirir dichas infecciones; siendo de una gran ayuda la aplicación de estas técnicas para dilucidar la posible fuente de origen en casos de brotes epidémicos o infecciones cruzadas por esta bacteria (1-7).

Son conocidos los diferentes sitios donde esta bacteria es capaz de ocasionar infecciones (3-9), siendo el tracto urinario uno de los más frecuentes y donde un alto porcentaje de éstas, se describen en pacientes con antecedentes de instrumentación urológica (10-12).

El laboratorio de Bacteriología dispone de varios procedimientos y técnicas para realizar este tipo de estudio epidemiológico, entre los cuales se encuentran, la lisotipia, la pyocinotipia y la serotipia (4-7, 13-28).

La lisotipia, a pesar de que es un método bastante efectivo, presenta el inconveniente del mantenimiento de una colección de fagos, así como la inestabilidad de los patrones de lisis obtenidos, lo cual trae como consecuencia la dificultad en la interpretación de los resultados (14, 29).

La pyocinotipia por su parte constituye un método de tipificación más reciente (7, 14-16), siendo uno de los que con mayor frecuencia se utiliza, estando al alcance de cualquier laboratorio de Bacteriología aún medianamente equipado, debido a lo sencillo de la técnica. Dado su alto grado de confiabilidad, tiene un gran valor en este tipo de estudio, presentándose sin embargo, situaciones donde los resultados que proporciona, son erróneos, teniendo necesidad de recurrir a otros marcadores más estables o que ayuden a complementar los resultados obtenidos por este método, a objeto de determinar si los cambios de pyocinotipo son el resultado de una infección con una cepa diferente o si es debida a un cambio en la producción de pyocina por parte de la cepa original (4-7, 13-19, 22, 24-28).

La clasificación serológica por su parte ha sido utilizada con anterioridad a los otros procedimientos antes mencionados, siendo la técnica de Habs una de las

primeras reconocidas (30). Entre los inconvenientes de la serotipia, aparte de la necesidad de preparación de los antisueros, está el hecho de que el número de serotipos existentes es insuficiente para la precisión que se requiere en este tipo de estudio epidemiológico (14,15), de aquí la necesidad de emplearla en combinación con la pyocinotipia y/o la lisotipia para la diferenciación de cepas epidémicas.

Existen varios esquemas para la serotipia de *Pseudomonas aeruginosa* basados en la clasificación de las cepas de acuerdo a los antígenos somáticos "O", los cuales son mostrados en la Tabla N° 1 (31-36).

TABLA N° 1

LISTA COMPARATIVA DE SEROTIPOS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA EN LOS DIFERENTES ESQUEMAS

ASOCIACION DE ESTUDIOS 1975	HOMMA	LANYI	HABS	LIU (Difco)	VERDER & EVANS	FISHER	MEITERT
A	1	1	3	3	VI	—	5
B	2	3	2	2	I X	3	2
	7		5	5		6	
	13 16		5	16 H L		7	16
C	3	5	7	7	VIII	6	3
D	4	10	8	8	IX	—	14
E	5	7	9	9			
F	6	11	11	11	III	2	15
G	8	4	4	4	—	—	8
H	8	4	6	6	II	1	1 4
I	9	2	10	10	—	5	11
J	10	6	1	1	IV	4	13
K	11	12	—	15	—	—	—
	12	—	—	13 14	V	—	—
L	14	13	12	12	VII	—	7
M	15	9	—	—	—	—	—
	17						
—	—	8	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	9
—	—	—	—	—	—	—	10
—	—	—	—	—	—	—	12
—	—	—	—	—	—	—	17

El propósito del presente trabajo es el de conocer los serotipos más frecuentes de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas a partir de muestras de orina provenientes de pacientes con bacteriurias significativas en nuestro medio.

MATERIALES Y METODOS

El material estuvo representado por 77 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas a partir de muestras de orina de pacientes con contaje de 100.000 o más colonias por ml. de orina, procesadas en su mayoría en las Secciones de Bacteriología de los

Hospitales "Central Dr. Urquinaona" y "Universitario de Maracaibo". Una minoría de las cepas provienen de muestras procesadas en otros laboratorios de la localidad.

Las cepas estudiadas corresponden a la colección del Dr. Alfredo Villalobos C., profesor titular de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, quien las ha mantenido preservadas en Agar Nutritivo, a temperatura ambiente por espacio de 1 a 10 años.

Previo a la serotipia, cada una de las cepas fueron sembradas en medios adecuados para verificar su estado de pureza.

A todas las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas se les practicó serotipia, siguiendo la técnica de Habs (33), complementada por el Subcomité Internacional de *Pseudomonas*, utilizando antisuecos comerciales elaborados en el Instituto Pasteur de París. Según este sistema de clasificación, existen 16 grupos antigénicos numerados del 1 al 16. El equipo consta de cuatro polivalentes designados con las letras A-C-E-F y sus respectivos monovalentes, como se puede apreciar en la Tabla N° 2.

TABLA N° 2
SUEROS AGLUTINANTES
PARA LA AGRUPACION DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Polivalentes	Monovalentes
P M A	P ₁ P ₃ P ₄ P ₆
P M C	P ₉ P ₁₀ P ₁₃ P ₁₄
P M E	P ₂ P ₅ P ₁₅ P ₁₆
P M F	P ₇ P ₈ P ₁₁ P ₁₂

RESULTADOS

Con la metodología empleada se logró el tipiaje del 83,12% de las cepas y los doce serotipos encontrados se muestran por orden de frecuencia en el Cuadro N° 1.

Los serotipos 4 y 6 fueron los que con mayor frecuencia se encontraron, correspondiéndole un 14,29% a cada uno de ellos, siguiéndole en orden de frecuencia los serotipos 1 (12,99%), 11 (10,39%), 3 (7,79%), 10 (6,49%). Otros serotipos tales como el 5, 16, 8, 2, 12, 13, se encontraron en un porcentaje menor del 6%.

CUADRO N° 1

PSEUDOMONAS AERUGINOSA. SEROTIPOS IMPLICADOS EN
BACTERIURIAS SIGNIFICATIVAS EN NUESTRO MEDIO
MARACAIBO 1981

Serotipo (Habs)	Número	Porcentaje
4	11	14,29%
6	11	14,29%
1	10	12,99%
11	8	10,39%
3	6	7,79%
10	5	6,49%
5	4	5,19%
16	4	5,19%
8	2	2,60%
2	1	1,30%
12	1	1,30%
13	1	1,30%
NT	13	16,88%
TOTAL	77	100,00%

F. de I.: Colección del Dr. Alfredo Villalobos C. Profesor Titular de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de L.U.Z.

El Cuadro N° 2 permite apreciar la distribución de los serotipos de acuerdo a la institución de donde procedían, observándose que en el H.U.M., los serotipos predominantes resultaron ser el 1, 4, 6 y 11. El resto de los serotipos observados son mostrados en orden de frecuencia decreciente.

En el H.C.U., el serotipo predominante fue el 6 siguiendo en orden de frecuencia decreciente los serotipos 4, 5, 11.

Las tres cepas estudiadas procedentes del H.G.S. correspondieron a los serotipos 1, 10 y 16.

De instituciones particulares se tiparon 8 cepas, las cuales correspondieron a los serotipos 4, 11, 3, 10, 16 y 8.

CUADRO N° 2

PSEUDOMONAS AERUGINOSA. PROCEDENCIA Y DISTRIBUCION DE LOS SEROTIPOS IMPLICADOS EN BACTERIURIAS SIGNIFICATIVAS MARACAIBO 1981

Serotipos (Habs)	Instituciones				Total
	H.U.M.	H.C.U.	H.G.S.	Clínicas Particulares	
6	4	7	—	—	11
4	6	3	—	2	11
1	8	1	1	—	10
11	4	2	—	2	8
3	3	2	—	1	6
10	2	1	1	1	5
5	1	3	—	—	4
16	1	1	1	1	4
8	—	1	—	1	2
2	—	1	—	—	1
12	1	—	—	—	1
13	—	1	—	—	1
NT	6	7	—	—	13
TOTAL	36	30	3	8	77

F. de I.: Colección del Dr. Alfredo Villalobos C., Profesor de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de L.U.Z.

El 16,88% de las cepas resultaron no tipiables, como se puede observar en el Cuadro N° 3; donde se encuentran distribuidas de acuerdo a su comportamiento al practicárseles la prueba, observándose que 6 resultaron no aglutinables, 5 auto-aglutinables y 2 aglutinaron con más de un antisuero tanto polivalente como monovalente.

CUADRO N° 3

COMPORTAMIENTO, NUMERO Y PORCENTAJE DE CEPAS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA NO TIPIABLES EN NUESTRO ESTUDIO MARACAIBO 1981

Cepas No Tipiables	Número	Porcentaje
No Aglutinables	6	46,15%
Auto-aglutinables	5	38,46%
Aglutinables con más de un antisuero	2	15,39%
TOTAL	13	100,00%

DISCUSION

Las infecciones nosocomiales de vías urinarias continúan relacionándose en forma primaria con la frecuencia de instrumentación de la vejiga e introducción de microorganismos como consecuencia ocasional (10, 12). Siendo *Pseudomonas aeruginosa*, uno de los más importantes gérmenes responsables de dichos cuadros (10-12), nos propusimos estudiar 77 cepas de dicha bacteria, aisladas de pacientes a quienes se les practicó urocultivo y presentaban un conteo de colonias de 100.000 o más por ml. de orina, con la finalidad de conocer los serotipos predominantes en nuestro medio, en dichos casos. En el estudio no se hizo ninguna relación con la clínica del paciente.

Los hallazgos del estudio revelan un 83,12% de cepas tipiables. Por otro lado los serotipos predominantes fueron el 4 y el 6 con un 14,29% cada uno y en segundo lugar el serotipo 1 correspondiéndole el 12,99%, mientras que a diferencia de nuestros resultados, en un estudio reciente en nuestro medio (37) usando la misma técnica (Habs) pero en cepas procedentes de muestras del tracto respiratorio, se logró el 100% de tipabilidad, encontrándose los serotipos 11 (30,98%) y 10 (18,31%) en primer y segundo lugar respectivamente.

Llama la atención en nuestro estudio que en las cepas procedentes del H.U.M. el serotipo predominante es el 1, mientras que en las del H.C.U. es el 6, Por su parte Villalobos y cols. (38) empleando la técnica de Homma (36) observaron que de 87 cepas estudiadas procedentes de diferentes muestras clínicas, el 85,06% fueron tipiables. De estas 87 cepas 17 correspondían a muestras de orina, de las cuales el 82,35% resultaron tipiables. Ocho de estas cepas (47,05%) correspondieron al serotipo 1 (Homma 10), dos (11,76%) al serotipo 11 (Homma 5), dos al serotipo 3 (Homma 1), una (5,8%) al serotipo 12 (Homma 14) y una al 4 (Homma 6). Es de hacer notar que en nuestro trabajo el serotipo 1 ocupó el segundo lugar (12,99%) en prevalencia, observándose además que el serotipo 6, uno de los predominantes en nuestro estudio, no fue encontrado por ellos (38).

Yoshioka y cols. (39) encontraron un 82,1% de cepas tipiables procedentes de diferentes muestras clínicas, ocupando el serotipo 11 (Homma 5) el primer lugar, de las cuales el 50% de las cepas procedían de orina, en segundo lugar el 6 (Homma 8), el 7 (Homma 3) en tercer lugar y el 3 y 9 (Homma 1 y 4) en cuarto lugar.

Moody y cols. (17) empleando la técnica de Fisher (35) en muestras procedentes del tracto urinario encontraron un 1,2% de cepas no tipiables de un total de 162 cepas probadas y los serotipos predominantes, observados en orden de frecuencia fueron el 6 (Fisher 1, Homma 8), 11 (Fisher 2, Homma 5), 7-8 (Fisher 6, Homma 3). Es importante señalar que nosotros al igual que ellos observamos el serotipo 6 en primer lugar, sin embargo el serotipo 4, también encontrado por nosotros en primer lugar, no pudo ser correlacionado con este trabajo (17) por no aparecer en la literatura la respectiva correspondencia con los otros esquemas aquí mencionados.

A pesar de que encontramos un porcentaje de tipabilidad comparable con otros autores empleando diferentes técnicas serológicas (38, 39), es de hacer notar la observación de dos cepas que aglutinaron más de un antisuero monovalente, lo cual puede ocurrir cuando las mismas son preservadas a temperatura ambiente, factor influyente en los cambios de serotipos, aglutinación con varios antisueños o que la cepa se haga no aglutinable (40). Para obviar este inconveniente, sobre todo si tomamos en cuenta que la serotipia por la técnica de Habs es un método fácil, es recomendable tipiar la cepa inmediatamente después de aislada.

Es importante señalar, que en trabajos anteriores (26, 27), 44 de estas 77 cepas estudiadas habían sido estudiadas para clasificarlas por investigación de la producción de pyocinas por el método de Gillies y Govan (15, 16), 17 no pudieron ser tipificadas por éste método, mientras que posteriormente cuando le practicamos la serotipia por el método de Habs, a 14 de estas cepas se les pudo determinar su serotipo, perteneciente la mayoría de ellas (nuevas cepas) al serotipo 1. Nuestros

resultados sugieren una correlación entre ciertos serotipos y pyocinotipos, hallazgos también observados por otros autores (1).

En nuestro estudio también pudimos darnos cuenta que dos de las cepas que no resultaron tipiables cuando las probamos por la técnica de Habs, si pudieron ser clasificadas utilizando la pyocinotipia.

Al analizar nuestros resultados compartimos con otros autores (31) que la serotipia, usando bacterias vivas como antígeno es un método confiable para dilucidar el origen de las infecciones nosocomiales ocasionadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 BERGAN, T.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B.*, 81:70, 1973.
- 2 FERNANDEZ, H.: Tipificación Serológica de *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev. Med. Chile.* 106:41, 1978.
- 3 *Pseudomonas* infection in hospital. *Brit. Med. J.* 4:309, 1967.
- 4 FIENER, J., et al.: *Pseudomonas aeruginosa* epidemic traced to deliveryroom resuscitators. *New Engl. J. Med.* 276:991, 1967.
- 5 DREWELL, S., et al.: Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* infection from a special care nursery. *Lancet.* 1:946, 1972.
- 6 GRUBLE, H., et al.: Fine-particle humidifiers: Source of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a respiratory-disease unit. *New Engl. J. Med.* 282:531, 1970.
- 7 WAHBA, A.: Hospital infection with *Pseudomonas pyocianea*: An investigation by a combined pyocine and serological typing method. *Brith. Med. J.* 1:86, 1965.
- 8 PASETTO, D., et al.: Nursery outbreak of severe diarrhoea due to multiple strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet.* 2:38, 1972.
- 9 SUTTER, V., et al.: Sources of *Pseudomonas aeruginosa* infection in burns: Study of wound and rectal cultures with phage typing. *Ann. Surg.* 163: 597, 1966.
- 10 CLUFF, L., et al.: Infecciones de vías urinarias. En: *Enfermedades Infecciosas*, p. 247, México, Nueva Editorial Interamericana S.A. 1974.
- 11 PINEDA, M., et al.: Cambios en la frecuencia etiológica y sensibilidad a los agentes antimicrobianos en la infección urinaria. Hospital Universitario de Maracaibo. Presentado en el II Congreso Venezolano de Medicina Interna. Maracaibo, octubre 1979.
- 12 GROSS, P., et al.: Deaths from Nosocomial Infections: Experience in a University Hospital and a Community Hospital. *The American Journal of Medicine.* 68:219, 1980.
- 13 TINNE, J., et al.: Cross-infection by *Pseudomonas aeruginosa* as a hazard of intensive surgery. *Brit. Med. J.*, 4: 313, 1967.
- 14 FARMER III, J., et al.: Epidemiological fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* by production of and sensitivity to pyocin and bacteriophage. *Appl. Microbiol.* 18:760, 1969.
- 15 GILLIES, R., et al.: Typing of *Pseudomonas pyocianea* by pyocine production. *J. Pathol. Bacteriol.* 91:339, 1969.
- 16 GOVAN, J., et al.: Further studies in the pyocine typing of *Pseudomonas pyocianea*. *J. Med. Microbiol.* 2:17, 1969.

- 17 MOODY, M., et al.: *Pseudomonas aeruginosa* in a Center for Cancer Research. I. Distribution of intraspecies types from human and environmental sources. *J. Infect. Dis.* 125: 95, 1972.
- 18 PHILLIPS, I., et al.: Acetic acid in the treatment of superficial wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet.* 1:11, 1972.
- 19 RUIZ, I.: Prevalencia de portadores de *Pseudomonas aeruginosa* en niños hospitalizados. México. Universidad Nacional Autónoma, Hospital Infantil de México, 1969, 29h (Tesis de Grado).
- 20 SUTTER, V., et al.: A standardized system for phage typing *Pseudomonas aeruginosa*. *Health Lab. Sci.* 2:7, 1965.
- 21 GRABER, Ch., et al.: Bacteriophage grouping of *Pseudomonas aeruginosa*. With special emphasis on lysotypes occurring in infected burns. *Am. J. Clin. Pathol.* 37:54, 1962.
- 22 BRUMFITT, W., et al.: Clinical and laboratory studies with Carbenicillin. A new Penicillin active against *Pseudomonas pyocinea*. *Lancet.* 1:1289, 1967.
- 23 LOWBURY, E., et al.: Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics: Emergence of strains highly resistant to Carbenicillin. *Lancet.* 2:448, 1969.
- 24 SMITH, R., et al.: Use of acetamide broth in the isolation of *Pseudomonas* from rectal swabs. *Appl. Microbiol.* 24:143, 1972.
- 25 ROSE, H., et al.: Subtyping of pyocine type I *Pseudomonas aeruginosa* one year of experience. *Appl. Microbiol.* 22:475, 1971.
- 26 VILLALOBOS, C., y cols.: La pyocinotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en nuestro medio. *Rev. Fac. Med. (Maracaibo).* 6:97, 1973.
- 27 PAZ, E., y cols.: Pyocinotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital General de la localidad. *Kasmera,* 5:229, 1976.
- 28 LUGO, L., y cols. Presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en materiales y ambientes del Hospital Universitario de Maracaibo. *Rev. Fac. Med. (Maracaibo)* 9:35, 1977.
- 29 ZIERD, Ch., et al.: Disociation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 37:1003, 1964 (Citado por J. J. Farmer III en la Referencia N° 14).
- 30 HOMMA, J.: Serological typing of *Pseudomonas aeruginosa* and several Points to be considered. *Japan. J. Exp. Med.* 44,1:1, 1974.
- 31 HOMMA, J., et al.: Proposal of an International Standard for the Intraspecific Serologic Classification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Japan. J. Exp. Med.* 49, 1,: 89, 1979.
- 32 VERDE, E., et al.: A proposed antigenic, schema for identification of strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Infect. Dis.* 109:183, 1961 (Citado por Moody, M. en la referencia N° 17).
- 33 HABS, I.: Untersuchungen uber die. O-Antigen von *Pseudomonas aeruginosa*. *Z. Hyg. Infektionskr.* 144:218, 1957 (Citado por Moody, M. en la referencia N° 17).
- 34 LANYI, B.: Serological properties of *Pseudomonas aeruginosa*. I. Group-specific somatic antigens. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 13:295, 1966-1967 (Citado por Moody, M. en la referencia N° 17).
- 35 FISHER, M., et al.: New immunotype schema for *Pseudomonas aeruginosa* based on protective antigens. *J. Bact.* 98:836, 1969 (Citado por Moody, M. en la referencia N° 17).
- 36 HOMMA, J., et al.: Serological typing of *Pseudomonas aeruginosa* and its cross-infection. *Japan. J. Exp. Med.* 40:347, 1970.
- 37 HERNANDEZ, M. y cols.: Serotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras del tracto respiratorio (por publicar).
- 38 VILLALOBOS, A., y cols. Serotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en el Hospital Universitario de Maracaibo. *Kasmera.* 6:159, 1978.

39 YOSHIOKA, M., et al.: Serotypes and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical materials in the Hokkaido University Hospital. 1967, J. Jap. Assoc. Infect. Dis. 44:340, 1970.

40 KAWAHARAJO, K.: Changes in serotype of *Pseudomonas aeruginosa*. Japan. J. Exp. Med. 43,3:225, 1973.