

PERFIL MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DEL PIE DIABÉTICO EN NUESTRO MEDIO Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO

Sergio G. Barbero, Mario M. Auad

Clinica Romagosa S.A. Dean Funes 429, Córdoba, Argentina
Centro de Enfermedades Circulatorias y Ozonoterapia. Ituzaingo 1084, Córdoba, Argentina

Email: labanalisis@arnet.com.ar
Tel: 0351-4658509

RESUMEN: Una de las complicaciones más frecuentes en los pacientes con diabetes mellitus es la infección del pie diabético, siendo esta la causa principal de amputaciones no traumáticas.

Objetivo: estudiar la etiología infecciosa y la sensibilidad a antimicrobianos, para establecer tratamientos más eficaces y mejores pautas antibióticas empíricas en nuestro medio. **Materiales**

y Métodos: estudio observacional, transversal y prospectivo de 78 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus y úlceras en sus pies sin tratamiento antibiótico. Se obtuvieron y cultivaron muestras de las lesiones documentando los gérmenes presentes y su sensibilidad. **Resultados:**

Desarrollaron el 89,7% de las muestras siendo un 59% polimicrobianas. Predominaron los aerobios Gram (-) 45,4%, siendo *S. aureus* (26,8%) y *P. aeruginosa* (21,8%) los más frecuentes

En los estudios de sensibilidad mostraron resistencia el 42 % de *S. aureus* a Oxacilina y el 33 % de enterobacterias y 43% en *P. aeruginosa* a Ciprofloxacina. En otros antibióticos se observaron diferentes grados de sensibilidad. **Conclusión:** Un temprano y adecuado diagnóstico microbiológico permite conocer la etiología de las infecciones y alcanzar tratamientos más eficaces, contribuyendo a la cura de las lesiones y así evitar las amputaciones tempranas.

Palabras Clave: Diabetes mellitus. Pie diabético. Infección .Antibioticoterapia. Tratamiento empírico.

INTRODUCCION:

La diabetes mellitus afecta a 200 millones de personas en todo el mundo y se estima que en el año 2020 habrá más de 300 millones, convirtiéndola en una pandemia.

En la República Argentina el 8 % de la población, más de 2,5 millones, padece diabetes (1).

Una de las complicaciones más frecuentes de esta enfermedad es el pie diabético, síndrome de etiopatogenia multifactorial, resultante de la interacción de factores sistémicos (angiopatía y neuropatía) y factores externos (modo de vida, higiene, calzado, etc.).

La neuropatía asociada a patología vascular y a microtraumatismos a repetición, son los factores más importantes involucrados en la génesis de la úlcera en el pie de estos pacientes (2,3) y por otro lado la diabetes predispone a la infección de la misma (4,5). La infección de estas úlceras compromete seriamente a la extremidad, aproximadamente el 70 % de las amputaciones no traumáticas de miembros inferiores en el mundo están relacionadas con la diabetes y de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes cada 30 segundos se realiza una amputación en algún lugar del mundo por esta causa (1). Se estima que el 85 % de estas amputaciones se podrían evitar o posponer, con una adecuada prevención y tratamiento del pie diabético (6).

A menudo el tratamiento se basa en algoritmos con antibioticoterapias empíricas, no adecuadas a nuestra realidad sanitaria, sin cultivarse la lesión, desconociendo así los posibles agentes participantes y sus resistencias (7,8).

El objetivo de este estudio es identificar los agentes etiológicos de la infección del pie diabético en nuestro medio y los patrones de resistencia antibiótica, para poder establecer tratamientos adecuados que tiendan a disminuir las amputaciones, que tiene un gran impacto negativo en la calidad de vida de estos pacientes.

MATERIALES Y METODOS:

Se realizó un estudio observacional, transversal y prospectivo. Entre febrero de 2006 y diciembre de 2009 se tomaron muestras de lesiones pédicas, de distinto grado, de un total de 78 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus, que no habían recibido antibióticos por lo menos una semana antes de la obtención de la muestra, y que concurrieron por consultorio externo a la Clínica Romagosa S.A. y al centro Privado de Enfermedades Circulatorias y Ozonoterapia de la ciudad de Córdoba.

Toma de muestra: para el procesamiento microbiológico las muestras se obtuvieron por desbridamiento quirúrgico, con toma profunda o punción aspiración, y cuando no fueron posibles estas técnicas, se realizó un barrido de 1 cm² de la zona afectada., con hisopo estéril.

Definición operacional de pie diabético: miembro inferior de paciente con diabetes mellitus que presenta signos clínicos de afección vascular, infección o neuropatía.

Procesamiento de las muestras: Una vez recolectadas en medio de transporte de Stuart el procesamiento se inicio rápidamente, realizando extendidos para coloración de Gram y sembrando en caldo tioglicolato, agar chocolate, agar sangre, agar CLDE y agar Saboureaud glucosado, incubándose a 35°C durante 24 a 48 hs.

Identificación microbiana: a través de la tinción de Gram se valoraron las características taxonómicas primarias de los microorganismos, así como la cantidad de leucocitos polimorfonucleares y células epiteliales. Se realizaron pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, catalasa, oxidasa, fenilalanina, Voges Proskauer, rojo de metilo, urea ,TSI, citrato, DNAsa, indol, movilidad, SIM, CAMP, coagulasa, bilis esculina, PYR, y otras adicionales. Se consideró presencia de bacterias anaerobias cuando en una herida supurante se observaron gérmenes en la coloración de Gram y hubo desarrollo en el caldo tioglicolato, sin desarrollo en el repique en condiciones aeróbicas.

Test de susceptibilidad: se utilizó el método de difusión en agar (técnica de Kirby-Bauer) empleando monodiscos de Amikacina, Amoxicilina Clavulánico, Ampicilina, Cefalotina, Cefepime, Cefotaxima, Ceftazidima, Ciprofloxacina, Clindamicina, Eritromicina, Gentamicina, Imipenem, Minociclina, Oxacilina, Piperacilina, Piperacilina-tazobactam, Rifampicina, Trimetoprima-sulfametoxazol, y Vancomicina. Para detección de BLEE se utilizó el test de doble disco.

Análisis estadístico: los datos fueron capturados en una base de datos y procesados estadísticamente con Epi info 6(OMS).

RESULTADOS:

Se estudiaron 78 pacientes, 51 varones (65,4 %) y 35 mujeres (44,6 %), con edad media de 62,3 años (33 - 87 años).

En 70 pacientes (89,7 %) se logró aislar o detectar algún microorganismo, mientras que no hubo detección de agente etiológico en 8 (10,3 %).

De los 70 pacientes con cultivo positivo, hubo aislamiento monomicrobiano en 32 (41%) y con dos microorganismos en 38 (59 %), lográndose un total de 108 aislamientos (Tabla I).

En la evaluación microbiológica de los 108 aislamientos, 49 (45,4 %) fueron aerobios Gram(-), 37 (34,2 %) aerobios Gram (+), 17 (15,7 %) anaerobios y por ultimo 5 (4,6 %) correspondieron a *Candida*.

De los aerobios Gram (-) el 23,1 % fueron bacilos no fermentadores con predominio de *Pseudomonas aeruginosa* (21,3 %), seguidos de *Stenotrophomonas maltophilia* y *Acinetobacter baumannii*.

El resto de los aerobios Gram(-) correspondió a la familia *Enterobacteriaceae* (22,2 %), siendo *Proteus* el germen predominante (6,5%) seguido por *Escherichia coli* (5,5%) y luego *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Citrobacter* y *Serratia* con porcentajes menores (Tabla II).

Los cocos Gram (+) manifestaron aislamientos predominantes de *Staphylococcus aureus* con un 26,8 % lo que lo ubica en el germen mas frecuentemente detectado ubicándose luego *Enterococcus faecalis* (3,7 %) *Staphylococcus coagulasa negativo* (1,8 %) y *Streptococcus agalactiae* y *S. pyogenes* (ver tabla II).

Cuando se estudió la resistencia en aerobios Gran (-) no fermentadores (Tabla III), se pudo observar para *Pseudomonas aeruginosa* una resistencia de 9 % para Imipenen, 17 % para Ceftazidima y 43 % para Ciprofloxacina, observándose también multiresistencia en la única cepa de *Acinetobacter* aislada.

En el estudio de susceptibilidad antibiótica para enterobacterias (Tabla IV), hubo 21 % de resistencia a Cefalosporinas de tercera generación, 33 % de resistencia a Ciprofloxacina, 42% de resistencia a Trimetoprima Sulfametoxazol, 58 % a Ampicilina y no se detectó resistencia a Carbapenemes. Se detectaron dos cepas productoras de Beta Lactamasa de Espectro Extendido (BLEE).

La resistencia registrada en los cultivos donde desarrollo *Staphylococcus spp* reportò 0 % para Vancomicina, 42 % de meticilinoresistencia , 45% para Ciprofloxacina y 42 % para Clindamicina ,entre otros antibióticos probados según se puede apreciar en Tabla V.

Enterococcus faecalis también mostró 0 % de resistencia a Vancomicina y a Ampicilina, 50 % a Ciprofloxacina y 25% a Gentamicina de alta carga (Tabla VI).

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

De los resultados obtenidos se observa un predominio de infecciones del pie diabético en hombres, lo cual podría deberse a que estos realizan actividades con mayor riesgo de someter a traumatismos a las extremidades inferiores (9).

Se puede observar que hubo aislamiento del agente etiológico en casi el 90 % de los pacientes testeados, lo que demuestra la utilidad de realizar el estudio microbiológico de las lesiones siempre que sea posible.

El 59 % de las muestras obtenidas tuvieron desarrollo de más de un microorganismo, lo que coincide con otros estudios previos, que también sostienen que estas infecciones son polimicrobianas, lo que requiere un óptimo procesamiento de las muestras para detectar todos los microorganismos presentes en ellas. (10,11). Asimismo y debido a esto, es sumamente importante la eficacia en la toma de muestra para evitar la contaminación con flora comensal. Aunque la técnica de elección para obtener las muestras sea la biopsia profunda o la punción aspiración, esto no es posible la mayoría de las veces, y se debe recurrir a la recolección con hisopo. A pesar de ello, y dado que en nuestros cultivos no se aisló *Corynebacterium*, y fue bajo el aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativo, no se consideró que la toma de muestra con hisopo sesgara per se nuestro estudio.

Al observar los microorganismos aislados, se aprecia que casi la mitad (45,4%) fueron aerobios Gram (-), incluyendo distintos miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, como así también No Fermentadores con un alto porcentaje de *Pseudomonas aeruginosa* (21,3%) situándolo en el segundo germen más frecuentemente aislado. Se incluye también en este grupo, el aislamiento de *Stenotrophomonas maltophilia* y *Acinetobacter baumannii*, al cual se lo consideró agente etiológico y no contaminante, ya que provino de una muestra de un paciente sometido a internaciones previas por patologías asociadas a su diabetes, y varios tratamientos previos con distintos antibióticos.

Al estudiar los aerobios Gram (+) se observa que el *Staphylococcus aureus* resultó el germen con más aislado (26,8% del total), concordando con otros autores (10, 11, 12, 13, 14).

Enterococcus faecalis se detectó en cuatro aislamientos, siempre acompañado de flora anaerobia, hallazgo a resaltar, ya que la patogenicidad de ambos se incrementa al colonizar el mismo sitio de infección.

La presencia de anaerobios se detecto en 15,7% de las muestras, aunque se estima que el nivel sería mayor si se utilizaran las tomas de muestras en las condiciones requeridas para estos

gérmenes, así como su aislamiento y tipificación, que aún siguen siendo poco utilizados en el estudio rutinario por los laboratorios de mediana complejidad en nuestro medio.

Candida albicans desarrolló en el 4,6 % de los cultivos demostrando la importancia de tener en cuenta la posible presencia de hongos, ya que no son eliminados por los antibióticos antibacterianos y por el contrario, el tratamiento con estos, podría agravar la infección fúngica.

Con respecto a la susceptibilidad antibiótica para aerobios Gram (-) no fermentadores se observan altas tasas de resistencia a la Ciprofloxacina por parte de las *Pseudomonas aeruginosa* con el agravante que es el antibiótico usado empíricamente para cubrir Gram (-) en este tipo de afecciones (15, 16) y con porcentajes de resistencia mas bajos, pero también significativos para otros antibióticos antipseudomonas, avalando la importancia del estudio de sensibilidad. En la Tabla III también se observa el aislamiento de *Acinetobacter baumannii*, de difícil tratamiento debido a su multiresistencia antibiótica.

En enterobacterias la sensibilidad es muy variada para los distintos gérmenes aislados, observando valores de resistencia mayores comparados con enterobacterias de origen ambulatorio de programas como la red WHONET o Sistema Informático de Resistencia, (17, 18), lo cual podría atribuirse a que estos pacientes si bien pertenecen al grupo ambulatorio, ven alterada esta condición por su patología diabética de base, que los somete a internaciones previas y tratamientos antibióticos por otros procesos infecciosos. Por esta misma causa se detectó la presencia de BLEE, lo que no es de esperar en pacientes ambulatorios puros, demostrando la importancia de realizar estudios de susceptibilidad con detección de esta betalactamasa para evaluar la posibilidad de utilizar o no, cefalosporinas de cuarta generación, si fuera factible.

En el germen más aislado, *S. aureus*, es preocupante la alta resistencia a Oxacilina, la cual casi alcanza a la mitad de ellos, dejando pocas opciones terapéuticas ambulatorias, debiendo recurrirse, en la mayoría de los casos, a tratamientos con Vancomicina por vía parenteral. Esta resistencia en aumento concuerda con otros autores, indicando un estado de alerta. Más aún,

teniendo en cuenta que las dos primeras cepas aisladas en el mundo de *S. aureus* resistente a Vancomicina provenían de úlceras de pie diabético (19, 20).

En conclusión, de los resultados obtenidos se comprueba la gran variedad de microorganismos que pueden estar presentes en las infecciones del pie diabético, así como los distintos patrones de resistencia. Todo esto suscita lo imperioso de un adecuado estudio microbiológico de la zona afectada, en lo posible antes de iniciar cualquier tratamiento antibiótico. Asimismo estos hallazgos plantean la necesidad de una vigilancia evolutiva y periódica, para modificar las pautas establecidas de tratamiento empírico de estas infecciones en nuestro medio, ya que los microorganismos aislados con sus resistencias adquiridas, son pocas veces susceptibles a estas terapias empíricas.

Incluso en casos de gravedad y alto riesgo de amputación podría iniciarse el tratamiento con antibioticoterapia que abarque a los gérmenes con alta resistencia aislados en el estudio.

El tratamiento de la infección del pie diabético es complejo y debe acompañarse de distintas medidas dentro de las cuales es imprescindible la toma adecuada, en tiempo y forma de la muestra para el estudio microbiológico, y su envío al laboratorio para la tipificación y estudio de sensibilidad del agente etiológico, logrando de esta forma un tratamiento antibiótico dirigido con más posibilidades de éxito terapéutico.

-Tabla I

Distribución de pacientes según desarrollo obtenido (n=78).

	n	%
Cultivo positivo	70	89,7
Cultivo negativo	8	10,3
Un microorganismo	32	41,0
Dos microorganismos	38	59,0

-Tabla II

Distribución de microorganismos aislados (n=108).

Microorganismos	n	%
<u>Aerobios Gram (-)</u>	49	45,4
Bacilos no fermentadores	25	23,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	21,2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0,9
Enterobacterias	24	22,2
<i>Proteus spp</i>	7	6,5
<i>Escherichia coli</i>	6	5,5
<i>Klebsiella spp</i>	3	2,7
<i>Enterobacter spp</i>	3	2,7
<i>Morganella morganii</i>	2	1,8
<i>Citrobacter freundii</i>	2	1,8
<i>Serratia marcescens</i>	1	0,9
<u>Aerobios Gram (+)</u>	37	34,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	26,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	5,5
<i>Staphylococcus coagulasa (-)</i>	2	1,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,9
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	0,9
<u>Anaerobios</u>	17	15,7
<u>Hongos</u>	5	4,6
<i>Candida albicans</i>	5	4,6

-Tabla III

Resistencia en Gram (-) no fermentadores (%)

	AMC	PIP	TAZ	CAZ	CFP	IMP	CIP	GEN	AKN	TMS	MIN
<i>P. aeruginosa</i> (n=23)	NP	39	17	17	13	9	43	35	26	NP	NP
<i>A.baumannii</i> (n=1)	0	100	100	100	100	0	100	100	100	100	0

AMC: Amoxicilina clavulanico, PIP: piperacilina, TAZ: piperacilina tazobactam, CAZ: ceftazidima, CFP: cefepime, IMP: imipenem, CIP: ciprofloxacina, GEN: gentamicina, AKN: amikacina, TMS: trimetoprima sulfametoxazol, MIN: minociclina, NP: no probado.

-Tabla IV

Resistencia en Enterobacterias(%)

	AMN	AMC	CEF	CTX	IMP	TAZ	GEN	AKN	CIP	TMS
(n=24)	58	37	41	21	0	17	29	8	33	42

AMN: ampicilina, AMC: amoxicilina clavulanico, CEF: cefalotina, CTX: cefotaxima, IMP: imipenem, TAZ: piperacilina tazobactam, GEN: gentamicina, AKN: amikacina, CIP: ciprofloxacina, TMS: trimetoprima sulfametoxazol.

-Tabla V

Resistencia en *Staphylococcus spp* (%)

	OXA	TMS	MIN	CIP	ERI	CLI	RFA	VAN
(n=31)	42	19	3	45	45	42	10	0

OXA: oxacilina, TMS: trimetoprima sulfametoxazol, MIN: minociclina, CIP: ciprofloxacina, ERI: eritromicina, CLI: clindamicina, RFA: rifampicina, VAN: vancomicina.

-Tabla VI

Resistencia en *Enterococcus faecalis* (%)

	AMN	VAN	GEN +	CIP
(n=4)	0	0	25	50

AMN: ampicilina, VAN: vancomicina, GEN +: gentamicina alta carga, CIP: ciprofloxacina.

BIBLIOGRAFIA:

1. Pierson A, Dissat C. Comunicado de Prensa. Federación Internacional de Diabetes. Salvador de Bahia, Brasil. 2005.(<http://www.idf.org/espa%C3%>).
2. Frykberg RG. Diabetic Foot Ulcers Pathogenesis and Management. *American Family Physician*. 2002,66:1655-1662.
3. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Mohler MJ, Wendel CS, Lipsky BA. Risk Factors for Foot Infections in Individuals With Diabetes. *Diabetes Care*. 2006,29:1288-1293.
4. Hernandez Mures A, Morillas Ariños C, Lluch Verdu C, Riera Fortuny C, Graña Fandos P, Inigo Zaera H, Peña G, Muñoz Ferrer L. Infección y Diabetes. *Semergen*. 2002, 24:539-544.
5. Muñoz CM, Valles Ugarte ML, Albarran ME. Frecuencia de infecciones en diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la SEMG*. 2003,52:197-199.
6. Zaragoza Crespo R., Blanes Mompo JI. Infección y pie diabético ¿existen nuevas posibilidades terapéuticas?. *Angiología*. 2006,58:347-356.
7. Artazcos ED, Gonzalez Calbo A, Giron Gonzalez JA, Bohorquez Sierra, JC, Benitez Rodriguez E., Marin Casanova P, Rodriguez Piñero M. Antibioterapia empírica en el pie diabético y no diabético. *Angiología*. 2005,57:389-400.
8. Martinez Gomez DA. Tratamiento de la infección en el pie diabético. Elsevier. 2004, 76: 9 -15.
9. Bravo Maceda LJ, Casarrubias AB. Frecuencia de infecciones bacterianas en pacientes con pie diabético en dos hospitales de Chilpancingo Guerrero. *Revista Facultad de Ciencias Biológicas*, 2008,7:1-8.
10. Sapico LF, Canawati HN, Witte JL, Montgomerie JZ, Wagner FW, Bessman AN. Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *Journal of Clinical Microbiology*. 1980,12:413-420.

11. Citron DM, Goldstein JC, Merriam CV, Lipsky BA, Abramson M. Bacteriology of moderate to severe diabetic foot infection and in vitro activity of antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45:2819-2828.
12. Martínez J L, Lopez E. Perfil bacteriológico del pie diabético y conocimiento de cuidados preventivos en el hospital escuela. *Revista medica de post grado de medicina*. 2007, 10:150-155.
13. Ravisekar G, Benu D, Vishnubhatla S, Arti K, Ammini A C, Chaudhry R. A clinical microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital. *Diabetes care*. 2006, 29:1727-1732.
14. García Herrera A. Microbiología de lesiones de pie diabético en nuestro medio. *Microbiología y parasitología angiología y cirugía vascular*. 2009;17:1-8.
15. Davalos J V, Lopez P C, Fernandez A J. Uso de antibióticos en infecciones del pie diabético. *Revista de post grado de la cátedra de medicina*. 2008;185:11-16.
16. Edmonds M, Foster A, Pods M. The use of antibiotics in the diabetic foot. *The American journal of surgery*. 2004, 187:25-28.
17. Informe anual de la red de monitoreo y vigilancia de la resistencia a los antibióticos. Red WHONET. 2005:1-10.
18. Quinteros M, Radice M, Giovanakis M, Famiglietti A, Nicola F, Kovensky J, Martin M, Casellas J M, Gutkind G, Pasteran F, Soloaga R, Galas M, Glodberg M, Bantar C, y grupo SIR. Sistema informático de resistencia SIR. *Boletín de la asociación argentina de microbiología*. 2009;183:9-13.
19. Chang S D, Sievert J C, Hageman M I, Boulton F C. Infection with vancomycin-resistant *S. aureus* containing the vanA resistance gene. *NEJM*. 2003;348:1342-1347.
20. Jayasekera A, Jennings L, Holden C., Bates C and Gawkrödger D.J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in skin disease affects mainly elderly patients with eczema and leg ulcers have associated chronic disease. *Acta dermatologica*. 2008;88:156-158.