



Infectio

Asociación Colombiana de Infectología

www.elsevier.es/infectio



ORIGINAL

Actividad *in vitro* de doripenem comparado con meropenem frente a aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* en un centro asistencial de tercer nivel de Bogotá (Colombia)

Adriana Jiménez* y Claudia Fajardo

Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-Hospital de San José de Bogotá, Colombia

Recibido el 26 de febrero de 2012; aceptado el 19 de septiembre de 2012

PALABRAS CLAVE

Doripenem;
Resistencia;
Pseudomonas aeruginosa

Resumen

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad *in vitro* de doripenem comparado con meropenem frente a aislamientos locales de *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

Materiales y métodos: En el Hospital San José de Bogotá (Colombia), un hospital universitario de 300 camas, se recolectaron entre 2009 y 2011, 83 aislamientos no repetidos de *P. aeruginosa*, en los cuales se determinó la concentración inhibitoria mínima frente a meropenem y doripenem por el método de E-test. Se aplicaron los puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute para carbapenémicos vigentes para 2012

Resultados: La sensibilidad global de los aislamientos de *P. aeruginosa* a meropenem fue del 69% y a doripenem del 75%, siendo la concentración inhibitoria mínima 50 y 90 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de 0,75 y 28,8 para meropenem y de 0,64 y 15,2 para doripenem.

Conclusiones: La concentración inhibitoria mínima frente a doripenem fue menor que la correspondiente a meropenem. Se requiere realizar en el ámbito local estudios de este tipo con el fin de llevar a cabo los ajustes a los protocolos de antibióticos institucionales.

© 2012 ACIN. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Doripenem;
Resistance;
Pseudomonas aeruginosa

In Vitro Activity of Doripenem compared to Meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* isolates at Tertiary Care Teaching Hospital in Bogotá (Colombia)

Abstract

objective: The aim of this study was to evaluate the *in vitro* activity of doripenem compared to meropenem against local isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

Materials and methods: At the San José Hospital in Bogotá-Colombia, a 300-bed teaching hospital, 83 nonduplicate isolates of *P. aeruginosa* were collected between 2009 and 2011. Meropenem and Doripenem Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were determined by the E test method. The 2012 Clinical and Laboratory Standards Institute breakpoints for carbapenems were applied.

*Autor para correspondencia

Hospital de San José-Unidad de Prevención y Control de Infecciones Carrera 10 # 18-75. Bogotá (Colombia)

Tel. 3538000 ext 424. Móvil: 3118118492.

Correo electrónico: ajimenez@hospitaldesanjose.org.co (A. Jiménez)

Results: The global susceptibility of *P. aeruginosa* isolates to meropenem was 69% and to doripenem was 75%, being the CIM 50 and 90 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) of 0.75 and 28.8 for meropenem and of 0.64 and 15.2 for doripenem.

Conclusions: The MIC of doripenem was lower than the corresponding MIC of meropenem. It is required to carry out local studies of this type in order to make adjustments to the institutional antibiotics protocol.

© 2012 ACIN. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Doripenem, el más reciente de la familia de los carbapenémicos, fue aprobado en 2005 en Japón; posteriormente, en el año 2007, recibió la aprobación de la Food and Drug Administration de Estados Unidos, y se introdujo en Colombia en el 2010. Una característica relevante de este carbapenémico es su actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), presentando mayor afinidad por las proteínas de unión a las penicilinas 2 y 3 de esta bacteria en comparación con imipenem; y por otra parte, su actividad como promotor de mutantes resistentes a carbapenémicos *in vitro* es inferior a la del meropenem¹⁻³.

Para desarrollar resistencia frente a doripenem, *P. aeruginosa* debe presentar más de un mecanismo de resistencia, dentro de los que se incluye la pérdida de porinas OprD sumado principalmente a la sobreexpresión de bombas de eflujo MexAB-OprM o, en menor grado, a la sobreproducción de AmpC y la síntesis de carbapenemasas, especialmente las metalobetalactamasas^{4,5}. Un estudio español sobre mecanismos de resistencia a carbapenémicos en *P. aeruginosa* encontró que el porcentaje de aislamientos inhibidos a diferentes concentraciones fue un 20% más alto para doripenem comparado con meropenem, incluso en las cepas en que se documentó la hiperproducción de AmpC y la sobreexpresión de MexB y MexY⁶.

Algunos estudios han evidenciado que *P. aeruginosa* posee una menor concentración inhibitoria mínima (CIM) frente a doripenem comparado con otros carbapenémicos. En uno de los primeros estudios publicados en 1998, Tsuji⁷ encontró en Japón, que en 83 cepas de *P. aeruginosa* sensibles a imipenem, la CIM90 fue de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para doripenem y meropenem y de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para imipenem, mientras que entre los aislamientos resistentes a imipenem, el valor fue de 8, 16 y 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para doripenem, meropenem e imipenem, respectivamente. En Estados Unidos, Brown⁸ publicó en 2005 los resultados de un análisis de 150 cepas de *P. aeruginosa* donde encontró que doripenem fue más potente que imipenem y meropenem, con una CIM90 de 1, 2 y 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. El estudio de Pillar et al.⁹ realizado en Estados Unidos en cepas recolectadas, entre 2005 y 2007, encontró que la CIM90 de *P. aeruginosa* fue de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para doripenem; 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para meropenem y 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para imipenem. Similares resultados encontró el estudio Tracking Resistance in US Today en 2007¹⁰. En Argentina, Nicola et al.¹¹ con 93 cepas de *P. aeruginosa* aisladas en un centro asistencial en el período 2006-2008 encontraron CIM50 y 90 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de 4 y 8 para imipenem; 2 y 8 para meropenem y 2

y 4 para doripenem. Por otra parte, Van Gasse¹², en Bélgica, en un estudio con 76 cepas realizado entre 2007 y 2009, encontró la misma sensibilidad a meropenem (75%) y a doripenem (71%) y la misma CIM 50 (0,5 mg/L), aunque la CIM90 para el doripenem (12 mg/L) fue inferior que la respectiva para meropenem (24 mg/L). En Colombia, como parte del estudio Comparative Activity of Carbapenem Testing (COM-PACT), Villegas et al.¹³ analizaron 124 aislamientos de *P. aeruginosa* recolectadas en 2009 y encontraron que la CIM50 y 90 para doripenem (0,5 y 16) fue inferior a la del imipenem (2 y 64) y la del meropenem (1 y 32).

Debido a que *P. aeruginosa* persiste como un importante agente etiológico de infecciones en pacientes inmunocomprometidos, pacientes hospitalizados en unidades de cuidado intensivo y asociadas al cuidado de la salud, con un aumento en el riesgo de mortalidad, disponer de un carbapenémico con una menor CIM permitiría optimizar los parámetros farmacológicos y aumentar la posibilidad de éxito terapéutico^{14,15}.

El propósito de este estudio es el de evaluar la actividad *in vitro* de doripenem comparado con meropenem frente a aislamientos locales de *P. aeruginosa* mediante la determinación de la CIM por el método de E-test con el fin de aportar la evidencia sobre la actividad de este antibiótico y contribuir en la elaboración de programas de uso racional de antibióticos.

Materiales y métodos

En el Hospital San José de Bogotá, un hospital universitario de 300 camas, se recolectaron, entre 2009 y 2011, 83 aislamientos no repetidos de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes hospitalizados. La CIM se estableció mediante el método de E-test empleando tiras de plástico impregnadas con concentraciones ascendentes de meropenem y doripenem de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (bioMérieux SA, Marcy L'Étoile, Francia). Las categorías de sensible ($\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$), intermedio (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y resistente ($\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL}$) se establecieron empleando los recién establecidos puntos de corte para el doripenem y meropenem determinados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012¹⁶; a los porcentajes correspondientes a estas categorías se les aplicó la prueba estadística para la diferencia de proporciones pareadas empleando el programa estadístico Stats Direct versión 2.7.8.

Como control de calidad, se empleó la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Tabla 1 Porcentaje de sensibilidad

Antibiótico	Meropenem	Doripenem	Valor p
Sensible	68,6%	74,6%	0,0625
Intermedio	9,6%	10,8%	> 0,9999
Resistente	21,6%	14,4%	0,0313

Tabla 2 CIM 50 y 90 para meropenem y doripenem por tipo de muestra.

MUESTRA	Meropenem		Doripenem	
	CIM50	CIM90	CIM50	CIM90
Respiratorio	3	32	1,5	32
Orinas	0,8	4,6	0,7	3,0
Heridas	0,8	13,6	0,5	9,6
Sangre	1,1	29,2	0,75	14,6
Peritoneal	0,75	16	0,5	6,0

Resultados

Se analizaron 83 aislamientos no repetidos de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes hospitalizados con las siguientes muestras: vía respiratoria (n = 19), orina (n = 18), tejidos blandos (n = 17), sangre (n = 13), abdomen (n = 11), otras (n = 5).

En 57 aislamientos, la CIM al meropenem fue $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ frente a 62 aislamientos con CIM $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ al doripenem, lo que se traduce en una sensibilidad respectiva de 69 y 75%. En la tabla 1 se presenta el porcentaje de aislamientos sensibles, intermedios y resistentes para cada antibiótico.

En relación con la diferencia observada en la CIM, en el 31% de las cepas no hubo diferencia; en el 48%, la CIM a doripenem fue menor que a meropenem (diferencia promedio de 1,9 diluciones); en el 10%, la CIM a meropenem fue menor que a doripenem (diferencia promedio de 0,36 diluciones), y en el 11% no se pudo establecer la diferencia debido a que la CIM para ambos antibióticos fue mayor a 32. En la figura 1 se detalla la distribución de la CIM para doripenem y meropenem.

La CIM50 y 90 ($\mu\text{g/mL}$) se estableció en 0,75 y 28,8 para meropenem y 0,64 y 15,2 para doripenem. La CIM50 y 90 de los aislamientos provenientes de orina, heridas, sangre y líquidos peritoneales fueron inferiores en el caso de doripenem, observándose la mayor diferencia en el último tipo de muestra, donde la CIM90 fue de 16 $\mu\text{g/mL}$ para meropenem y de 6 $\mu\text{g/mL}$ para doripenem. En cuanto a los aislamientos respiratorios, la CIM90 para los 2 antibióticos

fue la misma, pero la CIM50 fue inferior para doripenem. En la tabla 2 se muestra la CIM50 y 90 detalladas por tipo de muestra.

Discusión

La sensibilidad de *P. aeruginosa* a doripenem fue superior a la de meropenem (75 vs. 69%), diferencia que alcanzó la significancia estadística. El 39% de los aislamientos resistentes a meropenem tuvieron una sensibilidad intermedia a doripenem, y el 62% de las cepas con sensibilidad intermedia a meropenem fueron sensibles a doripenem, lo que podría ser explicado por la mayor estabilidad de este último antibiótico frente a la acción del cierre de porinas tipo OprD en adición a la producción de lactamasas AmpC.

En el 48% de los aislamientos, la CIM a doripenem fue inferior a meropenem, con un promedio cercano a 2 diluciones. Esta diferencia podría constituir un factor protector para la selección de mutantes resistentes, ya que estudios previos han demostrado que la probabilidad de que ocurra este fenómeno es menor cuando la *P. aeruginosa* se expone a concentraciones de doripenem mayores o iguales a 4 veces la CIM en comparación con otros carbapenémicos⁴.

La mayor sensibilidad y menor CIM a doripenem encontradas en este estudio son similares a las encontradas en diferentes latitudes como parte del estudio COMPACT; este estudio, financiado por Janssen Cilag, ha comparado la actividad *in vitro* de los carbapenémicos frente a diferentes microorganismos por el método de E-test y se ha realizado desde el año 2008. Una primera fase se desarrolló en Francia, Alemania Irlanda y Reino Unido, y una segunda fase en España, Portugal, Italia, Chequia, Letonia, Grecia, Rusia, Egipto, Turquía y otros países de Latinoamérica (Colombia, Brasil) y Asia. En ambas fases, la CIM90 de doripenem para el conjunto de microorganismos estudiados fue inferior en comparación con meropenem e imipenem¹⁷.

La resistencia de *P. aeruginosa* a los carbapenémicos es un evento emergente, principalmente en Latinoamérica; la sensibilidad a doripenem en Norteamérica es mayor que en Latinoamérica (84,9 y 67,2% con punto de corte $\leq 2 \mu\text{g/mL}$)¹⁸.

En Latinoamérica, diferentes trabajos demuestran que la CIM *in vitro* de la *Pseudomonas* a doripenem es menor en comparación con meropenem o imipenem. Uno de los estudios que ha analizado un mayor número de cepas en la región es el INVITA-A-DORI, realizado en Brasil entre 2008 y 2009, el cual analizó 214 cepas de *Pseudomonas* y estableció la sensibilidad a los carbapenémicos en tan solo 40%, y la CIM50 a doripenem y meropenem en 8 $\mu\text{g/mL}$; sin embargo, doripenem inhibió más cepas a una CIM $\leq 4 \mu\text{g/mL}$ que meropenem o imipenem¹⁹. Los estudios previamente mencionados de Villegas en Colombia y Nicola en Argentina

	Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/mL}$)																					
	0,06	0,09	0,13	0,19	0,25	0,38	0,5	0,06	0,75	0,94	1	1,5	2	2,5	3	4	6	8	12	16	> 32	
Procalcitonina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Meropenem	0	4	10	2	11	2	6	0	12	2	0	7	1	0	4	2	2	2	4	3	9	
Doripenem	5	4	9	6	7	2	8	1	7	1	1	5	6	1	3	3	2	1	2	1	8	
Sensible	Intermedio		Resistente																			

Figura 1 Distribución de la concentración inhibitoria mínima para doripenem y meropenem por número de aislamientos.

también encontraron una CIM90 inferior para doripenem. Estos resultados darían a doripenem una ventaja desde el punto de vista farmacológico que debería considerarse al elegir un antipseudomonal, pero teniendo en cuenta que la dosis estándar de 500 mg IV c/8 h, incluso en infusión prolongada de 4 h, sería ineficiente para alcanzar el parámetro farmacológico con cepas con CIM > 4 µg/mL según lo establecido en modelos de simulación de Monte Carlo²⁰.

Este estudio tiene como limitante que la CIM no se estableció por el método de referencia de microdilución en caldo (MDC), debido a dificultades técnicas en la obtención del antibiótico puro; sin embargo, los 2 métodos parecen tener una adecuada concordancia. En un estudio que comparó el método de MDC con E-test para evaluar la sensibilidad *in vitro* de *Pseudomonas* a doripenem, se encontró la misma CIM90, idéntica CIM en 45% de los aislamientos, 1,25% de errores mayores (aislamientos catalogados como sensibles por MDC y como no sensibles por E-test) y ningún error muy mayor (aislamientos catalogados como no sensibles por MDC y como sensibles por E-test); el porcentaje de concordancia fue del 100% (permitiendo una diferencia de una dilución)²¹.

Debido a la limitación que tienen los equipos automatizados en el número de diluciones para determinar la CIM a los carbapenémicos, el método de E-test permite establecer la verdadera CIM y actualizar los puntos de corte vigentes establecidos por CLSI. Para su realización, este método requiere personal de microbiología especializado con el fin de disminuir errores operador dependiente, pero es factible que lo lleven acabo la mayoría de laboratorios de microbiología.

Según nuestros conocimientos, este es el primer estudio publicado en Colombia que evalúa la actividad *in vitro* de doripenem empleando los puntos de corte recién establecidos para este antibiótico por el CLSI, ya que en el pasado, solo se aplicaban los de la Food and Drug Administration para doripenem y los de CLSI para el resto de los carbapenémicos. Debido a la creciente evidencia que ubica a doripenem como un potente antipseudomonal, es importante ejecutar estudios similares en otros centros asistenciales con el fin de establecer frente a cuál de los carbapenémicos la *P. aeruginosa* presenta la menor CIM, y realizar los cálculos de los parámetros de farmacodinamia para contribuir a la escogencia del antibiótico que ofrezca la mayor ventaja desde el punto de vista farmacológico y ajustar los protocolos de antibioticoterapia basados en los propios perfiles de sensibilidad.

Financiación

Este estudio fue financiado por la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud.

Conflicto de intereses

1) Las tiras para E-test de doripenem y meropenem fueron suministradas por laboratorios Janssen-Cilag S.A al laboratorio de microbiología del Hospital San José como apoyo a la actividad asistencial. Estas tiras las suministra laboratorios Janssen-Cilag S.A a varias instituciones del país.

2) El presente estudio fue realizado con anterioridad a que los investigadores participaran en el estudio COMPACT. Los aislamientos de *Pseudomonas* sujetos del estudio enviado a ustedes no forman parte de las cepas enviadas al estudio COMPACT.

3) El estudio COMPACT sí es un estudio patrocinado y diseñado por laboratorios Janssen.

4) La participación del Hospital San José y de los investigadores en el COMPACT ya finalizó.

Agradecimientos

A Janssen Cilag por suministrar las tiras de doripenem y meropenem para la realización del E-test.

Bibliografía

- Davies TA, Shang W, Bush K, Flamm RK. Affinity of doripenem and comparators to penicillin-binding proteins in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1510-2.
- Paterson DL, Depestel DD. Doripenem. *Clin Infect Dis*. 2009;49:291-8.
- Sakyo S, Tomita H, Tanimoto K, Fujimoto S, Ike Y. Potency of carbapenems for the prevention of carbapenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*: the high potency of a new carbapenem doripenem. *J Antibiot (Tokyo)*. 2006;59:220-8.
- Mushtaq S, Ge Y, Livermore DM. Doripenem versus *Pseudomonas aeruginosa in vitro*: activity against characterized isolates, mutants, and transconjugants and resistance selection potential. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3086-92.
- Quale J, Bratu S, Gupta J, Landman D. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:1633-41.
- Riera E, Cabot G, Mulet X, García-Castillo M, Del Campo R, Juan C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2022-7.
- Tsuji M, Ishii Y, Ohno A, Miyazaki S, Yamaguchi K. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of S-4661, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:94-9.
- Brown SD, Traczewski MM. Comparative *in vitro* antimicrobial activity of a new carbapenem, doripenem: tentative disc diffusion criteria and quality control. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:944-9.
- Pillar CM, Aranza-Torres MK, Shah D, Sahn DF. Analysis of doripenem activity, relative to other carbapenems, against target gram-negative pathogens isolated from specific infection sites [poster E-262]. En: Program and abstracts of the 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago). Washington, DC: American Society for Microbiology; 2007.
- Sahn D. *In vitro* activity of doripenem. *Clin Infect Dis*. 2009;49 Suppl 1:S11-6.
- Nicola F, García Ramírez D, Arduino S, Di Chiara M, Smayevsky J. *In vitro* activity of doripenem and other carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Argent Microbiol*. 2010;42:193-8.
- Van Gasse N, Vermeiren S, Jeurissen A. Comparison of the *in vitro* activity of meropenem and doripenem against *Pseudomonas aeruginosa* and multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Acta Clin Belg*. 2010;65:451.
- Villegas MV, Briceño DF, Ruiz SJ, Furtado GH, Nicolau DP. Assessing the pharmacodynamic profile of intravenous antibiotics against prevalent Gram-negative organisms collected in Colombia. *Braz J Infect Dis*. 2011;15:413-9.

14. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis*. 2005;18:306-13.
15. Ikawa K, Morikawa N, Uehara S, Monden K, Yamada Y, Honda N, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic target attainment analysis of doripenem in infected patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:276-9.
16. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty second Informational Supplement M100-S22. 2012.
17. Gimeno C, Cantón R, García A, Gobernado M; Grupo Español de Estudio de Doripenem. Actividad comparativa de doripenem, meropenem e imipenem en aislados recientes obtenidos durante el estudio de vigilancia epidemiológica COMPACT-España. *Rev Esp Quimioter*. 2010;23:144-52.
18. Castanheira M, Jones RN, Livermore DM. Antimicrobial activities of doripenem and other carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*, other nonfermentative bacilli, and *Aeromonas spp*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;63:426-33.
19. Gales AC, Azevedo HD, Cereda RF, Girardello R, Xavier DE; INVITA-A-DORI Brazilian Study Group. Antimicrobial activity of doripenem against Gram-negative pathogens: results from INVITA-A-DORI Brazilian study. *Braz J Infect Dis*. 2011;15:513-20.
20. Ikawa K, Morikawa N, Ikeda K, Ohge H, Sueda T. Pharmacodynamic assessment of doripenem in peritoneal fluid against Gram-negative organisms: use of population pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62:292-7.
21. Amsler K, Santoro C, Foleno B, Bush K, Flamm R. Comparison of Broth Microdilution, Agar Dilution, and Etest for Susceptibility Testing of Doripenem against Gram-Negative and Gram-Positive Pathogens. *J Clin Microbiol*. 2010;48:9 3353-7.