

## ***Proteus penneri***

Rafael Cantón<sup>1</sup> y M<sup>a</sup> Paz Sánchez Moreno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid; <sup>2</sup>Unidad de Microbiología. Laboratorio de Salud Pública. Ayuntamiento de Madrid

*Proteus penneri*, denominado con anterioridad como *Proteus vulgaris* biogrupo 1 o como *P. vulgaris* indol-negativo, fue reconocido como una especie nueva en 1982. Tradicionalmente, se ha considerado como un representante menor del género *Proteus* debido a su escasa incidencia epidemiológica. No obstante, se asocia a procesos similares a los que producen *Proteus mirabilis* o *P. vulgaris* y tiene factores de patogenicidad análogos a los de éstos. Desde el punto de vista de la resistencia a los antimicrobianos, presenta unas características particulares que, unido a algunas peculiaridades en sus perfiles bioquímicos, le hacen fácilmente reconocible en el laboratorio de microbiología.

### **TAXONOMÍA DEL GÉNERO *Proteus***

El género *Proteus* forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*. El Bergey's Manual of Determinative Bacteriology define este género como bacilos gramnegativos, móviles, con flagelos peritricos, aerobios y facultativos anaerobios. Tradicionalmente a este género se le ha encuadrado en la tribu *Proteae* que incluye también a los géneros *Providencia* y *Morganella*. Todos ellos se caracterizan por su capacidad para desaminar la fenilalanina transformándola en ácido fenilpirúvico debido a la producción de fenilalanina desaminasa, hidrolizar la tirosina, desdoblar en casi todos los casos la urea y ser resistentes a la colistina. En la tabla 1 aparecen reflejadas las diferentes especies de este género y las pruebas bioquímicas que les caracterizan. Dentro de este género, también se encuadran otras tres especies, denominadas como genomoespecies, diferenciadas por técnicas de biología molecular y que aún carecen de un nombre. Asimismo, se incluyen las diferentes especies y subespecies de los géneros *Providencia* y *Morganella*. La separación de *P. penneri* de *P. vulgaris* se propuso en el año 1982 por estudios de homología de secuencia de DNA.

Al igual que en el caso de *P. mirabilis* y *P. vulgaris*, se ha establecido una clasificación epidemiológica de los aislados clínicos de *P. penneri*, utilizando antisueros frente a antígenos somáticos O (lipopolisacárido). También se han desarrollado sistemas de tipificación utilizando proteínas de membrana, el ribotipado y técnicas de PCR (rep-PCR y RAPD-PCR), que han demostrado una estructura poblacional con una elevada diversidad.

### **MICROBIOLOGÍA E IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE *Proteus penneri***

El reconocimiento inicial en las placas de cultivo de los microorganismos adscritos al género *Proteus* es relativamente sencillo, ya que se caracterizan por su crecimiento en ondas en la superficie del agar, bien formado círculos concéntricos a partir de un botón de inoculación o con una película uniforme. Este efecto se conoce como *swarming*. Esta característica es debida a cambios en los procesos de elongación durante la división celular, formándose células alargadas no septadas y a la hiperexpresión de la síntesis de flagelina, que determina un recubrimiento profuso de las células de estos microorganismos por flagelos. Estos procesos se producen para conseguir una mejor adaptación de los integrantes del género *Proteus* a los diferentes microambientes en los que se desarrollan. Esta característica se pierde en medios deficientes en electrolitos, como el medio de CLED, con concentraciones subinhibitorias de diferentes alcoholes, como el medio PEA (*phenyl-ethyl alcohol agar*, habitualmente utilizado en la búsqueda de microorganismos anaerobios)

o añadiendo mayor cantidad de agar a los medios de cultivo. La propiedad de producir *swarming* es común a todas las especies del género *Proteus*, aunque en algunas cepas de *P. penneri* está disminuida, siendo necesario reducir la concentración de agar del medio para que se manifieste. Muchos medios cromogénicos actuales, utilizados para la siembra de orinas, están diseñados para evitar este crecimiento en ondas en las placas de cultivo. Algunos de ellos requieren la realización posterior de pruebas adicionales para la diferenciación de las especies con resultado positivo en la prueba del indol, de aquellos que presentan un resultado negativo.

*Proteus penneri* es indistinguible en los medios de cultivo habituales de *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. En medio de agar sangre presenta el típico crecimiento en ondas, en ocasiones menos acentuado, y colonias lactosa negativa planas con bordes irregulares en medio de McConkey. Al igual que los anteriores, tiene un olor característico y, como *P. vulgaris*, es capaz de producir indol a partir del triptófano. No obstante, puede diferenciarse de éste por su negatividad en las pruebas de la ornitina decarboxilasa y su imposibilidad para utilizar la maltosa (tabla 1). *P. penneri* también se caracteriza por su negatividad en la utilización de la salicina y la esculina. Algunos autores han señalado que, tras una incubación prolongada de tres días de los caldos utilizados para la prueba de indol, se produce un color verde característico al revelarlo con el reactivo de Kovacs y no el color rojo habitual.

En algunos sistemas de identificación que no utilizan inicialmente la prueba del indol para diferenciar las distintas enterobacterias, puede producirse una falsa identificación de *P. penneri* como *P. mirabilis*. En estos casos, puede también utilizarse como criterio diferenciador el fenotipo de sensibilidad a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. *Proteus penneri* es naturalmente resistente a la amoxicilina y la cefuroxima, mientras que *P. mirabilis* puede ser sensible o resistente a la amoxicilina pero habitualmente sensible a la cefuroxima [con la excepción de las cepas que producen  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)].

En general la eficiencia en la identificación del género *Proteus* que realizan los sistemas comerciales automáticos y las galerías de identificación, habitualmente utilizadas en los laboratorios de microbiología, es superior al 95% cuando se considera el género en su conjunto. No hay descritos problemas específicos asociados a *P. penneri* que no sean los reseñados con anterioridad. Tan sólo se describen problemas importantes con *Proteus hauseri*, extremadamente infrecuente en el laboratorio de Microbiología Clínica. Este último estaba anteriormente encuadrado como un subgrupo de *P. vulgaris*, aunque puede diferenciarse fenotípicamente de éste por su resultado negativo en la utilización de salicina o esculina. Con otros microorganismos cercanos, *Morganella* y *Providencia*, la eficiencia en la identificación puede ser inferior al 80%, sobre todo cuando se consideran las especies más infrecuentes en el laboratorio.

El género *Proteus* está ampliamente difundido en la naturaleza y forma parte de la microbiota intestinal. Se ha aislado en muestras ambientales, incluyendo tierras, abonos y aguas contaminadas, y en una gran variedad de muestras de animales. *Proteus myxofaciens* sólo ha sido aislado en insectos. Entre todas las especies que pertenecen a este género es sin duda *P. mirabilis* la especie más común, seguido de *P. vulgaris*. En la tabla 2 se indica el número de aislados obtenidos de las especies que pertenecen al género *Proteus* en el Hospital Universitario Ramón y Cajal durante los años 2003 y 2004 y su aislamiento en los diferentes tipos de muestras.

*Proteus penneri* ha sido aislado mayoritariamente en muestras del tracto urinario y se ha asociado a infecciones urinarias no complicadas, a pielonefritis aguda y cuadros de urolitiasis. Aunque *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* se aíslan con mayor frecuencia en muestras de heces de pacientes con gastroenteritis que en individuos sin esta complicación,

su papel patogénico a este nivel es incierto. De entre todos los microorganismos relacionados, sólo ha sido sugerida la implicación de *Providencia alcalifaciens* en cuadros de diarrea. En ensayos de cultivos celulares este microorganismo tiene capacidad para invadir las células, así como la de producir cuadros de diarrea en animales de experimentación. Con *P. penneri* no se han realizado estos estudios.

*Proteus penneri* también se ha relacionado con las infecciones nosocomiales, sobre todo en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos o con factores de riesgo como diabetes o inmunosupresión. En estos casos se ha aislado de orina, muestras respiratorias, incluyendo secreciones de aspiraciones bronquiales y lavados broncoalveolares, muestras del sistema nervioso central, piel y tejidos blandos, heridas quirúrgicas y en pacientes quemados. En muchas ocasiones forma parte de cultivos mixtos, sobre todo en abscesos abdominales. También se ha aislado de muestras de sangre obtenidas por punción venosa y a través de catéteres.

**Tabla 2. Número de aislados de especies del género *Proteus* y distribución por muestras en el Hospital Universitario Ramón y Cajal (años 2003 y 2004).**

Muestras	<i>P. mirabilis</i> (n=1343)	<i>P. vulgaris</i> (n=129)	<i>P. penneri</i> (n=7)
Clínicas			
Orina	907 (67,5%)	60 (46,5%)	3 (42,8%)
Exudado de heridas, piel y tejidos	256 (19,1%)	31 (24,0%)	1 (14,3%)
Muestras respiratorias	67 (4,9%)	14 (10,8%)	0
Sangre	45 (3,3%)	5 (3,9%)	2 (28,6%)
Catéter	12 (0,9%)	2 (1,5%)	0
Otras muestras clínicas	38 (2,8%)	10 (7,7%)	0
Ambientales	18 (1,3%)	7 (5,4%)	1 (14,2%)

## PATOGENICIDAD

La última edición del Manual de Microbiología Clínica de la Sociedad Americana de Microbiología (octava edición) adjudica a *P. penneri* una significación patogénica con valor 1 (patógeno reconocido para el hombre) de entre tres categorías diferentes. La categoría 2 indica patogenicidad probada en contadas ocasiones y la 3 indica que el microorganismo se ha aislado en humanos pero con significación incierta. En la categoría 1 también se incluye otras especies del género *Proteus* como *P. mirabilis* y *P. vulgaris* mientras que en la categoría 3 se destaca *Providencia heimbachae* y *Providencia rustigianii*, generalmente aislados en heces de animales y en el hombre. Esta significación patogénica es diferente de la frecuencia con la que se aíslan en las muestras clínicas que se procesan en los laboratorios de microbiología (tabla 2).

La patogenicidad de *P. penneri* se asimila a la de *P. mirabilis* o *P. vulgaris* y se asocia a la presencia de fimbrias, flagelos, proteínas de membrana externa específicas, lipopolisacárido, enzimas proteolíticas, incluyendo gelatinasas y proteasas, hemolisinas y sobre todo a la producción de ureasa. En la tabla 3 se indican los diferentes factores de patogenicidad asociados a *P. penneri* y su contribución a la virulencia. La mayoría están presentes en el resto de las especies del género *Proteus*.

- La producción de fimbrias en *P. penneri* le permiten persistir en el tracto urinario sin ser eliminado eficazmente por los sistemas de defensa. Sus fimbrias son algo diferentes de las que se encuentran en *P. mirabilis*. En el primero se asocian con su capacidad de adherencia a células de los glomérulos y membranas tubulares en el riñón y a materiales

plásticos propios de los catéteres. Esta última propiedad también la presenta *P. stuartii*. Las fimbrias de *P. mirabilis* se asocian con su adherencia al epitelio que recubre el trato urinario superior y la colonización de la vejiga urinaria.

- La producción de ureasa por parte de las especies del género *Proteus* es considerada como de gran importancia para su patogenicidad y se relaciona con procesos de urolitiasis infectiva o cistitis alcalina incrustante, en los que aparecen sedimentos urinarios asociados a cálculos de estruvita. La ureasa es capaz de desdoblar eficazmente la urea presente en la orina y producir la alcalinización de la misma por producción de hidróxido amónico. Con la alcalinización precipitan  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  que habitualmente son solubles a pH fisiológico urinario. Como consecuencia de ello se producen los cálculos de estruvita ( $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ ). La presencia de exopolisacáridos en la orina y la posibilidad de crecimiento en biopelículas (biofilms) facilita los procesos de nucleación de los cálculos. Aunque este efecto se ha asociado mayoritariamente a *P. mirabilis*, también se ha observado con *P. vulgaris* y *P. penneri*. En estudios de caracterización de proteínas se ha demostrado que la ureasa de *P. penneri* es similar desde el punto de vista funcional a la del resto de las especies que integran el género *Proteus*, pero puede diferenciarse bioquímicamente de la del resto de especies de *Proteus* y de la presente en las cepas de *Morganella* o *Providencia* que producen esta enzima. En modelos *in vitro*, se ha confirmado que su expresión puede inducirse por la presencia de urea, a diferencia de la de *P. mirabilis* cuya producción es constitutiva. También en modelos *in vitro*, se ha demostrado que la ureasa de *P. penneri* participa en la formación de los cálculos de estruvita y que su actividad ureásica es inhibida por el ácido acetohidroxámico.

**Tabla 3. Factores de virulencia asociados a *Proteus penneri*.**

<b>Factor de virulencia</b>	<b>Contribución a la patogenicidad</b>
Fimbrias	Adherencia a tejidos y material protésico
Flagelos	Movilidad ascendente desde el uréter al riñón
Ureasa	Desdoblamiento de la urea Alcalinización del pH de la orina Formación de cálculos de estruvita Citotoxicidad
Proteasas	Proteasas de IgA
Desaminasas	Producción de $\alpha$ -cetoácidos que actúan como sideróforos
Invasividad	Internalización en células del hospedador
Hemolisinas	Adherencia e invasión celular Citotoxicidad
Polisacárido capsular	Formación de <i>biofilms</i> Nucleación de cálculos
Lipopolisacárido	Endotoxicidad. Resistencia al suero

- Se ha destacado la capacidad de *P. penneri* de producir proteasas de IgA como factor coadyuvante en su patogenicidad en el tracto urinario. También la producción de ureasa facilita la alcalización de la orina y las condiciones adecuadas para la actuación de la proteasa de IgA.
- A diferencia de otros miembros del género, *P. penneri* produce al menos dos hemolisinas de codificación cromosómica que se relacionan parcialmente con las de *Escherichia coli* y *P. mirabilis* y facilitan la adherencia a los tejidos del tracto urinario. Parte de la hemolisina permanece ligada a la célula bacteriana, mientras que otra es eliminada al exterior. Curiosamente, parte de la hemolisina liberada puede degradarse por la proteasa de IgA del mismo microorganismo. Este hecho estaría relacionado con un proceso de

eliminación o regulación fisiológica. En ensayos *in vitro* se ha demostrado que la capacidad de invasión celular que demuestra *P. penneri* también depende de la producción de hemolisinas y del efecto citotóxico asociado.

- Se ha demostrado que *P. penneri* también produce sideróforos, sustancias capaces de secuestrar iones Fe, esenciales para la supervivencia metabólica de las bacterias.

## SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA

*Proteus penneri*, al igual que *P. vulgaris*, es intrínsecamente resistente a la amoxicilina y a las cefalosporinas de espectro reducido, siendo característica su resistencia a la cefuroxima. Este perfil de sensibilidad es debido esencialmente a la producción de una  $\beta$ -lactamasa denominada HugA similar a la  $\beta$ -lactamasa CumA de *P. vulgaris*. Por la resistencia que confieren a la cefuroxima, es frecuente referirse a ellas como cefuroximasas. HugA y CumA son penicilinasas cromosómicas de clase A (con centro activo de serina), que se inhiben por el ácido clavulánico y que se incluyen en el grupo 2e de la clasificación de  $\beta$ -lactamasas de Bush, Jacoby y Medeiros publicada en el año 1995. En este grupo también se integran la  $\beta$ -lactamasa de *Citrobacter koseri*. Desde el punto de vista fenotípico e hidrolítico, este grupo se encuentra cercano a las  $\beta$ -lactamasas de *Klebsiella oxytoca* ( $\beta$ -lactamasas K1) del grupo 2be, en el que también se encuadran las BLEE. Las  $\beta$ -lactamasas HugA, CumA, K1 y la de *C. koseri* tienen un perfil hidrolítico amplio que incluye las penicilinas, cefuroxima, ceftriaxona y cefotaxima, pero no la ceftazidima, cefamicinas (cefotixitina) y carbapenemas.

La  $\beta$ -lactamasa HugA de *P. penneri* tiene una homología relativamente elevada (86%) con la  $\beta$ -lactamasa CumA de *P. vulgaris*. A diferencia de esta última, que tiene un punto isoeléctrico (pI) de 8,3, el pI de HugA es de 6,7. El gen *hugA* está sometido a una regulación post-transcripcional en la que participa el gen *hugR*, muy similar a como actúa *ampD* con *ampC* (gen responsable de la producción de la  $\beta$ -lactamasa cromosómica AmpC) en *Enterobacter cloacae* o *cumR* con *cumA* en *P. vulgaris*. Este hecho diferencia, desde el punto de vista fenotípico, a *P. penneri* y *P. vulgaris* de *P. mirabilis*.

Debemos recordar que *P. mirabilis* no sintetiza de manera natural  $\beta$ -lactamasas cromosómicas (AmpC o similares) y que el fenotipo salvaje habitual es la sensibilidad a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. De manera característica, y debido a una baja permeabilidad asociada a su dotación particular de porinas, se pierde sensibilidad a los carbapenemas, esencialmente al imipenem (tabla 4). En *P. mirabilis*, la resistencia a la amoxicilina con sensibilidad a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico y a las cefalosporinas se debe a la presencia de penicilinasas plasmídicas, generalmente TEM-1. En esta especie la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima) al aztreonam y a la cefepima se produce por BLEE.

En *P. penneri* el fenotipo salvaje es superponible al de *P. vulgaris* (Tabla 4) y se caracteriza por la resistencia a la amoxicilina y las cefalosporinas de primera y segunda generación, la sensibilidad reducida a acil-ureido y carboxi-penicilinas (carbenicilina, ticarcilina y piperacilina) y la sensibilidad a la asociación de amoxicilina y ácido clavulánico, a las cefamicinas (cefotixitina), las cefalosporinas de amplio espectro, incluyendo cefepima, y al aztreonam. La ligera elevación de los valores de CMI de imipenem observado en *P. mirabilis* es mucho menos marcada. En *P. penneri* y *P. vulgaris* es frecuente la adquisición de penicilinasas plasmídicas, esencialmente TEM-1, TEM-2 y SHV-1. En este caso el fenotipo de sensibilidad es prácticamente indistinguible del fenotipo salvaje, aunque una mayor producción de  $\beta$ -lactamasa puede hacer disminuir la eficacia del ácido clavulánico y

por tanto, elevar los valores de CMI de esta asociación. También se produce una mayor resistencia a acil-ureido y carboxi-penicilinas.

En *P. penneri* y *P. vulgaris*, debido a mutaciones en los genes reguladores, se ha descrito la desrepresión de las  $\beta$ -lactamasas HugA y CumA, respectivamente. Con la desrepresión, se confiere resistencia a la cefotaxima y la ceftriaxona pero no a la ceftazidima, cefepima o el aztreonam, aunque se produce una ligera pérdida de sensibilidad. Este perfil es muy similar al que confieren las BLEE de tipo CTX-M (o cefotaximasas). Esta superposición fenotípica es clara en la clásica prueba de doble difusión con discos para la detección de BLEE que hacen a ambos fenotipos indistinguibles. La resistencia de *P. penneri* a la cefotaxima o ceftriaxona revierte con el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. La frecuencia de cepas de *P. penneri* con desrepresión es baja, por lo que ante un aislamiento con sensibilidad disminuida a la cefotaxima, se debe excluir la presencia de BLEE. En este caso, puede recurrirse a ensayos de transferencia de la resistencia, determinación del punto isoeléctrico o a métodos genéticos.

La desrepresión *in vitro* de las  $\beta$ -lactamasas de *P. penneri* es fácil de obtener. No obstante, su observación *in vivo* es ocasional, aunque es de resaltar que se han descrito casos producidos durante el tratamiento con ceftriaxona. En la tabla 5 se indican los valores que se obtuvieron en la cepa aislada de LCR de un paciente con una meningitis posquirúrgica y los que se obtuvieron con posterioridad al tratamiento con ceftriaxona. Por ello se desaconseja el tratamiento de las infecciones por *P. penneri* con cefotaxima o ceftriaxona, siendo una mejor opción terapéutica, al menos al nivel teórico, la ceftazidima. Por el momento, la presencia de BLEE en *P. penneri* es excepcional aunque su hipotético perfil de sensibilidad añadiría resistencia a la ceftazidima y cefepima, sobre todo en los casos de BLEE de tipo TEM y SHV, a la que se produce a cefotaxima y ceftriaxona por desrepresión de HugA.

**Tabla 5. Valores de CMI de dos aislados isogénicos de *P. penneri* obtenidos antes (S29) y después del tratamiento (R15) de un paciente con meningitis con ceftriaxona<sup>a, b</sup>.**

Antimicrobiano	Aislado	
	S29	R15
Ampicilina	256*	256
Piperacilina	2	128
Piperacilina-tazobactam	0,5	2
Cefalotina	256	256
Cefuroxima	256	256
Cefoxitina	8	8
Ceftriaxona	0,125	64
Cefotaxima	0,25	16
Ceftazidima	0,125	2
Cefpiroma	0,25	32
Cefepima	0,125	2
Imipenem	0,25	1
Meropenem	0,06	0,125

<sup>a</sup>CMI en  $\mu\text{g/ml}$ .

<sup>b</sup>Tomado de Liassine *et al.*

El fenómeno de la inducción, aumento de la producción de enzima por presencia de antibiótico  $\beta$ -lactámico en el medio, también ha sido descrito en *P. penneri*. La ampicilina, amoxicilina y cefalosporinas de espectro reducido se comportan como inductores débiles

frente a las  $\beta$ -lactamasa HugA y son inactivas tanto sobre cepas con expresión inducible como con expresión desreprimida de estas enzimas. Las ureido y carboxi-penicilinas, cefotaxima y ceftriaxona actúan como inductores fuertes y son activas sobre cepas inducidas pero no sobre los mutantes desreprimidos. Al contrario que en *E. cloacae* y *Citrobacter freundii*, los mutantes desreprimidos mantienen la sensibilidad a la ceftazidima, aztreonam (aunque se produce un ligero aumento de los valores de CMI) y cefoxitina.

En resumen, podemos decir que el perfil de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en *P. penneri* y *P. vulgaris* es tan característico que puede utilizarse como control de la identificación realizada con los sistemas automáticos que ofrecen simultáneamente la identidad del microorganismo estudiado y su sensibilidad a los antimicrobianos. Este perfil se emplea como ejemplo típico en el proceso de lectura interpretada del antibiograma.

*Proteus penneri*, al igual que el resto de los integrantes del género *Proteus*, es resistente a la colistina y a las tetraciclinas. El primer caso está relacionado con la presencia de un LPS característico con gran cantidad de grupos 4-amino-L-arabinosa que reducen su afinidad por los antibióticos polipeptídicos. Con ello se impide el desplazamiento de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  del LPS, la desorganización de las membranas externas e internas de la pared de la bacteria y la muerte celular. Otras enterobacterias con resistencia similar a la colistina son *Providencia*, *Morganella*, *Serratia* y *Cedecea*.

El género *Proteus* tiene resistencia natural a las tetraciclinas. Se han caracterizado diversos mecanismos responsables de la resistencia. Uno de ellos, TetJ, participa en mecanismos de expulsión. El gen asociado es cromosómico y su expresión inducible por la presencia de tetraciclinas, aunque también se han descrito mecanismos de expulsión con expresión constitutiva. Asimismo, se ha detectado resistencia transferible asociada a plásmidos. El sistema de transporte AcrAB también se asocia a la resistencia intrínseca de algunas especies del género *Proteus* a las tetraciclinas y a la pérdida de sensibilidad frente a las gliciliclinas (tigeciclina).

*Proteus penneri* es resistente al cloranfenicol, aunque pueden existir discrepancias en los resultados de sensibilidad según el método utilizado para su estudio. Con un disco de 30  $\mu\text{g}$  suele producir halos de inhibición de menos de 14 mm. En algunos casos se ha demostrado que esta resistencia es plasmídica al igual que la resistencia a las sulfonamidas.

La resistencia a los aminoglucósidos en *P. penneri* no difiere de la encontrada en *P. mirabilis* y es debida mayoritariamente a enzimas modificantes de aminoglucósidos. Recientemente, y de modo similar a lo que ocurre con otros patógenos urinarios, la resistencia a las quinolonas está incrementándose, aunque no alcanza cifras tan alarmantes como en *E. coli*. El mecanismo de resistencia es debido a mutaciones simples o dobles en las subunidades de topoisomerasas *gyrA* y *parC*. Al contrario de lo que sucede habitualmente en *E. coli*, existen trabajos que demuestran un alto número de aislamientos con mutaciones simples y dobles en *gyrB* y la inserción de nucleótidos que confieren resistencia a las quinolonas. En la figura 1 se indica comparativamente el porcentaje de aislamientos de *P. mirabilis*, *P. vulgaris* y *P. penneri* resistentes a diversos antimicrobianos obtenidos en el Hospital Universitario Ramón y Cajal durante los años 2003 y 2004.

Por último, los microorganismos integrantes del género *Proteus* deben ser considerados resistentes a la nitrofurantoína con independencia del valor de la CMI obtenido en las pruebas de sensibilidad. La producción de ureasa por estos microorganismos provoca la alcalinización de la orina. A pH alcalino, la nitrofurantoína pierde actividad antibacteriana.

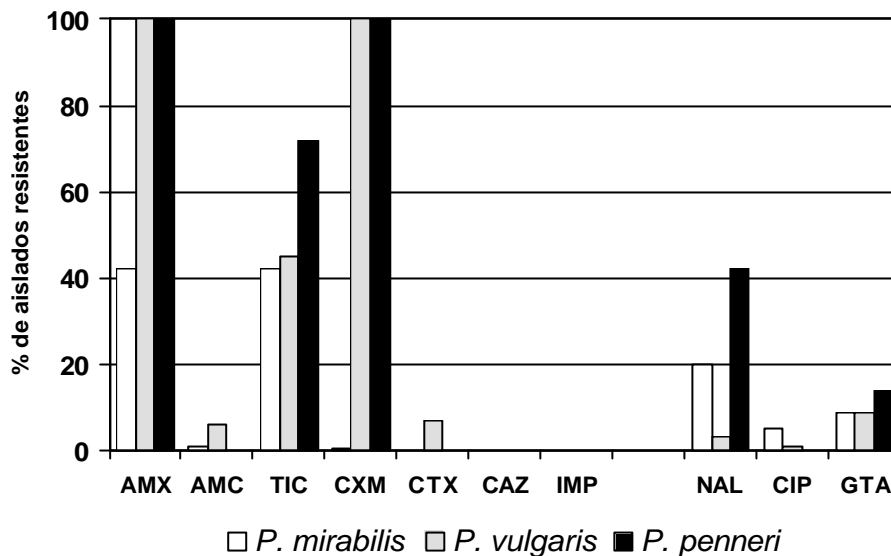


Figura 1. Porcentaje de aislados resistentes del género *Proteus* (*P. mirabilis*,  $n=1343$ ; *P. vulgaris*,  $n=129$ ; *P. penneri*,  $n=7$ ) a diferentes antimicrobianos (AMX: amoxicilina; AMC: amoxicilina/clavulánico; TIC: ticarcilina; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; IMP: imipenem; NAL: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; GTA: gentamicina), aislados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal durante los años 2003 y 2004.

## ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Los estudios de sensibilidad de los microorganismos del género *Proteus* pueden presentar cierta dificultad técnica. Esta puede estar asociada a su peculiar forma de crecimiento (en ondas en la superficie del agar) o a la presencia de mecanismos de resistencia con sistemas de regulación que se ven afectados por la propia presencia del antimicrobiano.

Con la difusión con discos o con el sistema de tiras de E-test®, pueden producirse falsas resistencias por crecimiento los proteus en el interior de los halos o de las elipses de inhibición. Este efecto es aún más evidente si se prolonga la incubación más allá de las 16-18 horas habituales o no se elimina el exceso de humedad en las placas de cultivo cuando se procede a la realización del antibiograma.

En la dilución en agar, el crecimiento en ondas de los proteus puede impedir una lectura correcta de los depósitos o botones de crecimiento. Algunos autores sugieren añadir más agar al medio, utilizar unos cilindros de metal estériles que rodeen al botón en el que se ha depositado el microorganismo o suplementar el medio de cultivo con diversos alcoholes que no afecten su viabilidad e impidan el crecimiento en ondas. Uno de los más utilizados es el p-nitro-fenil-glicerol, aunque puede afectar la sensibilidad de otros microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*.

En los sistemas de dilución en caldo, incluyendo la microdilución, se ha descrito un fenómeno asociado a *P. vulgaris* que consiste en la obtención de valores de CMI de hasta diez veces más altos con algunos antimicrobianos, en particular con la cefotaxima y la ceftriaxona. Este fenómeno se ha relacionado con la inducción de la  $\beta$ -lactamasa CumA propia de *P. vulgaris* cuando el estudio de sensibilidad se realiza en caldo y que no se manifiesta con el estudio de sensibilidad en agar. Se desconoce la trascendencia clínica de este fenómeno. Si bien la  $\beta$ -lactamasa HugA de *P. penneri* está altamente relacionada con la de *P. vulgaris*, este fenómeno no se ha descrito en esta especie.



**BIBLIOGRAFÍA**

- ABBOTT SL. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other Enterobacteriaceae. En: Murray PR., Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover MC (eds). Manual of clinical microbiology (8ª ed). American Society for Microbiology: Washington, 2003; pp 684-700.
- HICKMAN FW, STEIGERWALT AG, FARMER JJ 3RD, BRENNER DJ. Identification of *Proteus penneri* sp. nov., formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogroup 1. J Clin Microbiol 1982; 15:1097-1102.
- LIASSINE N, MADEC S, NINET B, ET AL. Postneurosurgical meningitis due to *Proteus penneri* with selection of a ceftriaxone-resistant isolate: analysis of chromosomal class A beta-lactamase HugA and its LysR-type regulatory protein HugR. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 216-219.
- LIVERMORE DM, WINSTANLEY TG, SHANNON KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J Antimicrob Chemother 2001; 48 (Supl 1):87-102.
- OHNO A, ISHII Y, MA L, YAMAGUCHI K. Problems related to determination of MICs of oximino-type expanded-spectrum cepheims for *Proteus vulgaris*. J Clin Microbiol 2000; 38:677-681.
- PÉDUZZI J, REYNAUD A, BARON P, BARTHÉLÉMY M, LABIA R. Chromosomally encoded cephalosporin-hydrolyzing beta-lactamase of *Proteus vulgaris* RO104 belongs to Ambler's class A. Biochim Biophys Acta 1994; 1207:31-39.
- ROZALSKI A, SIDORCZYK Z, KOTELKO K. Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. Microbiol Mol Biol Rev 1997; 61:65-89.
- SZABO D, PATERSON DL. *Proteus* species. En: Yu VL, Weber R, Raoult D (eds). Antimicrobial therapy and vaccines. Volume I: Microbes. Apple Trees Productions, Maryland. 2002; pp 537-544.

**Tabla 1. Frecuencia clínica de las especies que pertenecen a la Tribu *Proteae* y pruebas bioquímicas más importantes para su reconocimiento fenotípico<sup>a</sup>.**

Especie	Frecuencia clínica	Indol	SH <sub>2</sub>	Urea	ODC <sup>b</sup>	Ácido de				
						Maltosa	D-adonitol	D-aribitol	Trehalosa	<i>mio</i> -inositol
Género <i>Proteus</i>										
<i>P. mirabilis</i>	+++++	-	+	+	+	-	-	-	+	-
<i>P. vulgaris</i>	+++	+	+	+	-	+	-	-	V	-
<i>P. pennerii</i>	+	-	V	+	-	+	-	-	V	-
<i>P. hauseri</i>	-/+	+	V	+	-	+	-	-	+	-
<i>P. myxofaciens</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Género <i>Providencia</i>										
<i>P. retgerrii</i>	+++	+	-	+	-	-	+	+	-	+
<i>P. stuartii</i>	+++	+	-	V	-	-	-	-	+	+
<i>P. alcalifaciens</i>	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. heimbachae</i>	-	-	-	-	-	V	+	+	-	V
<i>P. rustigianii</i>	-/+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Género <i>Morganella</i>										
<i>M. morganii</i> ssp. <i>morganii</i>	+++	+	-/+	+	-/+	-	-	-	-	-
<i>M. morganii</i> ssp. <i>sibonii</i>	+++	v		+	-/+	-	-	-	+	-
<i>M. morganii</i> biogrupo 1	+	+	V	+	V	-	-	-	-	-

<sup>a</sup>Resultados de las pruebas bioquímicas: + = 90%; V = 11-89%; - = 10%; -/+ : el resultado varía según diferentes cepas.

<sup>b</sup>ODC: ornitina decarboxilasa.

**Tabla 4. Perfiles de sensibilidad y resistencia diferenciales de *P. mirabilis*, *P. vulgaris* y *P. penneri* a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos<sup>a</sup>.**

Microorganismo	Mecanismo de resistencia	Antimicrobiano <sup>b</sup>									
		AMP	AMC	TIC	KZ	CXM	FOX	CTX	CAZ	FEP	IMP
<i>P. mirabilis</i>	Fenotipo salvaje	S	S	S	S	S	S	S	S	S	s
	Penicilinasa (TEM-1)	R	S	r/R	S	S	S	S	S	S	s
	Penicilinasa (hiperproducción TEM-1)	R	r/R	R	I/R	S	S	S	S	S	s
	Penicilinasa (IRT)	R	R	s/I/R	S	S	S	S	S	S	s
	BLEE	R	S/I	R	R	r/R	S	r/R	r/R	r/R	s
<i>P. vulgaris</i> / <i>P. penneri</i>	CumA / Hug A	R	S/I	R	R	R	S	S	S	S	S
	CumA / HugA + penicilinasa (TEM-1)	R	S/I/r	R	R	R	S	S	S	S	S
	CumA / Hug A desreprimido	R	I/R	R	R	R	S	r/R	S	s	S
	CumA / Hug A + BLEE	R	I/R	R	R	R	S	R	r/R	r/R	S

<sup>a</sup>Símbolos: S: sensible; s: sensibilidad disminuida I: intermedio; R: resistente; r: resistencia de bajo nivel.

<sup>b</sup>Abreviaturas: AMP: ampicilina (o amoxicilina); AMC: amoxicilina/clavulánico; TIC: ticarcilina; KZ: cefazolina; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; FEP: cefepima; IMP: imipenem