

Resistencia bacteriana

*Otto Alberto Sussmann P.**

*Lorenzo Mattos***

*Andrés Restrepo***

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico.

Desde el principio de la era antibiótica los fenómenos de resistencia a estas sustancias han sido descritos. Cabe destacar la importancia inicial de cepas de *Staphylococcus aureus* capaces de degradar la penicilina y la posterior aparición de esta misma bacteria con resistencia a la meticilina. Inicialmente el problema fue resuelto con el descubrimiento o síntesis de nuevas sustancias que eran capaces de controlar las bacterias con este fenómeno, y aparecen medicamentos como los aminoglucósidos, macrólidos, glicopéptidos, entre otros. Sin embargo, esto no es suficiente y cada vez aparecen nuevos mecanismos que son difíciles de controlar por estos medicamentos. Se ha encontrado que la prevalencia de organismos patógenos humanos resistentes a los antibióticos es cada vez mayor, pero el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos que controlen éstos es mucho más lento. Son varias razones las que explican este hecho: costo de la síntesis hasta el mercadeo del medicamento (US\$100 millones a US\$350 millones); falta de nuevos blancos para la acción de los antibióticos, entre otras.

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes causan una amplia morbilidad y mortalidad. Asimismo causan un mayor costo por mayor estancia hospitalaria y complicaciones. Se calcula que el costo anual en los Estados Unidos por la resistencia antibiótica es entre 100 millones y 30 billones de dólares.

Desde el inicio mismo de la era antibiótica (aparición de la penicilina) se ha descrito el fenómeno de la resistencia, se destaca en los años sesenta la aparición de la resistencia a la meticilina y posteriormente diversos mecanismos de resistencia a los betalactámicos (betalactamasas de espectro extendido, neumococo resistente a la penicilina) y a vancomicina (*Enterococcus vancomicino* resistente, *Staphylococcus aureus* con sensibilidad disminuida a la vancomicina) y la descripción de los diversos mecanismos de resistencia a las quinolonas dentro de los que se destacan los mecanismos de eflujo.

INTRODUCCIÓN

Entre los diversos factores que han contribuido al incremento significativo de la expectativa de vida durante el siglo pasado se encuentra sin duda el control de numerosas enfermedades infecciosas gracias a intervenciones como vacunas y antibióticos específicamente. La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente con implicaciones sociales y económicas enormes dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad, aumento de los costos de los tratamientos y de las largas estancias hospitalarias generadas.

Varios son los factores que han contribuido a su aparición:

- La presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico en humanos o animales.
- La utilización generalizada de antimicrobianos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos.
- El uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana.
- El desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los diferentes gérmenes teniendo en cuenta la flora local de cada institución o comunidad.

MECANISMOS DE RESISTENCIA

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde el ambiente biológico y otro el bioquímico.

Se conoce como *resistencia natural* a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico. Un ejemplo de esto es la resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. a las bencilpenicilinas y al trimetoprim sulfametoxazol; bacilos gram negativos aeróbicos a clindamicina.

La *resistencia adquirida* aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, trasposones, integrones).

En el primero se dan casos tales como la transformación de una Betalactamasa en una Betalactamasa de espectro extendido o como en el caso de mutaciones de los genes que codifican las porinas con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo.

Existen otras denominaciones de resistencia como son:

- Resistencia relativa o intermedia: ocurre un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto

terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración.

- Resistencia absoluta: sucede un incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual. Ejemplo de ello es la *Pseudomonas spp.* resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* altamente resistente a penicilina y uso de levofloxacina.
- Seudorresistencia: ocurre una resistencia *in vitro* pero una gran efectividad *in vivo*.

Se denomina *tolerancia antibiótica* al fenómeno en el cual la diferencia entre la MBC (concentración bactericida mínima) y la MIC es muy grande lo cual ocurre con relaciones MBC/MIC mayores de 8 lo que permite la persistencia del microorganismo.

Elementos móviles de resistencia adquirida

El fenómeno biológico de la resistencia depende de la aparición y conservación de los genes de resistencia, como elementos génicos cromosómicos y extracromosómicos. En pocas palabras es la modificación en el genoma lo que determina la aparición de dichos genes; estos cambios se clasifican en microevolutivos y macroevolutivos. Los primeros son el resultado de mutaciones únicas que comprometen nucleótidos pareados, mientras las macroevolutivas afectan segmentos de ADN.

Los plásmidos y transposones son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia. Los plásmidos son fragmentos de DNA bacteriano con longitud variable, algunos con capacidad para replicarse independiente de la maquinaria genética que dispone la célula, lo que les da el apelativo de conjugativos y no conjugativos según esta capacidad.

Por otro lado los transposones son secuencias de DNA (doble cadena) que pueden ser trasladados entre cromosomas o de un cromosoma a un plásmido o entre plásmidos, gracias a un sistema de recombinación propio; esto sumado a la capacidad de los plásmidos de trasladarse de una célula a otra, durante la conjugación, permite la adquisición de genes de resistencia entre bacterias de la misma especie o especies distintas lo que facilita la expansión epidémica de la resistencia.

Algunos plásmidos y transposones poseen elementos génicos denominados integrones que les permite capturar varios genes exógenos determinando la aparición de una resistencia a varios antibióticos (resistencia múltiple).

Mecanismos de resistencia

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico, a saber:

- Inactivación del antibiótico.
- Alteración del sitio blanco del antibiótico.
- Barreras de permeabilidad.

Cabe resaltar que los tres mecanismos pueden ocurrir simultáneamente.

Destrucción e inactivación del antibiótico

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, B-lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloramfenicol, lincosamidas y estreptograminas.

Sabemos que los antibióticos, B-lactámicos como penicilina, oxacilina, cefalosporinas, actúan inhibiendo la enzima D-alanil D-alanin carboxipeptidasa (PBPS) encargada de la síntesis de la pared. La B-lactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo. Se trata de un sistema enzimático amplio, común y eficiente de resistencia frecuentemente producidas por bacterias Gram negativas, para las cuales se han elaborado múltiples clasificaciones, siendo la más aceptada la de Bush. Pueden clasificarse de acuerdo con su forma de producción en cuatro grupos:

- Por localización genética (cromosomas o plásmidos).
- Por exposición genética (constitutiva o inducida).
- Por producción primaria (dependiente de microorganismo).
- Por sustrato mayor (depende de la clase de antibiótico).

Igualmente por su amplia difusión se deben reconocer algunas codificadas por plásmidos:

- Enzimas de amplio espectro que hidrolizan las bencilpenicilinas y cefaloridina.
- Oxacilinasas que degradan oxacilinas y similares (OXA-1, OXA-2) la tipo A producida por *Staphylococcus aureus*, enterobacterias (TEM-1, SMV-1) éstas últimas (*E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente) de alta importancia pues codifican la B-lactamasa de amplio espectro capaz de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos.
- Carbecilinasas que hidrolizan penicilina.

- Betalactamasas de espectro extendido.
- Oximino B-lactamasa diferentes a las Betalactamasas de espectro extendido.
- Enzimas que hidrolizan cefamicinas y oximinobetalac-támicos y son resistentes a la inhibición del clavulanato.
- Carbapenemasas.

Otra vía para inactivación del antibiótico es la “modificación enzimática” del mismo. Este es el caso de las *enzimas modificadoras de aminoglucósidos* codificadas en plásmidos. Entre las principales enzimas responsables de catalizar la modificación, están la acetil transferasa (AAC), fosfatidil transferasa (APH) y adenil transferasa (ANT o AAD). Cuando un aminoglucósido es inactivado ya no puede unirse a la subunidad 30s ribosomal y por lo tanto no pueden interferir en la síntesis de proteínas.

El mecanismo de resistencia a eritromicina es común a lincosamidas y estreptograminas (*grupo MLS*). La producción de eritromicina estererasas, cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico. Se han descrito Estearasa I y II confinadas a Gram negativos.

La *modificación del cloramfenicol* la realiza una enzima intracelular, cloranfenicol acetil transferasa (CAT), existente tanto en Gram positivos como en Gram negativos. Esta enzima acetila los dos grupos hidroxilo y previene la unión del cloranfenicol al ribosoma 50S.

Barreras de permeabilidad

Incluye tres componentes básicos:

- La estructura de la membrana externa de la bacteria.
- Las porinas. Canales inespecíficos que excluyen el antibiótico por tamaño molecular.
- Características fisicoquímicas del antimicrobiano. En el caso de los medicamentos hidrofílicos (imipenem) requieren presencia de porinas para su transporte al interior de la célula.

Existen fundamentalmente dos mecanismos de resistencia:

1. Entrada disminuida:

- 1.1. *Permeabilidad de la membrana externa*: claramente definida en los microorganismos Gram negativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico.

- 1.2. *Permeabilidad de la membrana interna*: otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos.
- 1.3. *Porinas*: son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo empleado por *Salmonella typhimurium* (OmpC) contra cefalosporinas de primera generación, *Serratia marcescens*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* contra aminoglucósidos y carbapenem.
2. *Eflujo activo*: es debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloramfenicol y B-lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario.

Alteración del sitio blanco

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30S ribosomales, etc.

De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, conferirán resistencia a los b-lactámicos dado que es esta enzima su sitio de acción.

La resistencia a las quinolonas de gérmenes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* obedece a la modificación por mutación de los genes GyrA y Gyr B que codifican para las topoisomerasas II y IV. Característicamente las mutaciones mencionadas se presentan como cromosómicas y no como plásmidos.

Un mecanismo similar se presenta para sulfonamidas y trimetoprim donde se presentan modificaciones de la sintetasa de hidropteorato y dihidrofolato reductasa.

La rifampicina actúa sobre la subunidad 13 de la RNA polimerasa, inhibiendo la extensión del RNA durante su síntesis. La resistencia a rifampicina se presenta cuando cambios en un aminoácido de esta subunidad alteran la unión del antibiótico a la RNA polimerasa. Esta resistencia es común en enterobacterias y puede desarrollarse en *Staphylococcus*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*.

Respecto a las demás estructuras ribosomales encontramos modificaciones a nivel de múltiples subunidades como 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas,

macrólidos y tetraciclinas. Por ejemplo: la metilación ARN ribosomal de la subunidad 50S es el mecanismo de resistencia de *S. aureus*, *Bacteroides fragilis* y *Clostridium perfringens* a tetraciclinas, cloramfenicol y macrólidos.

El mecanismo de resistencia (ribosomal) a gentamicina, tobramicina y amikacina es poco frecuente y consiste en la mutación del péptido S12 de la subunidad 30S.

Cabe destacar en este punto los mecanismos de meticilino resistencia por producción de una proteína ligadora de penicilina (PBP), la resistencia a penicilina por *S. pneumoniae*, la resistencia a glicopéptidos por *S. aureus*.

Casos específicos de resistencia bacteriana

En la primera parte del presente artículo hemos hablado de los principales mecanismos de resistencia bacteriana.

Existen algunos gérmenes y casos especiales que vale la pena mencionar por su importancia clínica:

Enterococos resistente a vancomicina. Existen varios tipos de resistencia a vancomicina los cuales son mediados por transposones facilitando la transmisión del mecanismo a otros bacilos Gram negativos e incluso Gram positivos con consecuencias severas al dejar sin uno de los más valiosos antibióticos a la institución afectada.

Existen 3 fenotipos de resistencia a vancomicina por *Enterococcus*:

- Fenotipo VanA: alto nivel de resistencia a vancomicina (> 64 ug/ml) y resistencia a teicoplanina (> 16 ug/ml). Más frecuencia en *E. faecalis* y *E. faecium*.
- Fenotipo VanB: bajo a alto nivel de resistencia a vancomicina (16-512 ug/ml), sin resistencia a teicoplanina.
- Fenotipo VanC: resistencia intrínseca de bajo nivel (MICS 2-32 ug/ml). Mayor frecuencia en *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. flavescens*.

Los objetivos a lograr en este caso son el control en el uso, evitar la infección por *Enterococcus* con medidas de higiene adecuadas y el manejar las infecciones de *Enterococcus* con combinaciones de antibióticos que no tienen una adecuada evidencia como son B-lactámicos a altas dosis con amino-glucósido o B-lactámicos con inhibidor de B-lactamasa.

-lactamasa de espectro extendido: otro caso es el de las β -lactamasas de espectro extendido. Este es un tipo de resistencia que se encuentra en bacterias Gram negativas y que es mediado por plásmidos. El mecanismo de acción es una lisis de las moléculas de oximino β -lactámicos. En este caso se encuentra frecuentemente un perfil de sensibilidad a

cefotetan con resistencia a ceftazidima y aztreonam. Hasta el momento el principal manejo que se da a este tipo de pacientes es el uso de imipenem o meropenem pero desafortunadamente existen cepas que ya están desarrollando resistencia a este tipo de antibióticos.

Staphylococcus metilino resistente. En este caso se trata de una resistencia de tipo cromosómica con producción de una proteína de unión a penicilina anómala. Este tipo de microorganismo al parecer ha respondido bien a terapias basadas en clindamicina e incluso TMP-SMZ en comunidades con alta prevalencia de *Staphylococcus metilino resistente* para manejo de infecciones menores a nivel de tejidos blandos. Otro fármaco de interés en infecciones más severas es la vancomicina, no debiendo usarse en infecciones por gérmenes metilino susceptibles. Se están investigando glicopéptidos sintéticos como el LY333328 para el manejo de infecciones en pacientes con *Staphylococcus resistente* a vancomicina aún en fase de prueba.

ANTIBIOGRAMAS

La apropiada selección y uso de un agente antimicrobiano están basados en las características del organismo etiológico y en el patrón de susceptibilidad, el huésped y el fármaco.

Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser predecida.

Existen ahora numerosos métodos estandarizados por el National Commite for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

- *Método de dilución en placa o en caldo*: es el *Gold Standard* de los test *in vitro*. En este un inóculo bacteriano (usualmente 10^5 unidades formadoras de colonias) determinado se expone a diluciones seriadas del antibiótico por 18 a 24 horas. El resultado se expresa en concentración inhibitoria mínima (MIC) que es la menor concentración en microgramos por mililitro que inhibe el crecimiento de microorganismos. En general la susceptibilidad es definida como una MIC que es equivalente o menor a de un dieciseisavo a un cuarto de la concentración pico sérica. Esta información es cuantitativa.
- *Test de dilución en agar*: sigue los mismos principios excepto que las bacterias son inoculadas en platos. La MIC es definida como la menor concentración a la cual no se observan colonias, tiene como desventaja el mayor costo y el no brindar una información cuantitativa.

- *Método de difusión en disco:* se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada. Observando el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La sensibilidad está determinada por el diámetro del halo cuya lectura viene estandarizada.
- *E-test:* se emplea un cultivo en el cual se coloca una tira de antibiótico con un gradiente de concentración, permite estudiar la MIC mediante el análisis del halo de inhibición producido cuando los métodos tradicionales de medición de ésta no son confiables. Se emplea generalmente para estudio de gérmenes difíciles como *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y anaerobios.

MEDIDAS SIMPLES, PARA PROBLEMAS COMPLEJOS

Cuando se revisa la literatura disponible se encuentra cómo la resistencia de microorganismos a los antibióticos se trata de un problema progresivo con tendencia a empeorar si no se toman medidas al respecto.

Existen herramientas para ayudar a optimizar el uso de los antibióticos en el hospital y hacer un manejo racional de los mismos. Es aquí donde el equipo de Infectología de la institución juega un *rol* fundamental.

Uno de los mecanismos más efectivos consiste en la instauración de formularios de antibióticos que restringen el uso de los mismos autorizando el uso de una droga de cada clase disponible. Esto permite que el personal se familiarice con un número limitado de fármacos con lo cual es más fácil conocer sus características farmacológicas y sus efectos secundarios, pero lo más importante es que permite que se tenga la opción de suspender temporalmente el fármaco o cambiarlo por otro de acción similar cuando la flora intrahospitalaria muestre resistencia a ese determinado agente.

El laboratorio juega un importante papel a la hora de reportar casos de resistencia que se presenten contra los fármacos que se están aplicando en determinado momento en el hospital, ya que permite la detección precoz de cepas resistentes que pueden controlarse con oportunos cambios en los antibióticos autorizados para uso en la institución. El otro *rol* fundamental del laboratorio es tipificar los gérmenes en el menor tiempo posible dando además su perfil de susceptibilidad para pasar de la terapia empírica a la específica con el antibiótico indicado para el germen identificado. El antibiótico debe elegirse teniendo en cuenta que sea no sólo específico, también debe buscarse un fármaco económico, pasar de administración IV a vía oral en el menor tiempo posible y en los casos que sea factible pasar a un esquema con mayores dosis y menor frecuencia de administración.

El trabajo conjunto del clínico y el personal de laboratorio logrará con esto un uso racional de antibióticos lo que reflejará sus resultados en ganancias tanto para el paciente como para la institución.

* *Jefe Unidad de Infectología, Hospital Universitario San Ignacio.*
** *Internos Unidad de Infectología.*

LECTURAS RECOMENDADAS

1. *Resistencia bacteriana, supervivencia del más apto*, Iladiba, vol. XII, septiembre, 1998.
2. Sussmann O. *Apuntes de resistencia bacteriana*, inédito, 2001.
3. Burke A. *Antibiotic Resistance*. Medical Clinic of North America 84(6):November, 2000.
4. De Jawetz *et cols*. *Microbiología médica*. Editorial Manual Moderno, 1997.
5. Sussmann O. *Terapia antimicrobiana*, cap. 4 Infecciones en cirugía, Editorial Panamericana.
6. Departamento de Biología Molecular. *Mecanismos moleculares de la resistencia bacteriana*. Salud pública mexicana, 1998;36(4):428-438.
7. Eliopoulos G.M. *Vancomycin-Resistant Enterococci: Mechanism and Clinical Relevance*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):851-865.
8. Murray B. *Vancomycin-Resistant Enterococcal infections*. The new England journal of medicine, marzo 9 de 2000;v142(10).
9. Sanders Ch. *Et cols*. *B-lactamase resistance*. Supplement to u.s pharmacist. July 1996.
10. Jacoby G.A. *Extended-Spectrum b-Lactamases and other Enzymes Providing Resistance to Oxyimino- -Lactams*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):875-887.
11. Maranan M.C., Moreira B., Boyle-vavra S., Daum R.S. *Antimicrobial Resistance in Staphylococci: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Clinical Relevance*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):813-849.
12. Trexler M. *et cols*. *Antibacterial therapy. Principles of selection and use of antibacterial agent*. Infectious Disease clinic of North America, June 2000;14(2).
13. Jorgensen J.H. *Laboratory Issues in the Detection and Reporting of Antibacterial Resistance*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997; 11(4):785-802.
14. Jorgenser J. *et cols*. *Antimicrobial Susceptibility testing. Special needs for Fastidious organism and difficult-to-detect resistance mechanisms*. Clinical Infectious diseases; 2000; 30:799-808.

15. Gaynes R. *The Impact of Antimicrobial use on the Emergence of Antimicrobial-Resistant Bacteria in Hospitals*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):757-765.
16. Gross PA. *The Potential for Clinical Guidelines to Impact Appropriate Antimicrobial Agent Use*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):803-812.
17. Sahm D.E., Tenover F.C. *Surveillance for the Emergence and Dissemination of Antimicrobial Resistance in Bacteria*. Infectious Disease Clinics of North America, 1997;11(4):767-783.