

RESISTENCIA BACTERIANA

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.

Antes de que la Penicilina fuera introducida a la práctica clínica, ya se sabía de la existencia de enzimas, capaces de hidrolizar el anillo β lactámico del antibiótico. En la década de los 40, comienza la batalla de la industria farmacéutica contra las bacterias, tratando siempre de contrarrestar con nuevas moléculas, los cada vez más numerosos mecanismos de resistencia de los microorganismos.

Aunque el fenómeno de la resistencia antimicrobiana, es común en la mayoría de las especies bacterianas, pero solo algunas cuantas lo han desarrollado en una magnitud tal, que se ha convertido en un verdadero problema de salud pública, oscureciendo el pronóstico clínico en algunos casos e incrementando los costos en salud.

Los gérmenes “problema”, son las denominadas bacterias multiresistentes (BMR), generalmente de tipo intrahospitalario y comprenden. *Staphylococcus aureus* metilino resistente (SAMR), el *Staphylococcus aureus* con sensibilidad disminuida a la vancomicina (VISA), Enterococcus vacomicino resistente (EVR), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* panresistentes y las enterobacterias productoras de β lactamasas de espectro extendido (BLEES).

-Tipos de Resistencia Bacteriana:

La resistencia bacteriana puede ser de dos tipos: intrínseca o adquirida.

a- Resistencia Intrínseca:

Es aquella que se desarrolla en forma natural en ausencia de mecanismos de presión de selección antimicrobiana (no hay exposición previa a antibióticos); esto implica que no todas las especies bacterianas son susceptibles naturalmente a los antimicrobianos. Ejemplos de este tipo de resistencia es la del Mycoplasma a los antibióticos β lactámicos, ya que debido a la ausencia de pared (peptidoglicanos) este tipo de antibiótico no tiene sitio blanco donde actuar; otro ejemplo de resistencia intrínseca lo muestra la Pseudomonas que es resistente natural a los macrólidos, dado que este tipo de sustancias son hidrofóbicas y la membrana externa de la Pseudomonas tiene muy baja permeabilidad para este tipo de sustancias.

b- Resistencia Adquirida:

Este tipo de resistencia, puede ser percibido desde dos puntos de vista, uno bioquímico y otro genético. Desde el punto de vista bioquímico tenemos los siguientes mecanismos:

1-Producción de enzimas que inactivan el antibiótico. Eje: Síntesis de β lactamasas.

2-Modificación de un sitio diana intracelular. Eje. Resistencia de la estreptomicina mediante modificación del ribosoma.

3-Modificación del sitio diana extracelular. Eje: Cambio de la PBP2 por una PBP2a, que realiza el *S. aureus* meticilino resistente.

4-Disminución de la permeabilidad de la membrana celular. Eje: Resistencia de la *Pseudomonas* al Imipenem.

5- Salto del proceso metabólico inhibido o bloqueado por el antibiótico. Eje: Resistencia al Trimetropin/Sulfa.

Desde el punto de vista genético, la resistencia adquirida puede ser un fenómeno temporal (llamado también adaptativo), ya que depende de las condiciones de crecimiento del germen; por ejemplo la *E. coli* es resistente a los aminoglucósidos cuando crece en condiciones anaerobias. También puede ser de carácter permanente en el caso de que existan mutaciones o adquisición de material genético extrínseco a través de plásmidos, trasposones, integrones. Los plásmidos y trasposones 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 trasposones 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 trasposones poseen elementos génicos denominados integrones, que les permite capturar varios genes exógenos determinando la aparición de una resistencia a varios antibióticos (resistencia múltiple).

Los antibióticos por si solos no pueden generar mutaciones. El desarrollo de resistencia inducida por el uso de antibióticos, depende de la selección de cepas que previamente habían mutado y que son resistentes, obedeciendo la teoría de Darwin, de selección del más fuerte.

No solo la presión antibiótica, estimula el desarrollo de genes de resistencia, otro factor que influye es la selección medio ambiental. Existen genes relacionados con mecanismos de resistencia que tienen otras funciones diferentes a la adquisición de resistencia antimicrobiana, como participar en funciones metabólicas (β lactamasas y síntesis de la pared celular), de protección contra elementos tóxicos medioambientales (bomba de eliminación de sales biliares en el caso de *E. coli*, que se ha relacionado con resistencia a múltiples drogas). Esto puede ser en algunos casos una desventaja, ya que aunque genera un patrón de resistencia importante, puede dejar a la bacteria en condiciones de inferioridad en términos de adaptación e incluso virulencia. Eje: El neumococo resistente a la penicilina requiere un mayor inóculo para producir neumonía que los sensibles. Esto demuestra que: Resistencia no es sinónimo de virulencia.

-Mecanismos de Resistencia Bacteriana:

Existen 5 mecanismos principales en la generación de la resistencia bacteriana, los cuales son: disminución de la captación del antibiótico, remoción del medicamento de la célula, inactivación o destrucción del agente antimicrobiano mediante actividad enzimática, modificaciones del sitio diana y modificación de la vía metabólica. Estos mecanismos se expondrán ampliamente a continuación:

1- Disminución de la Captación del Antibiótico:

Hace referencia a la disminución de la permeabilidad de la membrana al antibiótico. Constituye el mecanismo por medio del cual muchas bacterias gram negativas naturalmente no permiten el paso de moléculas hidrofóbicas como la eritromicina a través de la membrana plasmática externa, dado la presencia de lipopolisacaridos en esta. Otro mecanismo de resistencia son las mutaciones en las porinas, que conlleva a cambios en su estructura o en el número impidiendo el ingreso de los medicamentos; este es el caso de la *P. aeruginosa* que mediante una mutación de la porina OprD, hace que esta porina este ausente en la membrana, con lo cual adquiere resistencia al Imipenem, al no poder ingresar este a la bacteria.

2- Remoción del Medicamento de la Célula:

Considerado uno de los principales mecanismos de resistencia; consiste en bombas de eflujo de medicamentos dependientes de energía (expulsa el antibiótico una vez ha entrado a la bacteria). Se comportan como la bomba de sodio/potasio, que actúa en contra de un gradiente de concentración, pero en este caso no intercambia electrolitos, sino que expulsa antibióticos. Los altos niveles de resistencia se deben a la sobreproducción intrínseca de estas bombas de eflujo o a la adquisición extrínseca de genes que los codifican. Ejemplos de transportadores específicos son las bombas de expulsión de antibióticos de la familia de los macrólidos y lincosaminas, que le dan la resistencia al neumococo contra estos antibióticos; otros ejemplos de este tipo de resistencia lo muestra la *E. coli* que mediante una bomba de eflujo de antibióticos se hace resistente a la tetraciclina, eritromicina, y algunas fluoroquinolonas, y la *Pseudomonas aeruginosa* que adquiere multiresistencia mediante sobreexpresión de genes que codifican bombas de eflujo.

3-Inactivación o Destrucción del Agente Antimicrobiano Mediante Actividad Enzimática:

Si el germen no ha evitado que entre el antibiótico, o no ha sido capaz de expulsarlo una vez ha ingresado, le queda un último recurso que es inactivar o destruir el antibiótico; para esto las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos enzimáticos que les permite llevar a cabo su cometido. El principal exponente de este mecanismo de resistencia lo constituyen las beta lactamasas, un grupo de enzimas que tienen la

capacidad de inactivar o modificar antibióticos β lactámicos como los carbapenems, penicilinas y cefalosporinas, y de las cuales han sido descritas una gran cantidad.

Las β lactamasas son producidas por una gran variedad de bacterias que incluye especies de gram positivos, gram negativos y anaerobios. Estas pueden ser codificadas por genes en cromosomas o plásmidos. Las β lactamasas en las bacterias gram negativas, se encuentran en el espacio periplásmico, y en las gram positivas (carecen de membrana externa), las β lactamasas son excretadas al medio exterior. Los diferentes tipos de β lactamasas varían en su capacidad de inactivar un β lactámico determinado y en su susceptibilidad a inhibidores como el clavulanato, sulbactam y tazobactam.

Existen muchos tipos de β lactamasas y clasificaciones para esta, pero dos tipos revisten verdadera importancia: β lactamasas de espectro extendido (BLEES) y cefalosporinasas mediadas cromosómicamente (AMP-C).

a- β lactamasas de espectro extendido (BLEES):

Las BLEES son enzimas producidas por enterobacterias, que hidrolizan los antibióticos β lactámicos incluyendo cefalosporinas de tercera y cuarta generación, y el aztreonam. Estas enzimas derivaron de mutaciones de las β lactamasas de amplio espectro TEM y SHV, presentes en la mayoría de las enterobacterias, pero principalmente de *K. pneumoniae* y *E. coli* (aunque han sido identificadas en *Proteus*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Salmonella*).

Diferentes mecanismos pueden mediar una expresión de alto nivel que lleve al surgimiento de variantes productoras de BLEES, entre estos se incluyen alteraciones en el promotor o traslocaciones del gen al plásmido. A su vez las BLEES se pueden adquirir por:

- 1-Transferencia de plásmidos
- 2-Transferencia de genes de resistencia mediada por cromosomas
- 3-Mutaciones espontáneas
- 4-Selección de gérmenes resistentes favorecida por el uso de antibióticos de amplio espectro, especialmente cefalosporinas de tercera generación, aunque se han descrito otras moléculas como el cefoxitin y la gentamicina que favorecen su aparición.

Este mecanismo de resistencia no solo es usado para los β lactámicos sino también para otro grupo de antimicrobianos como los aminoglucósidos (acetiltransferasas, adeniltransferasas, fosfotransferasas) y macrólidos (esterasas y fosfotransferasas).

b- Cefalosporinasas Mediadas Cromosómicamente (AmpC):

Este tipo de β lactamasas puede ser inducido por la exposición a antibióticos β lactámicos. Esto se debe a la presencia en estos microorganismos de un gen regulador denominado **AmpR**, el cual en condiciones de crecimiento normal tiene la función de reprimir la expresión de **AmpC**. Cuando el germen se expone al β lactámico estos causan disrupción de la pared celular produciendo un aumento de muropeptidos en el citoplasma, los cuales bloquean el gen **AmpR**, al estar bloqueado este, se pierde su efecto represor sobre **AmpC**, generando una sobreproducción de β lactamasas **AmpC**,

convirtiendo gérmenes inicialmente sensibles en mutantes resistentes, esto es más probable con los siguientes microorganismos (tenga en cuenta la sigla **AMPCES**):

Acinetobacter

Morganella

Proteus/Providencia

Citrobacter

Enterobacter

Serratia

La expresión de β lactamasas **AmpC** en organismos con **AmpC** inducibles, se puede dar sin la exposición a β lactámicos, ya que todas las bacterias gram negativas tienen un sistema de reciclaje de muropeptidos para la síntesis de peptidoglicano, para la reutilización de estos es esencial una enzima la AmpD amidasa. La mutación de esta enzima ocasiona una acumulación citoplasmática de muropeptidos, ya que estos no pueden ser reciclados, lo que se traduce en una inactivación secundaria de la **AmpR**, con lo que se desreprime el gen **AmpC**, llevando a un aumento de la β lactamasa AmpC constitutiva en ausencia de β lactámicos.

4- Modificaciones del Sitio Diana:

La alteración ó modificación del sitio de unión del antimicrobiano se traduce en una pérdida de la afinidad y por tanto lo imposibilita para realizar la destrucción del microorganismo. Esta mutación se puede dar a nivel de los ribosomas (modificación del sitio diana intracelular) como ocurre con la resistencia a macrólidos y lincosamidas (Clindamicina), en la que la adición de grupos metilo a la unidad 50s del ribosoma impide la acción de los medicamentos. Este mecanismo está descrito en anaerobios y *S. aureus*; y son muy similares a los mecanismos de resistencia para tetraciclinas y aminoglucósidos.

La modificación del sitio diana puede ser extracelular como ocurre con la resistencia del *S. aureus* y *S. pneumoniae*, que se da por modificación de la enzima blanco en la pared bacteriana, mediante la presencia de un gen Mec A, que codifica una PBP modificada la PBP2a, para la cual no tienen afinidad los β lactámicos. Esta estrategia de disminución de afinidad por las PBP, también la muestran el *H. influenzae* y la *N. meningitidis*.

Finalmente otra modificación del sitio diana (extracelular) se da en los enterococos, los cuales mediante genes denominados van HAX, crean una vía metabólica alterna que cambia el sustrato de acción de la vancomicina D-alanina por D-lactato, el cual puede formar parte de la pared bacteriana, pero la vancomicina no tiene afinidad por este.

5- Modificación de la Vía Metabólica:

El ejemplo clásico de este mecanismo de resistencia es la resistencia a las sulfonamidas las cuales utilizan una vía metabólica alterna para la síntesis de Acido fólico, y así evitan la acción del medicamento.

-Casos específicos de resistencia bacteriana

En la primera parte 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 resistentes a Vancomicina:

Existen varios tipos de resistencia a la 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 eliminar la posibilidad de usar uno de los antibióticos más valiosos dentro de la práctica clínica.

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 frecuentes en *E. faecales* 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). Son más frecuentes en *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. flavescens*.

Estos tipos de resistencia del enterococo son de gran importancia, ya que constituyen un desafío terapéutico con incalculables repercusiones clínicas y económicas en todos los sistemas de salud a nivel mundial.

En el siguiente capítulo de interpretación del antibiograma, se expondrá más ampliamente como evaluar cada uno de los mecanismos de resistencia dependiendo del microorganismo al cual nos enfrentemos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mandell G, Douglas y Bennett E. Principios y práctica de las enfermedades infecciosas. Elseiver. Sexta edición. Capítulo 17.
2. Kenneth J, George R. Microbiología Médica una introducción a las enfermedades infecciosas. Mc Graw Hill. Cuarta edición. Capítulo 14.
3. Murray P, Rosenthal K. Microbiología Médica. Elseiver. Quinta edición. Capítulo 20.
4. Helfand M, Bethel C, Hujer A, et al. Understanding Resistance to β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors in the SHV β -Lactamase. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 278, No. 52, Issue of December 26, pp. 52724–52729, 2003.
5. Antibiotic Susceptibility Testing By The CDS Method. Appendix 1. β -Lactamases in Gram-negative organisms.