

II. Generalidades

La resistencia bacteriana se define como “una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico”¹⁷.

La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces más tóxicos que los empleados habitualmente. Cuando se lanza al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida que la droga se utiliza clínicamente, llegando en algunos casos a caer en el desuso.

2.1 Datos Epidemiológicos

El descubrimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos surgió poco después de iniciado el uso de la penicilina. Ya en 1944 se reportaron cepas de *Staphylococcus aureus* productora de betalactamasas que hidrolizaban la penicilina y la hacían inefectiva. Aunque inicialmente este tipo de resistencia sólo sucedía esporádicamente, rápidamente se propagó. En 1946 el 14% de los *Staphylococcus aureus* nosocomiales producían betalactamasas, en 1950 la cifra ascendía al 59%, y actualmente, en España, un reporte indica que el 95% de las cepas de *S. aureus* son productoras de betalactamasas¹⁸.

La industria farmacéutica desarrolló nuevos fármacos, derivados a partir de los iniciales, para obviar este problema: nuevas penicilinas, cefalosporinas, combinaciones con inhibidores de betalactamasas, y carbapenems. Sin embargo, la introducción de nuevos antibióticos da lugar a la selección de cepas resistentes. Ahora tenemos cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) o resistentes a oxacilina (ORSA), que muestran resistencia a todos los derivados betalactámicos mencionados. Las primeras cepas de MRSA se describieron a principios de los años 60 pero no fue hasta fines de la década de los 70 y en los 80 cuando empezaron a

causar serios problemas. Existen reportes de estas cepas en los Estados Unidos, Japón y Europa, con los porcentajes más altos en Grecia (53%) y Japón (60%)¹⁸.

Un problema aún más alarmante es la aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a vancomicina. El primer aislamiento de una cepa de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a vancomicina (VISA) tuvo lugar en Japón en 1996. Posteriormente se reportaron casos de infecciones por VISA en los Estados Unidos, Francia, el Reino Unido, Grecia, Alemania, Hong Kong y Corea; en algunos casos se refieren a cepas heterorresistentes a vancomicina, es decir, cepas que presentan una subpoblación bacteriana que muestra CMI's intermedias a vancomicina, pero al realizar las pruebas habituales de sensibilidad a toda la población bacteriana, muestra CMI's sensibles. En el Hospital de Juntedo, en Japón (donde se había descrito el primer caso) se encontró que del total de cepas de *S. aureus* resistentes a metilina (MRSA) el 20% eran heterogéneamente resistentes a vancomicina¹⁸.

Otro microorganismo que está mostrando resistencia a la vancomicina es el *Enterococcus*. En los Estados Unidos, el NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) reportó en 1989 un porcentaje de *Enterococcus* resistentes a Vancomicina (VRE) del 0,3%; pero ya en el 2000 esta cifra llegó al 14%; mientras que en España el porcentaje oscila entre 1 y 4%¹⁸ según las regiones. En el Perú un estudio realizado en 1997 reporta un 11,1% de *Enterococcus* resistentes a vancomicina¹⁹.

En cuanto a los microorganismos gram negativos, tenemos que las enterobacterias están desarrollando resistencia frente al aztreonam y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación mediante la producción de betalactamasas de espectro extendido (ESBLs). El primero de estos casos se reportó en Alemania en 1983²⁰. Luego este tipo de resistencia se fue difundiendo y actualmente *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* son los microorganismos más frecuentemente asociados con producción de ESBLs. La incidencia es variable; por ejemplo tenemos un estudio en los Estados Unidos²⁰ donde se encontró que el 9% de 906 aislados de Enterobacterias eran cepas productoras de ESBLs.

Otros microorganismos que fácilmente desarrollan resistencia frente a cualquier antibiótico son *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. En España se han reportado casos en los que solamente quedaba la opción de usar colistina contra estos microorganismos¹⁸.

2.2 Bases Genéticas de la Resistencia

La aparición de resistencia bacteriana se debe a cambios estructurales y fisiológicos que van a neutralizar los efectos del antibiótico. Estos cambios ocurren por dos mecanismos genéticos principales:

Mutaciones en un gen cromosómico

Los cambios en el cromosoma pueden ser debidos al azar o a la influencia de agentes físicos o químicos y no necesariamente debido a la exposición al antibacteriano. Es posible que cualquier población grande de bacterias sensibles a antibióticos contenga algunos mutantes que sean relativamente resistentes al fármaco. En algunos casos, la mutación es en una sola fase y ocasiona un alto grado de resistencia, en otros, la aparición de mutantes resistentes puede necesitar de varias fases o pasos, y cada uno de ellos genera solo mínimas alteraciones en la sensibilidad. Luego de ocurrida la mutación, esta puede transferirse en sentido vertical a las células hijas.

Introducción de un Plásmido R de resistencia

Es la adquisición, por parte del microorganismo, de genes para la resistencia transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación.

Este mecanismo es más frecuente que el mutacional, se disemina rápidamente aún entre diferentes especies bacterianas, puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez y a diferencia del anterior, no suele producir una desventaja adaptativa, es decir, no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni la hace perder sus propiedades de virulencia.

2.3 Mecanismos Bioquímicos de Resistencia

Los eventos genéticos descritos anteriormente dan lugar a diversos tipos de alteraciones bioquímicas en el metabolismo bacteriano. Podemos agruparlos en:

(a) Inactivación Enzimática

Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de plásmidos R. El ejemplo más común es la producción de enzimas **b**-lactamasas, y recientemente la producción de **b**-lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias, que inactivan al aztreonam y las cefalosporinas de 3ra y 4ta generación.

Otras enzimas que inactivan antibióticos son la cloranfenicol acetiltransferasa y en el caso de los aminoglucósidos, las enzimas adenilantes, acetilantes y fosforilantes.

(b) Disminución de la permeabilidad de la membrana celular

Si el medicamento no accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte, esto supone una mayor resistencia al antibiótico. Por ejemplo en *E. coli* el reemplazo de la porina OmpF por OmpC causa un aumento en la CIM de varios antibióticos betalactámicos²¹.

En otros casos, la resistencia se debe a alteraciones en la cápsula: algunos neumococos resistentes a estreptomicina y eritromicina dependen de este tipo de mecanismo.

(c) Disminución de la concentración intracelular del antibiótico

El ejemplo más típico es la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias ya que el efecto inhibitor de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las bacterias. Ciertos plásmidos R poseen transposones (como el Tn10 o el Tn 1721) que codifican un sistema para bombear tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior, en contra de la gradiente de concentración.

(d) Modificación de la estructura de las proteínas blanco

Se ha encontrado este tipo de resistencia frente a varios antibióticos. Por ejemplo los cambios en la proteína receptora de la subunidad 30S producen resistencia a los aminoglucósidos; las alteraciones o aparición de nuevas proteínas fijadoras de

penicilinas, a los betalactámicos; la metilación del ARN ribosomal en la subunidad 50S, confiere resistencia cruzada a eritromicina y clindamicina y las alteraciones en la ADN girasa, producen resistencia a quinolonas.

2.4 Factores que Favorecen la Aparición y Diseminación de la Resistencia

Son múltiples los factores que originan este problema. Sin embargo, el factor más importante es probablemente el uso excesivo e inapropiado de antibióticos. El uso intensivo de antibacterianos en la comunidad se debe, en países como el nuestro, a que los antibióticos se venden sin prescripción médica²²; y aún teniendo la receta, el paciente muchas veces no cumple con el tratamiento indicado. También influyen por parte del prescriptor, la falta de diagnósticos etiológicos y el uso excesivo de agentes de amplio espectro y de última generación para la profilaxis y tratamiento de las infecciones ante el temor de estar ante una cepa resistente. Esto es aún más frecuente al haberse incrementado el número de pacientes inmunocomprometidos, con enfermedades críticas, pacientes debilitados o ancianos donde los médicos tienden a administrar agentes de amplio espectro para el tratamiento empírico ante una sospecha de infección, ya que una infección nosocomial por microorganismos resistentes en estos pacientes es de mal pronóstico. Además, por parte de los organismos de salud hay una falta de información que oriente los tratamientos empíricos y normas severas que restrinjan el uso indiscriminado de los antibióticos.

Otro factor que ha contribuido al proceso de selección de bacterias resistentes ha sido el uso de agentes antimicrobianos en el ganado y aves para promover el engorde y crecimiento o para prevenir o tratar infecciones. Las bacterias resistentes en los animales destinados al consumo humano pueden luego causar enfermedad en humanos^{23,24}.

La diseminación de las cepas resistentes puede ocurrir en la comunidad por movilidad geográfica de la población¹. En el ámbito hospitalario ocurre principalmente por transmisión persona a persona, cuando el personal en contacto con los pacientes no aplica las técnicas básicas de control de infecciones, lo cual es más frecuente en salas de hospital sobrepobladas. Un factor agravante es el incremento de intervenciones

invasivas como cateterismo, broncoscopía, colposcopía o biopsias quirúrgicas en las cuales se traumatizan o cortan membranas mucosas; así como el mayor empleo de tratamientos muy agresivos que afectan las defensas naturales como en el caso de transplantes, cirugías mayores o el uso de dispositivos artificiales en las UCI²⁵.

2.5 Métodos para la Detección de Bacterias Resistentes a los Antibacterianos

Los métodos más empleados actualmente son: difusión en disco, caldo de microdilución, dilución en agar, dilución en gradiente de agar (E-test) y diversos métodos automatizados o semi-automatizados.

Los métodos genéticos, como sondas de ADN y reacción en cadena de polimerasa, pueden usarse para detectar secuencias de ADN asociadas con genes de resistencia antimicrobiana. Sin embargo, no es frecuente el uso de estos métodos por su alto costo.

Mediante el método de difusión en disco se dan resultados cualitativos: sensible, sensibilidad intermedia y resistente, en relación con los diámetros de la zona de inhibición para cada antibiótico y de acuerdo a las recomendaciones de la NCCLS. Los métodos de dilución, incluidos los automatizados, comúnmente generan resultados en términos de concentración inhibitoria mínima (CIM), además del resultado cualitativo.

En el Centro Médico Naval se cuenta con el sistema Microscan desde el año 1998. Este sistema permite hacer la identificación bioquímica y la determinación de la sensibilidad antimicrobiana utilizando los paneles correspondientes. Para esto el operador prepara, a partir del microorganismo aislado, una suspensión con una turbidez de 0,5 en la escala Mc Farland y luego se inocular esta suspensión en el panel respectivo. Luego de un mínimo de 16 horas de incubación a 35°C, se agregan los reactivos necesarios para las pruebas de identificación bioquímica y se realiza la lectura usando el Autoscan 4, que está unido a una computadora donde quedan automáticamente registrados para cada aislado, la identificación, las MIC y el perfil de resistencia correspondientes. Los paneles utilizados con mayor frecuencia durante el año 2000 fueron, para microorganismos gram positivos: Pos BP Combo 13 y Pos

Combo 14; para microorganismos gram negativos: Neg BP Combo 13, Neg Combo 15 y Neg Combo 21.

Autoscan 4 utilizado en el Centro Médico Naval



2.6 Consideraciones para la Selección de Agentes Antibacterianos y la Interpretación de los Resultados

Debemos tener en cuenta que el número de los antibacterianos se ha incrementado notablemente en los últimos años. Sin embargo, su contribución para el tratamiento de las enfermedades infecciosas ha sido limitada. Muchos de estos compuestos tienen un espectro que se superpone al de aquellos que les precedieron, son igualmente afectados por los mecanismos de resistencia ya conocidos y solo se diferencian en algunas de sus características farmacocinéticas. El estudio de la sensibilidad a todos y cada uno de ellos, además de ser prácticamente imposible, carece de interés tanto desde el punto de vista clínico como epidemiológico. Por eso, al realizar un antibiograma se seleccionan unos pocos antibacterianos como representantes de las diferentes familias y clases. La Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos (MENSURA) recomienda que la información que se obtenga de un antibiograma debe permitir:²⁶

- a. Conocer y definir el perfil de un microorganismo determinado.
- b. Facilitar la caracterización de los mecanismos de resistencia.
- c. Ofrecer opciones terapéuticas para la correcta selección del tratamiento antimicrobiano.
- d. Evaluar los cambios en los comportamientos habituales de sensibilidad.

Además, la elección final de los antibacterianos a estudiar se va a decidir en cada laboratorio considerando el tipo de microorganismo, los mecanismos de resistencia que les afectan, las características del paciente y de su infección, la política de antibióticos de cada área o institución y los recursos disponibles.

Las pruebas de sensibilidad a los antibacterianos nos dan resultados que corresponden a una de tres categorías. Sensible, Sensibilidad Intermedia y Resistente. Las definiciones según la NCCLS son las siguientes²⁷.

La categoría *sensible* implica que la infección por esa cepa puede ser tratada apropiadamente con las dosis recomendada del agente antimicrobiano según el tipo de infección y el patógeno, a menos que esté contraindicado.

La categoría *sensibilidad intermedia* incluye aislados con CIMs cercanas a los niveles tisulares y sanguíneos alcanzables y para los cuales la respuesta puede ser menor con respecto a los aislados sensibles. Esta categoría indica que el antibiótico puede usarse clínicamente en zonas donde las drogas son concentradas fisiológicamente (ej. quinolonas y betalactámicos en la orina) o cuando se puede usar una alta dosis de la droga (ej. betalactámicos). Esta categoría incluye además un margen para evitar que por pequeños factores técnicos incontrolados se produzcan discrepancias mayores en las interpretaciones, especialmente para drogas con estrecho margen terapéutico.

Las cepas *resistentes* no son inhibidas con las concentraciones sistémicas usualmente alcanzadas con los esquemas terapéuticos habituales y/o poseen un mecanismo de resistencia específico (ej. betalactamasas).

Estas categorías no determinan arbitrariamente la terapia, sino que sirven de guía para el médico tratante, ya que los resultados no reflejan las concentraciones que se alcanzan en los sitios de la infección ni se toman en consideración factores locales que pueden disminuir la actividad del fármaco.

¹⁷ Programas Educativos Especiales, Iladiba. (1999). “Enfoque Actual de la terapia antibiótica. En: Presencia UPR en la reforma de Salud y Educación Continua para el Médico Primario. N°5 de 1999. <http://www.iladiba.com.co/upr/1999/No51999/HTM/ANTIBIO.asp>

¹⁸ Torroba, L.; Rivero, M.; Otermin, I; Gil, A.; Iruin, A.; Maraví-Poma, E.; García Irure, J.J. Resistencia antimicrobiana y política de antibióticos: MRSA, GISA y VRE. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. Vol 23, Sup 1. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/biblio11/bsuple7.html>

¹⁹ Guevara Granados, J. (1997). Estado Actual de la Sensibilidad Antibiótica de Enterococo en dos laboratorios referenciales de Lima. Tesis para optar al Título de Médico Cirujano. Universidad San Martín de Porres.

²⁰ Canadian External Quality Assessment – Advisory Group for Antibiotic Resistance. (Noviembre de 1998). Guidelines on susceptibility testing of antibiotic-

resistant *Enterobacteriaceae* due to extended spectrum beta-lactamases (ESBLs).

Disponibile en www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/bmb/ceqaagar/esbl98_e.html

²¹ Iáñez Pareja, Enrique. (17 de agosto de 1998). Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. En: Iáñez Pareja, Enrique. Curso de Microbiología General. Universidad de Granada. España. http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/21_Micro.html#intro

²² Mestanza, Francisco y Pamo, Oscar. (1992). Estudio muestral del consumo de medicamentos y automedicación en Lima Metropolitana. Revista Médica Herediana 3: 101-108.

²³ Torres, C. y Zarazaga, M. (1998). Repercusiones en el Hombre del Consumo de Antibióticos por Animales. Revista Española de Quimioterapia. Disponible en: www.prous.com/seq/revista/0198/rev/.html

²⁴ Holmberg, S.D.; Wells, J.G.; Cohen, M.L. (1984). Animal-to-man transmission of antimicrobial-resistant *Salmonella*: investigations of US outbreaks, 1971-1983. *Science*; 225:833-835.

²⁵ Moren, P. (18 de febrero de 1999) Informe del Colegio Oficial de Médicos de Barcelona: Más autoridad para los expertos en nosocomiales. Disponible en: <http://www.diariomedico.com/sanidad/san180299combis.html>

²⁶ Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos. (2000). Recomendaciones del grupo MENSURA para la selección de antimicrobianos en el estudio de la sensibilidad y criterios para la interpretación del antibiograma. Revista Española de Quimioterapia Vol 13, N° 1. Disponible en <http://www.prous.com/seq/revista/0100/consen2.html>

²⁷ Ferraro, M.; Craig, W. y otros. (Enero de 1999) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Informational Supplement; Vol 19, N°1. NCCLS.