

Significado clínico de la resistencia antimicrobiana de las biocapas

Alex Soriano

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínic de Barcelona. España.

El tratamiento de la infección sobre cualquier tipo de implante es uno de los retos más importantes que debemos afrontar durante los próximos años. Por mencionar sólo dos ejemplos de su trascendencia basta recordar que la infección del catéter vascular es la infección nosocomial más frecuente y que la infección sobre cualquier tipo de implante, aunque poco frecuente (< 5%), tiene una morbi-mortalidad muy elevada y un coste sanitario considerable. La morbi-mortalidad de estas infecciones se debe fundamentalmente a la necesidad de retirar el implante para alcanzar tasas de curación superiores al 90%¹. En el caso de infecciones sobre prótesis articulares, en la inmensa mayoría de los casos, el tratamiento requiere dos intervenciones quirúrgicas (la primera para retirar el implante infectado y la segunda para la colocación del nuevo implante) y un período de inhabilitación entre ambas que puede tener consecuencias muy negativas en un paciente de edad avanzada. En caso de no retirarse el implante, la tasa de fracasos del tratamiento antibiótico es, en muchas ocasiones, superior al 50%². Esta elevada tasa de fracasos es debida a la resistencia a los antimicrobianos que exhiben los microorganismos que crecen en biopelículas sobre la superficie del implante³.

En los últimos 10 años nuestros conocimientos sobre esta forma de crecimiento bacteriano han aumentado de forma exponencial⁴. Sin embargo, hasta el momento se han desarrollado e implementado en el laboratorio muy pocas aplicaciones metodológicas destinadas a conocer mejor la actividad de los antimicrobianos frente a biopelículas. Por poner un ejemplo, aunque se ha demostrado que la concentración inhibitoria mínima (CIM) no traduce de forma fiel la actividad de un antibiótico frente a biopelículas^{5,6}, éste sigue siendo el parámetro utilizado para seleccionar un antibiótico en el tratamiento de estas infecciones.

En este número de ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Rodríguez-Martínez et al⁷ analizan la actividad de vancomicina y linezolid frente a biopelículas de *Staphylococcus epidermidis* preformadas sobre un catéter de silicona. El estudio hace dos observaciones importantes, la primera es la mayor actividad de linezolid en comparación con vancomicina frente a 2 cepas con CIM de 1 mg/l para ambos antibióticos. Si bien con anterioridad Curtin et al⁸ ya habían puesto de manifiesto la superioridad de linezolid frente a vancomicina en un modelo *in vitro* de infección de un catéter, es necesario destacar que el

trabajo de Rodríguez-Martínez et al aporta nuevos aspectos de gran interés clínico. En el estudio de Curtin et al los autores sellaron un catéter, previamente colonizado por *S. epidermidis*, con concentraciones 5.000 veces superiores al valor de la CIM de vancomicina o 1.000 veces la CIM de linezolid. A las 24 h del inicio del sellado con linezolid, el número de unidades formadoras de colonias se había reducido en 3 logaritmos y a las 72 h se alcanzó la esterilización de la superficie del catéter. En el caso de vancomicina, a las 24 h el descenso fue de 1 logaritmo y la esterilización sólo se alcanzó tras 10 días de sellado. Aunque estos datos revelaban la superioridad de linezolid, las concentraciones empleadas fueron muy superiores a las que se alcanzan con las dosis habituales empleadas en clínica. En cambio, Rodríguez-Martínez et al comparan concentraciones 1, 8 y 16 veces el valor de la CIM de linezolid y vancomicina, que se corresponden mejor con las concentraciones obtenidas con las dosis habituales. A estas concentraciones, linezolid también fue más eficaz que vancomicina, si bien en ningún caso se alcanzó la erradicación total de la biopelícula tras 24 h de exposición. Estos hallazgos sugieren que: a) linezolid podría ser más eficaz que vancomicina en este tipo de infecciones, y b) la necesidad de prolongar la duración del tratamiento antibiótico en este tipo de infecciones. Si bien no existen ensayos clínicos que comparen la eficacia de ambos antibióticos en este tipo de infecciones, en varios trabajos observacionales⁹⁻¹¹, linezolid ha mostrado tasas de curación elevadas que apoyan los resultados presentados por Rodríguez-Martínez et al.

La resistencia de bacterias planctónicas (libres) frente a los antibióticos se debe a modificaciones que tienen por objeto impedir la unión del antibiótico con su diana. Los mecanismos más habituales son la modificación de la diana, la reducción de la permeabilidad bacteriana, la expresión de bombas de expulsión activa o la síntesis de enzimas capaces de degradar el antibiótico. En todos los casos, existe un determinante genético que codifica estas variaciones. Los microorganismos que se hallan en el interior de una biopelícula, en comparación con sus homólogos libres, muestran una menor sensibilidad al antibiótico testado sin que pueda identificarse ninguna mutación adicional. Los mecanismos que actualmente se consideran responsables de esta resistencia pueden resumirse en: a) la dificultad de algunos antibióticos para difundir a través de la estructura polisacárida y polianiónica que envuelve a las bacterias¹²; b) la adaptación fenotípica, en forma de disminución de la actividad metabólica y duplicativa, que comporta una reducción de la eficacia de la mayoría de antibióticos¹³, pero especialmente de aquellos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana (betalactámicos, glucopéptidos) y en menor medida de los que

Correspondencia: Dr. A. Soriano.
Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínic de Barcelona.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: ASORIANO@clinic.ub.es

Manuscrito recibido el 17-4-2007; aceptado el 14-5-2007.

actúan bloqueando la síntesis proteica (rifampicina, linezolid), aspecto que podría explicar, al menos en parte, los hallazgos de Rodríguez-Martínez et al, y c) la presencia de una subpoblación de bacterias que se han denominado "persistentes" y que representan menos del 1% de la colonia¹⁴. Actualmente, los dos últimos se consideran más probables, puesto que son los que mejor justifican la capacidad de la biopelícula de sobrevivir a concentraciones de antibiótico incluso 1.000 veces por encima de la CIM. De hecho estas bacterias no son resistentes en el sentido habitual del término, es decir, no presentan alteraciones o mutaciones que impidan la unión del antibiótico a su diana, sino que son tolerantes. La tolerancia se produce cuando la unión del antibiótico a su diana no desencadena la cascada de episodios que conducen a la muerte bacteriana. A modo de ejemplo, los betalactámicos al interrumpir la síntesis de la pared, activan una serie de proteínas autolíticas que en última instancia son las responsables de la destrucción de la bacteria. Bacterias tolerantes a los betalactámicos son aquellas que tras la unión entre el antibiótico y la proteína fijadora de penicilina (PBP) no activan el sistema de autolisinas y la bacteria sobrevive en presencia de concentraciones elevadísimas de antibiótico¹⁵.

Ishida et al¹² estudiaron la capacidad de difusión de las quinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino), betalactámicos (ceftazidima) y aminoglucósidos (gentamicina) a través de una biocapa y observaron que los antibióticos ensayados con excepción de los aminoglucósidos difundían libremente a través de la biocapa. La dificultad de paso de los aminoglucósidos tiene fácil explicación si recordamos que se trata de antibióticos polares, con carga positiva y que la matriz de las biopelículas está constituida por polisacáridos con carga negativa que atrapan el aminoglucósido impidiendo su desplazamiento. A la luz de estos resultados, se había infravalorado la posibilidad de que otros antibióticos no polares como vancomicina pudieran presentar dificultades de difusión. De hecho, algunos trabajos posteriores observaron concentraciones altas de vancomicina en homogeneizados de biopelículas de *S. epidermidis*, si bien hay que aclarar que no se analizó el grado de difusión. Esto es importante puesto que probablemente la concentración de un aminoglucósido en el homogeneizado de una biopelícula es alta, pero al hallarse retenido en las capas superficiales de la biopelícula, tiene poco interés terapéutico.

La segunda aportación de gran interés del trabajo de Rodríguez-Martínez et al es el haber puesto de manifiesto la diferente capacidad de difusión a través de la biocapa de linezolid y vancomicina. La pobre difusión mostrada por vancomicina quizá pueda deberse a su elevado peso molecular. En cualquier caso, este hecho, junto con otros motivos comentados con anterioridad, podrían explicar las diferencias observadas en cuanto a la eficacia de ambos antibióticos frente a biopelículas.

Sin duda los resultados de Rodríguez-Martínez et al permiten avanzar en el conocimiento de la actividad de los antibióticos sobre biopelículas bacterianas. Recientemente, 2 grupos españoles han publicado sus resultados con el sellado de catéteres infectados utilizando vancomicina^{16,17}. Si bien los resultados cuando el microorganismo causal

era un estafilococo coagulasa-negativa fueron buenos (84 y 93%, respectivamente), en caso de *Staphylococcus aureus* la tasa de curación fue sólo del 45 y 33%, respectivamente. En el futuro es preciso averiguar si la elección de un antibiótico en base a su actividad *in vitro* frente a biopelículas se asocia a tasas de curación superiores a las observadas cuando la selección se hace exclusivamente en función del valor de la CIM frente a bacterias planctónicas. En este sentido, además de linezolid, nuevos agentes antiestafilocócicos como tigeciclina y daptomicina, han demostrado también una buena actividad *in vitro* frente a biopelículas¹⁸.

Bibliografía

- Brandt CM, Duffy MC, Berbari EF, Hanssen AD, Steckelberg JM, Osmon DR. *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection treated with prosthesis removal and delayed reimplantation arthroplasty. *Mayo Clin Proc.* 1999;74:553-8.
- Brandt CM, Sistrunk WW, Duffy MC, Hanssen AD, Steckelberg JM, Ilstrup DM, et al. *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection treated with debridement and prosthesis retention. *Clin Infect Dis.* 1997;24:914-9.
- Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1771-6.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284:1318-22.
- Widmer AF, Frei R, Rajacic Z, Zimmerli W. Correlation between *in vivo* and *in vitro* efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections. *J Infect Dis.* 1990;162:96-102.
- Zimmerli W, Frei R, Widmer AF, Rajacic Z. Microbiological tests to predict treatment outcome in experimental device-related infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 1994;33:959-67.
- José M. Rodríguez-Martínez JM, Ballesta S, García I, Conejo MC, Pascual A. Actividad y permeabilidad de linezolid y vancomicina en biocapas de *Staphylococcus epidermidis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:425-8.
- Curtin J, Cormican M, Fleming G, Keelehan J, Colleran E. Linezolid Compared with eperezolid, vancomycin, and gentamicin in an *in vitro* model of antimicrobial lock therapy for *Staphylococcus epidermidis* central venous catheter-related biofilm infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3145-8.
- Senneville E, Legout L, Valette M, Yazdanpanah Y, Bertrand E, Caillaux M, et al. Effectiveness and tolerability of prolonged linezolid treatment for chronic osteomyelitis: a retrospective study. *Clin Ther.* 2006;28:1155-63.
- Falagas ME, Siempos II, Papagelopoulos PJ, Vardakas KZ. Linezolid for the treatment of adults with bone and joint infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;29:233-9.
- Soriano A, Gómez J, Gómez L, Azanza JR, Pérez R, Romero F, et al. Efficacy and tolerability of prolonged linezolid therapy in the treatment of orthopedic implant infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:353-6.
- Ishida H, Ishida Y, Kurosaka Y, Otano T, Sato K, Kobayashi H, et al. *In vitro* and *in vivo* activities of levofloxacin against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:1641-5.
- Anderl JN, Zahller J, Roe F, Stewart PS. Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:1251-6.
- Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:999-1007.
- Lewis K. Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Mosc).* 2005;70:267-74.
- Fortún J, Grill F, Martín-Dávila P, Blázquez J, Tato M, Sánchez Corral J, et al. Treatment of long-term intravascular catheter-related bacteraemia with antibiotic-lock therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58:816-21.
- Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Calleja R, Ruiz I, Planes AM, Rodríguez D, et al. Antibiotic-lock therapy for long-term intravascular catheter-related bacteraemia: results of an open, non-comparative study. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57:1172-80.
- Raad I, Hanna H, Jiang Y, Dvorak T, Reitzel R, Chaiban G, et al. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus* bacteremic isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:1656-60.