

Resistencia bacteriana a los antibióticos

La resistencia bacteriana, traducida por la aparición de cepas refractarias al efecto bacteriostático y bactericida de los antibióticos, constituye un problema mundial de salud pública, ya que afecta de manera dramática el tratamiento ambulatorio y hospitalario de las infecciones producidas por esos microorganismos. Este fenómeno, que se incrementa de manera incesante, limita de forma progresiva las posibilidades de emplear antibióticos que en tiempos anteriores fueron activos, determinando un incremento en la tasa de morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas tanto en los países subdesarrollados como en los más avanzados.

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un aspecto particular de su evolución natural, seleccionada bajo la presión de los productos antibacterianos, tanto si se trata de antibióticos como de antisépticos o desinfectantes. Este fenómeno mundial incluye todos los gérmenes patógenos para el ser humano y las diversas clases de antibióticos. En los países en vías de desarrollo se acumulan factores agravantes puesto que una vez aparecidas las bacterias resistentes se multiplican y se diseminan en la comunidad, y al faltar tratamientos apropiados se vuelven endémicas. Aunque afecta también a los países desarrollados, las manifestaciones son más variables según los hábitos de prescripción, utilización de antibióticos y prácticas de higiene.

La investigación bacteriológica a lo largo de los últimos años demuestra la rápida progresión de la resistencia bacteriana a los antibióticos. En efecto, cada vez que se ha empleado un nuevo antibiótico las bacterias se han adaptado a él con mayor rapidez, necesitando en general sólo dos a cuatro años para desarrollar nuevos mecanismos de defensa.

Aunque para cada nueva forma de resistencia ha sido posible que la industria farmacéutica proporcionara un nuevo antibiótico, actualmente se ha llegado a una situación en que no se comercializa ninguna nueva clase de antibióticos, es decir, ninguna capaz de atacar una nueva bacteria, aunque se van produciendo modificaciones estructurales en moléculas de las diversas familias de estos fármacos. A pesar de ello nuestra reserva de antibióticos no es suficiente, ya que se presentan cepas capaces de resistirlos todos.

Durante los primeros tiempos del empleo de antibióticos el problema de la resistencia se limitaba al sector nosocomial, observándose en las infecciones denominadas

hospitalarias por el medio en que se desarrollaban. De hecho el hospital es un ecosistema particular en el cual la presión de selección hacia la resistencia es muy alta, puesto que se utilizan muchos antibióticos para tratar y prevenir las infecciones. Por otra parte, la diseminación de las resistencias se facilita por la alta densidad de enfermedades infecciosas, los desplazamientos y los actos terapéuticos del personal sanitario. Aunque las infecciones hospitalarias en gran parte se deben a bacterias patógenas, se incrementa la participación en estos procesos de las llamadas bacterias oportunistas o comensales, que forman parte de las floras naturales del entorno y del organismo humano, y por considerarlas poco peligrosas inicialmente, no se crearon antibióticos para combatir- las, por lo cual son generalmente poco sensibles a los antibióticos actuales.

Durante la última década nuevas especies de bacterias, entre ellas las oportunistas, se han hecho resistentes y la multirresistencia se ha extendido más allá del medio hospitalario, constituyendo un motivo de preocupación para la medicina ambulatoria que hoy se enfrenta también al fenómeno de la multirresistencia. Ésta puede provenir del hospital o surgir en la comunidad bajo la presión selectiva de los antibióticos y su difusión tiene lugar en las familias, las escuelas, las guarderías y las residencias de ancianos.

La resistencia de las bacterias a los antibióticos puede ser natural, provenir de mutaciones o bien originarse por transferencia de genes. Cuando todas las cepas pertenecientes a la misma especie son resistentes a un antibiótico, se habla de resistencia natural. Ésta puede producirse por particularidades de la pared bacteriana que impiden acceder el antibiótico a su blanco, es el caso de las bacterias gramnegativas que son impermeables a la penicilina G. En otros casos algunas bacterias como los micoplasmas carecen de una pared celular típica y son resistentes a las penicilinas. También el organismo puede alterar el antibiótico pasándolo a una forma inactiva por la producción de enzimas que hidrolizan o modifican la molécula. Cuando la resistencia bacteriana sólo aparece en algunas cepas de una especie normalmente sensible se habla de resistencia adquirida, que es la forma más habitual de su presentación y puede ser por mutación o por la adquisición de nuevos genes. La resistencia por mutación sólo afecta a un pequeño porcentaje (del 1% al 2%) de cepas aisladas en clínica. El fenóme-

no de la mutación aparece espontáneamente con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-9} , según el tipo de bacterias y las características ambientales. La contribución del antibiótico es seleccionar los mutantes que aparecen en la población bacteriana sensible.

La probabilidad de obtener por mutación bacterias resistentes a dos o más antibióticos es igual al producto de la probabilidad de cada una de las mutaciones consideradas independientes. Como consecuencia de la rareza de estos acontecimientos, la utilización de una combinación de antibióticos parecía poder prevenir la emergencia de mutantes resistentes al no dejar ningún superviviente. En algunos casos algunas mutaciones cromosómicas pueden conferir resistencia simultánea a varios antibióticos pertenecientes a familias diferentes, haciendo inútil la aplicación de una terapia antibiótica múltiple. En efecto, en el medio hospitalario se aíslan regularmente gérmenes multirresistentes a los betalactámicos, cloramfenicol, trimetopim y tetraciclinas. La causa de esta multirresistencia es la mutación que modifica unas moléculas llamadas porinas que permiten el paso de estos antibióticos a través de la pared bacteriana y provocan la impermeabilidad de la célula bacteriana. Este tipo de resistencia se da con particular frecuencia en algunas enterobacterias como *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia*.

Mucho más rara es la aparición de un nuevo tipo de resistencia como consecuencia de una o varias mutaciones puntuales que modifican un gen de resistencia ya conocido, ampliando sus efectos. Es el caso de los genes que codifican algunas betalactamasas que inactivan las cefalosporinas derivando por mutación de un gen que codifica una enzima cuya especificidad se restringía a las penicilinas. A consecuencia de esta mutación la enzima producida posee ahora una doble actividad que afecta tanto a penicilina como a cefalosporinas.

A pesar de la importancia de estos fenómenos citados es necesario señalar que la gran mayoría de los casos de resistencia bacteriana, alrededor del 80% de los demostrados en clínica, provienen de la información genética exógena.

La presencia de estos nuevos genes en las bacterias codifican enzimas cuya actividad permitirá que la célula se defiende del antibiótico a través de diversas estrategias. En la interferencia el mecanismo de resistencia más extendido en la naturaleza, la bacteria, sintetiza una enzima que modifica el antibiótico y lo hace inofensivo. La inactivación puede ser intracelular en el caso de antibióticos cuyos blancos son citoplasmáticos (aminoglucósidos y cloranfenicol). En cambio, las betalactaminas actúan sobre blancos extracelulares y se excretan al medio de cultivo en el caso de bacterias grampositivas o en el espacio periplásmico (situado entre la membrana y la pared celular) cuando se trata de bacterias gramnegativas. Estas enzimas inactivan el antibiótico antes de que alcance su blanco.

Otra estrategia de resistencia es el camuflaje mediante el cual la bacteria modifica el blanco del antibiótico para

hacerlo insensible a su acción. Este tipo de resistencia afecta a los macrólidos frente a las bacterias grampositivas. Estos antibióticos actúan sobre un componente de los ribosomas que son indispensables para la síntesis de proteínas. Las bacterias resistentes sintetizan una metilasa que modifica el ARN del ribosoma bacteriano de modo que el antibiótico pierde su afinidad por este ribosoma modificado. También el blindaje contribuye a la aparición de resistencias cuando la bacteria sintetiza una bomba en la membrana que expulsa el antibiótico fuera de la bacteria, de modo que su concentración intracelular será insuficiente para ser tóxica. Este mecanismo se presenta frente a las tetraciclinas y macrólidos.

Una nueva posibilidad de resistencia es la sustitución en el blanco de una molécula por otra no vulnerable de modo que coexisten en la misma bacteria dos moléculas diferentes, una sensible y la otra no, que poseen la misma función. Es decir, la célula bacteriana se vuelve diploide para este carácter puesto que posee dos informaciones genéticas para el mismo rasgo. En el caso de que el fenotipo resistente domine al fenotipo sensible se observará la resistencia como ocurre en el caso de las sulfamidas y el trimetopim. En los enterococos resistentes a la vancomicina el operón van permite, además de la síntesis del nuevo blanco insensible al antibiótico, suprimir la síntesis del blanco primitivo.

El mecanismo de transferencia de genes entre bacterias permite una difusión rápida y extensa de la información genética. Se producen estas transferencias tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas y se califican como horizontales, ya que se dan con independencia de todo mecanismo de reproducción. Cuando el fenómeno se presenta durante la reproducción bacteriana se habla de transferencia génica vertical. Los mecanismos diferentes que permiten esta transferencia horizontal son la transducción, la transformación y la conjugación.

En la transducción el vector es un virus bacteriano, es decir, un bacteriófago que es capaz de transferir un fragmento de ADN de una bacteria a otra. El virus bacteriano, al ingresar en la bacteria susceptible, induce una nucleasa que fragmenta el cromosoma bacteriano a la vez que se forma el ADN vírico y sus proteínas de envoltura. Algunas de estas proteínas incluyen ADN fragmentado bacteriano que al infectar a una nueva bacteria puede introducir algunos nuevos genes, entre ellos los causantes de la resistencia bacteriana a los antibióticos. La transducción es un mecanismo de transferencia muy eficaz, pero debido a la estrecha especificidad de la relación virus-bacteria está limitada a intercambios entre microorganismos filogenéticamente próximos, fundamentalmente pertenecientes al mismo género.

La transformación permite la adquisición y la incorporación de ADN exógeno desnudo. En este caso un fragmento de ADN presente en el medio externo es captado por la bacteria. Cuando las bacterias mueren y su membrana ha

sido más o menos destruida liberan fragmentos de ADN que pueden ser captados por otras bacterias. Este modo de transferencia de genes es bastante generalizado y se ha descrito en algunas bacterias gramnegativas pertenecientes a los géneros *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Haemophilus* y *Neisseria* y en algunas bacterias grampositivas pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Streptococcus*. Con la excepción notable de *Neisseria* y *Haemophilus*, en los que el ADN sólo penetra en la bacteria en forma de pequeños fragmentos de nucleótidos específicos del género, la transformación permite una mezcla de informaciones genéticas entre bacterias muy distantes en el plano filogenético. A diferencia de otros mecanismos que dependen de parámetros más específicos, la información transmitida por el mecanismo de transformación es de carácter universal y puede ser asimilada por cualquier bacteria, incluso permite la creación de genes quimeras muy resistentes a los antibióticos.

La conjugación es un proceso durante el cual el ADN se transfiere de una bacteria donante a una bacteria receptora por medio de un mecanismo que implica un estrecho contacto celular. Este modo de transferencia ha sido descrito en casi la totalidad de las especies bacterianas y es responsable de la mayoría de transferencias horizontales. Su mecanismo es singular, de modo que uno solo de los dos filamentos de ADN del cromosoma bacteriano se transmite de la bacteria donante a la bacteria receptora. Esta última adquiere la resistencia a través de la hebra transferida mientras que la donante conserva esta misma propiedad a través de la información contenida en la hebra conservada. Ambas bacterias, la donante y la receptora, sintetizan de nuevo la hebra complementaria, de modo que al final de la conjugación cada uno de los microorganismos posee una doble hebra de ADN, lo que amplía notablemente la resistencia. Aunque es posible un amplio espectro de posibilidades de conjugación, la transferencia de un gen de resistencia entre dos géneros patógenos será más eficaz cuanto menor sea la diferencia genética entre las bacterias implicadas. Aun así se han demostrado transferencias horizontales de genes de resistencia entre bacterias grampositivas a las gramnegativas; en la mayoría de casos los genes transferidos están situados en estructuras genéticas móviles denominadas plásmidos y transposones.

Los plásmidos son fragmentos circulares de ADN bicatenario de longitud variable que contienen genes de resistencia y poseen la capacidad de replicarse en forma independiente del sistema de duplicación del material genético de la bacteria. Una bacteria puede albergar varios plásmidos y también es posible que un mismo plásmido vehicule varios genes de resistencia, en cuyo caso un solo plásmido puede determinar en un huésped la resistencia a cinco o seis familias de antibióticos, de modo que permite a la bacteria volverse multirresistente en una sola etapa. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que los plásmidos pueden adquirir sucesivamente diferentes genes de resistencia. Esto es posible por

la existencia de transposones que son secuencias de ADN de doble cadena que albergan uno o varios determinantes de resistencia a los antibióticos y pueden ser translocados, como unidades independientes, entre un cromosoma y un plásmido o entre plásmidos distintos dentro de una bacteria. Estos elementos génicos poseen un sistema de recombinación propio que les permite el intercambio aleatorio entre secuencias no homólogas de ADN, insertando así genes de resistencia en el cromosoma. De hecho, permiten la translocación de los genes de resistencia del cromosoma bacteriano a un plásmido o de un plásmido a otro de tal forma que se amplían enormemente las posibilidades de transferencia de la información. El transposón participa activamente en la diseminación de genes entre bacterias filogenéticamente alejadas. Es probable que el origen de la emergencia de cepas multirresistentes de *Haemophilus influenzae*, que hasta 1972 era sensible a todos los antibióticos, se haya producido por este mecanismo. Efectivamente se ha comprobado que esta resistencia es debida a la presencia en plásmidos endógenos del género *Haemophilus* de transposones homólogos a los descritos en las enterobacterias. Un nuevo ejemplo significativo es la diseminación de la resistencia a la gentamicina de los estafilococos a los enterococos que se observó en los años ochenta y que ahora se asiste a la emergencia de esta resistencia en otros estreptococos.

En cuanto al origen de los plásmidos de resistencia múltiple a los antibióticos, aunque no hay una evidencia científica específica, diversos hechos sugieren que éstos existían antes de la era antibiótica, de modo que el uso de antibióticos proporcionó condiciones adecuadas para la dispersión de plásmidos con uno o más genes de resistencia. Efectivamente, una cepa de *E. coli* congelada en 1946 contenía un plásmido con genes que conferían resistencia a la tetraciclina y a la estreptomina a pesar de que ninguno de estos antibióticos se había utilizado en aquellas fechas. También se demostró que algunas cepas que llevaban el plásmido con genes de resistencia a las penicilinas semisintéticas existían mucho antes del empleo de estos antibióticos. Otro hecho de gran significado ecológico es que los plásmidos que confieren resistencia a los antibióticos han sido detectados en algunas bacterias no patógenas habitantes del suelo. Algunas de estas bacterias son productoras de antibióticos y deben protegerse frente a sus propias sustancias tóxicas utilizando mecanismos de resistencia similares a los que se encuentran en las bacterias patógenas mediante genes implicados en la supervivencia de estas bacterias. La comparación de las secuencias nucleótidas de los genes que codifican sustancias para los mecanismos de resistencia señala que son similares en los microorganismos productores de antibióticos y en las bacterias patógenas multirresistentes.

J. Oromí Durich

Profesor Titular de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Barcelona.

