

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS
"DR SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ"
SANTA CLARA, VILLA CLARA

COMUNICACIÓN

INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA: INFERENCIAS A NIVEL MOLECULAR DE MECANISMOS DE RESISTENCIA EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Por:

Dr. Rafael Marcel Ranzola¹, Dr. Ariel Pérez Trufin¹ y Dra. Cristina Montoya Rey²

1. Especialista de I Grado en Medicina General Integral y en Bioquímica Clínica. Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz". Santa Clara, Villa Clara. Asistente. UCM-VC.
2. Especialista de I Grado en Endocrinología. Asistente. Instituto Nacional de Endocrinología. Ciudad de La Habana.

Descriptor DeCS:

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD MICROBIANA
PSEUDOMONA AERUGINOSA/aislamiento &
purificación
RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Subject headings:

MICROBIAL SENSITIVITY TESTS
PSEUDOMONA AERUGINOSA/Isolation &
purification
ANTIBIOTICAL RESISTANCE

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos es uno de los grandes problemas que afectan a la humanidad, en general, y a la comunidad científica internacional, en particular^{1,2}. Uno de los microorganismos en los que se ha informado un mayor número de cepas multirresistentes es la *Pseudomonas aeruginosa* (PA), bacilo gramnegativo aerobio no fermentador³⁻⁵. Este germen contiene múltiples mecanismos que lo convierte en un microorganismo muy virulento, como la presencia de fimbrias, la producción de un exomucopolisacárido conocido por alginato (biofilm), la producción de exoenzimas, como la A y la S, y los receptores de citoadhesinas en las células epiteliales^{1,2}.

Además de todas estas expresiones fenotípicas, también cuenta con otros mecanismos que le confieren resistencia natural o adquirida a los antimicrobianos; de ellos se destaca la presencia, en su estructura externa, de un lipopolisacárido (LPS) que le permite a dicho germen inmunidad natural por impermeabilidad a diferentes antibióticos, como los macrólidos, las tetraciclinas, el cloranfenicol y las cefalosporinas de primera y de segunda generación, en menor grado^{1,2}. Los mecanismos de resistencia adquirida son varios, entre ellos:

- 1) La producción de betalactamasas.
- 2) La alteración de la permeabilidad debido a la pérdida o disminución de las porinas.
- 3) La modificación del sitio blanco de unión del antimicrobiano.
- 4) La sobreexpresión de las bombas de expresión.

Las betalactamasas son enzimas producidas por las bacterias capaces de hidrolizar el anillo betalactámico, presente en la estructura de un buen número de antibióticos que quedan inactivados por su efecto. Las enzimas se clasifican en penicilinasas, cefalosporinasas,

carbapenemasas y las llamadas betalactamasas de espectro amplio (BLEE), capaces de destruir a todos los betalactámicos, excepto los carbapenémicos³⁻⁵.

Dentro de las BLEE se pueden encontrar la TEM, la SHV y la OXA, capaces de hidrolizar a monobactámicos (como el aztreonam), penicilinas y cefalosporinas; estas enzimas son codificadas por plásmidos y pueden ser transferidas a otros gérmenes gramnegativos o adquiridas de estos. La BLEE más aislada en la PA es la Amp C, capaz de inactivar a la penicilina y a la cefalotina, y es codificada a nivel del ADN cromosómico, por lo que su presencia en cultivos es causada más bien por una expansión clonal que por una transferencia por plásmidos³⁻⁵.

En los últimos años, se ha conocido de la presencia de un nuevo tipo de BLEE: las metalobetalactamasas, debido a que son activadas por ciertos metales, como el cinc y otros, presentes en determinados catéteres urinarios y capaces de inactivar a todos los betalactámicos conocidos, incluidos los carbapenémicos. Estas terribles enzimas son codificadas por ADN no cromosómico (plásmidos), de ahí su importancia epidemiológica para evitar su expansión a otros servicios^{5,6}.

Las porinas son proteínas membranales, cuya función principal en las bacterias es permitir el ingreso de los aminoácidos básicos y, a la vez, son la puerta de entrada de ciertos antibióticos, como los carbapenémicos. La resistencia aislada a estos antibióticos denota la presencia de este mecanismo de resistencia. Las mutaciones en el gen cromosómico que codifica dicha proteína de transporte, sobre todo la del gen opr D, puede provocar la pérdida o disminución de su expresión y, por lo tanto, impedir la entrada de dicho fármaco^{1,5,7,8}.

Otro mecanismo de resistencia en la bacteria estudiada es la mutación de la proteína de unión al sitio de acción de los antimicrobianos, como es el caso de la proteína que une a las quinolonas con las enzimas topoisomerasas^{1,3,5}.

Pero, en realidad, el mecanismo de resistencia más temido en la PA, capaz de conferirle la multiresistencia, es el causado por la mutación en el gen cromosómico que codifica a determinadas proteínas llamadas bombas de expulsión; la consecuencia de esta mutación es la sobreexpresión de estas proteínas^{1,3,5,8}.

Las BE son complejos enzimáticos transmembranales cuyo normal funcionamiento le permite a la bacteria expulsar, por transporte activo, ciertos compuestos como los detergentes, pero cuando dichas BE están sobreexpresadas son capaces de eliminar, según su tipo, a todos los quimioterápicos conocidos de espectro antipseudomónico^{1,3,5,8}. Se plantea que una simple mutación puntual es capaz de producir su sobreexpresión, razón por la cual se selecciona este mecanismo, ya que con enorme ahorro en metabolitos y energía, esta bacteria puede adquirir la multiresistencia^{5,8}.

Las BE más expresadas en las cepas de pseudomonas son las Mex AB OprM, capaces de expulsar en contra de un gradiente a quinolonas, penicilinas, cefalosporinas, meropenem, pero no al imipenem. La Mex EF Opón, sin embargo, elimina de la bacteria a quinolonas, imipenem y meropenem, y la Mex XY OprM es capaz de expulsar a betalactámicos, meropenem aminoglucósidos, pero tampoco elimina al imipenem^{5,8}.

Resulta extremadamente importante, para microbiólogos y terapeutas, conocer los mecanismos moleculares de resistencia que prevalecen en un momento dado en los diferentes servicios hospitalarios. Tener este conocimiento nos da la ventaja de poder utilizar drogas más efectivas, y de orientar adecuada y racionalmente el uso de antimicrobianos que evadan dichos mecanismos de resistencia que predominan en determinado servicio^{2,9,10}.

Un método relativamente fácil, económico y eficaz para determinar los mecanismos moleculares de resistencia presentes, es el uso de la lectura interpretativa del antibiograma (LIA)^{2,9,10}.

Si se analiza el patrón de resistencia de un determinado germen, con más profundidad que la habitual, nos permite inferir empíricamente cuáles son los mecanismos moleculares de resistencia que se encuentran subyacentes y que son predominantemente utilizados por la mayoría de las cepas de un germen en determinado servicio hospitalario; se debe tener en cuenta que la expresión fenotípica de determinado patrón de resistencia es producto de la dotación genética, adquirida o no, de un microorganismo^{2,9,10}.

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son siempre categorizados según las interpretaciones fenotípicas de laboratorio: el microorganismo es informado como susceptible o resistente a un antibiótico determinado. El clínico, generalmente, toma decisiones terapéuticas de acuerdo con esta información, sin tener presente que estos datos son el reflejo de procesos

moleculares. Courvalin introdujo el concepto de lectura interpretativa de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana⁹. La lógica de este enfoque se basa en:

- 1) La caracterización del fenotipo de resistencia con la evaluación apropiada de antibióticos pertenecientes a una misma clase.
- 2) La deducción del mecanismo bioquímico y molecular, de acuerdo con el fenotipo observado.
- 3) La selección del antimicrobiano apropiado según estos indicadores.

Un ejemplo práctico que evidencia lo expuesto con anterioridad lo constituye el aislamiento de una cepa de PA en determinado servicio que presente el siguiente patrón fenotípico de resistencia: sensible a la gentamicina, la amikacina, la ciprofloxacina, el imipenem, y resistente a la ceftazidima, ticarcilina y carbenicilina. Este patrón fenotípicamente sería altamente sugestivo de resistencia mediada por betalactamasas, específicamente por la Amp C y, en este caso, la opción terapéutica más eficaz sería el uso de los carbapenémicos, y siempre combinados con aminoglucósidos o quinolonas, pero al estar la enzima Amp C codificada en el ADN cromosómico de la bacteria, no constituye gran riesgo epidemiológico a la hora de transmitirse a otros gérmenes gramnegativos, como lo sería si estuviera codificada en el ADN extracromosómico (plásmidos).

Otra ventaja de la aplicación de la LIA es que, indudablemente, constituye un método en extremo económico y de gran utilidad, en aquellos laboratorios que carecen de técnicas de tipificación molecular (PCR), para inferir los mecanismos moleculares de resistencia en determinada cepa bacteriana.

Referencias bibliográficas

1. Valdez Fernández-Baca LM. Resistencia antibiótica. Rev Med Hered [Internet]. 2003 [citado el 8 de enero de 2009];14(4):[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/famed/rmh/14-4/v14n4e1.pdf>
2. Arias C, Panesso D, Zúñiga M. Guías para el uso racional de antibióticos, mecanismos de resistencia y su interpretación clínica. Biomédica [Internet]. 2003 [citado el 8 de enero de 2009];23:[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/843/84323203.pdf>
3. Pérez Monras MF, Battle Almodóvar MC, Verdura Hernández J, Llop Hernández A. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de Pseudomonas aeruginosa procedentes de pacientes con fibrosis quística. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2006 [citado el 3 de marzo de 2009];58(3):[aprox. 2 p.]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol58_3_06/mtr06306.htm#creditos
4. Alcides Zambrana F, Nelson Herrera A. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de Pseudomona Aeruginosa aisladas en el Hospital Regional "Dr. Leonardo Guzmán" de Antofagasta Chile. Rev Chil Infect [Internet]. 2004 [citado el 12 de enero de 2009];21(2):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v21n2/art03.pdf>
5. Gómez Álvarez CA, Leal Castro AL, Pérez de González MJ, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en Pseudomona aeruginosa, entendiendo a un peligroso enemigo. Rev Med Unal [Internet]. 2004 [citado el 28 de abril de 2009];53(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.revmed.unal.edu.co/revistafm/v53n1/a3n1v53.html>
6. Villegas MV, Olivera MR. First detection of metallo-lactamase VIM-2 in Pseudomona aeruginosa isolates from Colombia. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2006 [citado el 18 de enero de 2009];50(1):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1346812/>
7. Gamero Delgado MC, García Mayorgas AD, Rodríguez F, Ibarra A, Casal M. Sensibilidad y resistencia de Pseudomonas aeruginosa. Rev Esp Quimioterap [Internet]. 2007 [citado el 23 de marzo de 2009];20(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://www.seq.es/seq/02143429/20/2/gamero_nota%20corta.pdf
8. Murillo Llanes N, Sosa Quintero LS, López Castro GM. Patrón de resistencia antimicrobiana en el Hospital General de Culiacán. A S Sin [Internet]. 2009 [citado el 27 de febrero de 2009];3(2):

[aprox. 8 p.]. Disponible en:

http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=57891&id_seccion=2998&id_ejemplar=5861&id_revista=178

9. Crespo MP. La lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colomb Méd [Internet]*. 2002 [citado el 17 de marzo de 2009];33:[aprox.14 p.]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=28333406>
10. Noriega LM. ¿En qué ayuda el antibiograma al médico clínico en la atención de sus pacientes? *Rev Chil Infect [Internet]*. 2004 [citado el 15 de febrero de 2009];21(Supl 1):[aprox.9 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v21s1/art07.pdf>

Recibido: 11 de enero de 2010

Aprobado: 7 de abril de 2010