

La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación

CRISTINA EUGENIA CABRERA, M.Sc.¹, ROMMEL FABIÁN GÓMEZ, B.Sc.²,
ANDRÉS EDMUNDO ZÚÑIGA, B.Sc.³

RESUMEN

La resistencia a múltiples sustancias es un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos. El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficiencia la acción bactericida de algunos agentes. En la actualidad se intenta dilucidar si hay mecanismos compartidos entre antibióticos, antisépticos y desinfectantes que les permita a las bacterias y otros microorganismos activar genes que potencialmente expresen los cinco mecanismos propuestos hasta ahora como respuesta evolutiva a la intervención humana. La presente revisión examina el estado del arte de los mecanismos mencionados, con énfasis en los que actualmente utilizan las bacterias que causan brotes de resistencia en centros hospitalarios.

Palabras clave: Resistencia bacteriana a drogas; Antisépticos; Antibióticos; Desinfectantes.

Resistance to bacterial antibiotics, antiseptics and disinfectants a manifestation of the survival and adaptation mechanisms

SUMMARY

Resistance to multiple substances is a problem of public health coming to world-wide level observation since the appearance of antibiotics. Indiscriminate use of antibiotics and the environmental selective pressure made by antiseptics and disinfectants have generated a survival answer in the microorganisms, enabling them to efficiently evade the bactericidal action of some agents. Nowadays the time has come to try to explain if mechanisms shared among antibiotics, antiseptics and disinfectants allow bacteria and other germs to activate genes that potentially express the five mechanisms proposed until now as an evolutionary answer to man's intervention. The present review examines the state-of-the-art of the mentioned mechanisms, with emphasis about the resistance mechanisms performed by nosocomial bacteria in hospitals centers.

Keywords: Bacterial drugs resistance; Antiseptics; Antibiotics; Disinfectants.

En el siglo XX el descubrimiento de los antibióticos se convirtió en la solución a las múltiples enfermedades producidas por agentes infecciosos. Las bacterias como todos los seres vivos exhiben mecanismos biológicos, que las facultan para adecuarse a diversas presiones ambientales. Aunque la resistencia a los antibióticos es una

expresión natural de la evolución y genética bacteriana, ciertos factores también contribuyen al aumento de la expresión y diseminación de esta característica inherente. El incremento en el uso de antibióticos y la respectiva presión selectiva que ejercen, es el factor más importante que contribuye a la aparición de diversas clases de resis-

1. Docente, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre Seccional Cali, Colombia. Grupo de Investigación en Microbiología Molecular, Universidad Libre, Seccional Cali y Profesora Auxiliar, Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia. e-mail: criseuca@gmail.com
 2. Docente, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre Seccional Cali, Colombia y Grupo de Investigación en Microbiología Molecular, Universidad Libre, Seccional Cali, Colombia. e-mail: rofagom@gmail.com
 3. Docente, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre Seccional Cali, Colombia y Estudiante de Maestría en Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Valle, Cali, Colombia. e-mail: biogenex@gmail.com
- Recibido para publicación noviembre 29, 2006 Aceptado para publicación abril 16, 2007

tencia bacteriana¹. En los últimos sesenta años se ha hecho notorio el impacto de la respuesta de estos microorganismos a la presión selectiva que ejercen los antisépticos y desinfectantes, así como los compuestos químio-terapéuticos más utilizados en los brotes de infecciones en los hospitales del mundo.

En uno de los pocos estudios hechos en países en vía de desarrollo, se evaluó la tendencia en la resistencia de aislados de un hospital taiwanés entre 1981 y 1999. Aunque el número de infecciones causadas por enterococos no cambió notablemente durante el período del estudio, se observó que la incidencia de enterococo resistente a vancomicina se elevó de 3% a 50% entre 1995 y 1999 y los datos muestran un ajuste cercano a una tendencia exponencial².

Según estudios epidemiológicos, América Latina se encuentra entre las regiones con más alta incidencia de brotes nosocomiales producidos por bacterias que presentan resistencia a múltiples antibióticos. También en los últimos años se ha visto un interés marcado por evidenciar la presencia de mecanismos de resistencia cruzada tanto para antisépticos y desinfectantes como para antibióticos. En la actualidad estos estudios se adelantan en otros continentes mientras los estudios a nivel nacional son elementales y los datos epidemiológicos los recopilan las secretarías de salud y las instituciones de investigación en este campo³.

GENERALIDADES

La resistencia que ejercen las bacterias a los antibióticos, antisépticos y desinfectantes, es un problema de salud pública que se creía superado. Desde el descubrimiento de los primeros antibióticos, los microorganismos han sido capaces de evadir su acción. Un ejemplo que ofrece muestras evolutivas de resistencia, es la bacteria *Staphylococcus aureus*, que en 1946 presentaba la mayoría de sus cepas sensibles a la penicilina; en la actualidad casi todas las cepas hospitalarias, son resistentes a bencilpenicilina y algunas lo son a meticilina, gentamicina o a ambas y sólo se pueden tratar con vancomicina⁴. Además, en los últimos 25 años la comunidad ha adquirido microorganismos resistentes a múltiples fármacos, por ejemplo *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus pneumoniae*, que, al aumentar, causan infecciones en ambientes nosocomiales; y dejan en claro que la resistencia a los fármacos consti-

tuye un problema de salud pública extremadamente grave^{4,6}. Durante los últimos veinte años el uso indiscriminado de estos productos ha hecho que las bacterias dotadas de múltiples mecanismos (bioquímicos, genéticos-moleculares y celulares) desarrollen estrategias inherentes y adquiridas, que les permiten evadir con efectividad la acción de estos compuestos. Se calcula que más de 50% de las prescripciones médicas de antibióticos en los hospitales, se ordenan sin pruebas claras de infección o sin una indicación médica adecuada⁷. Otros factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia son:

1. Las medidas ineficientes para el control de infecciones en los centros hospitalarios;
2. La falta de campañas educativas en el uso y manejo de los medicamentos, debido a las condiciones de pobreza e ignorancia en las prescripciones.
3. La severidad de las enfermedades y el manejo de pacientes en las unidades de cuidados intensivos.
4. La colonización previa por microorganismos con resistencias múltiples.
5. Los procedimientos invasivos como cateterización y diálisis.
6. El uso de antibióticos en agricultura y acuicultura ocasiona la presencia de residuos de antibióticos en la carne de los animales y la selección de bacterias resistentes en los intestinos de los animales de consumo humano, llevan a una exposición directa de los consumidores a estos fármacos. Además, se pueden encontrar gérmenes resistentes en los alimentos de origen vegetal cuando se irrigan con aguas residuales o cuando se aplican antibióticos a los cultivos.
7. Factores del medio: La presencia de bacterias resistentes en nacimientos de agua se ha documentado en varias partes del mundo. La resistencia se puede deber a la producción natural de antibióticos por bacterias del suelo, que actúan como reservorios naturales de genes de resistencia y suministran el principio de genes transferibles.
8. El uso de elementos para limpieza casera, ha incrementado de modo notorio en los últimos años. Las sustancias antibacterianas añadidas a estos elementos son semejantes a los antibióticos en su acción y pueden apresurar la resistencia en ciertas cepas^{1,6,8}.

La infección bacteriana es un proceso complejo donde interactúan tanto la bacteria como el estado inmunológico, fisiológico y genético del hospedero. En este contexto los gérmenes oportunistas se convierten en los principales

actores de las infecciones nosocomiales en individuos con inmunodeficiencias, con daños en las barreras de sus epitelios o con enfermedades previas^{9,10}. En la interacción hospedero-parásito hay un nuevo elemento fruto de la «evolución cultural» humana, los antimicrobianos, que han sido efectivos en el tratamiento de la infección. Sin embargo, las bacterias se han hecho resistentes a los mismos. Una vez que se introduce un antibiótico en el mercado, la aparición de cepas con resistencia es cuestión de tiempo, y demuestra que el medicamento que más se prescribe en un momento dado, es al que las bacterias desarrollan la resistencia^{1,11}. Las cepas resistentes a antibióticos aparecieron al principio en hospitales donde éstos se usaban frecuentemente¹². *Str. pyogenes* resistente a las sulfonamidas emergió en hospitales militares en la década de 1930¹³. *Staph. aureus* resistente a las penicilinas apareció poco después de iniciarse el uso de este antibiótico en hospitales civiles de Londres en la década de 1940. De manera similar *M. tuberculosis* resistente a estreptomycin surgió en la comunidad poco después del descubrimiento de este antibiótico¹⁴.

La resistencia a múltiples fármacos se descubrió en enterobacterias como *Escherichia coli*, *Shigella* y *Salmonella* a finales de la década de 1950 y comienzos de la década de 1960^{15,16}. Debido al uso indiscriminado de antimicrobianos, la resistencia se diseminó en diferentes bacterias y se hizo más común, no sólo en países en vía de desarrollo, donde los antibióticos se consiguen sin prescripción médica, sino en países del primer mundo, donde su suministro se lleva a cabo bajo controles más estrictos¹⁴.

Con el fin de hacer claridad, se unificarán varias palabras importantes para esta revisión. «Biocida» es un término general para describir una sustancia química, usualmente de amplio espectro, que inactiva los microorganismos. Como los biocidas se relacionan con actividad antimicrobiana, otros vocablos pueden ser más específicos, por ejemplo «-estático», que se refiere a agentes que inhiben el crecimiento (e.g., bacteriostático, fungiestático y esporostático) y «-cida», que hace referencia a agentes que matan al organismo blanco (e.g., esporicida, virucida y bactericida). «Antibiótico» se define como una sustancia orgánica, natural o sintética, que inhibe o destruye en forma selectiva bacterias y otros organismos, generalmente a bajas concentraciones; los antisépticos son biocidas o sustancias que destruyen o inhiben el crecimiento de microorganismos y que son seguros para su aplicación en

tejido vivo y los desinfectantes son similares, pero por lo general son sustancias o biocidas que se usan sobre objetos inanimados o en superficies. Los desinfectantes pueden ser esporostáticos, pero no son esporocidas¹⁷⁻¹⁹.

Desde siglos atrás se emplean compuestos como la sal para conservar los alimentos, las vasijas de plata y cobre en el almacenamiento de agua potable, la miel y el vinagre para la limpieza de heridas. Luego se utilizaron compuestos yodados como desinfectantes de heridas, agua clorada en pacientes obstétricas, alcohol como desinfectante de manos y fenol tanto en la limpieza de heridas como en cirugías antisépticas²⁰.

Los antisépticos y desinfectantes se usan ampliamente en hospitales, centros de salud y laboratorios en los procesos de control y desinfección y sobre todo en la prevención de infecciones nosocomiales²¹.

La resistencia bacteriana a los biocidas fue descrita en las décadas de 1950 y 1960 y ha ido en aumento. Ciertos biocidas como alcoholes, formaldehídos, biguanidas, yodoforos, aldehídos y agentes catiónicos como los compuestos de amonio cuaternario (CUAs), la clorhexidina y el triclosán se han comprometido como posibles causantes de la selección y persistencia de cepas bacterianas con bajo nivel de resistencia a los antibióticos²⁰.

El uso generalizado de antisépticos y desinfectantes genera expectativas sobre la resistencia bacteriana provocada por la presión ambiental que ejercen los productos ya mencionados, y enfoca el interés hacia la posible resistencia cruzada con antibióticos¹⁷.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES

En la actualidad se ha obtenido un avance considerable en la comprensión de la respuesta de las bacterias a los bactericidas. La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo (intrínseca) o conseguida por mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles). Los genes de resistencia naturales en plásmidos, se originan como mutaciones puntuales en los genes blanco (sitios de inserción de los genes de resistencia) de bacterias susceptibles y también de genes que les proveen protección contra otras bacterias²². La resistencia intrínseca se ha demostrado para bacterias gramnegativas, esporas bacterianas, micobacterias y bajo ciertas condiciones en

Cuadro 1
Resumen de mecanismos de acción antibacteriana de antisépticos y desinfectantes²

Sitio blanco	Antiséptico o desinfectante	Mecanismo de acción
Envoltura celular (pared celular, membrana externa)	Glutaraldehído EDTA, otros permeabilizantes	Unión cruzada a proteínas Bacteria gramnegativa: remoción de Mg ⁺⁺ , liberación de algunos LPS
	CAC	Daño generalizado de la membrana que comprometen fosfolípidos de las dos membranas.
Membrana interna citoplasmática	Clorhexidina	Las bajas concentraciones afectan la integridad de la membrana, las altas concentraciones causan congelamiento del citoplasma.
	Diaminas	Inducción a la pérdida de aminoácidos.
	PHMB (mezcla heterodispersa de bioguanidas de polihexametileno) , alexidina	Fase de separación y formación de dominios de lípidos de membrana.
	Fenoles	Pérdida, desacople.
Unión cruzada a macromoléculas	Formaldehído Glutaraldehído	Unión cruzada de proteínas, ARN y ADN. Unión cruzada de proteínas de la envoltura celular y en otros sitios celulares.
Intercalación con el ADN	Acridinas	Intercalación de una molécula de acridina entre dos capas de pares de bases en el ADN.
Interacción con grupos tiol	Compuestos con plata	Enzimas que se unen a membrana interacción con grupos tiol
Efectos en el ADN	Halógenos Peróxido de hidrógeno, iones de plata	Inhibición de la síntesis del ADN Ruptura de la hebra de ADN
	Halógenos	Oxidación de los grupos tioles a disulfitos, sulfóxidos o disulfóxidos
Agentes oxidantes	Peroxisenos	Peróxido de hidrógeno: Actividad debida a la formación de radicales libres OH [·] , que oxida a los grupos tioles en enzimas y proteínas; ácido paracético: Inhibición de los grupos tioles en proteínas y enzimas.

especies del género *Staphylococcus*. En el Cuadro 1 se resumen los mecanismos de acción y los blancos de los principales agentes químicos utilizados en desinfección²³.

Resistencia intrínseca a bacterias gramnegativas

Las bacterias gramnegativas por lo general son más resistentes a los antisépticos y desinfectantes que las grampositivas. Se han hecho estudios donde se midieron las

concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) que presentan tanto las grampositivas como las gramnegativas, y se estableció que hay diferencias marcadas entre *Staph. aureus* y *E. coli* los compuestos de amonio cuaternario (CAC), hexaclorofeno, diamidinas y triclosán, pero poca diferencia en la susceptibilidad a la clorhexidina. *Pseudomonas aeruginosa* es más resistente a la mayoría de

Cuadro 2
Concentración mínima inhibitoria de antisépticos y desinfectantes contra bacterias grampositivas y negativas⁵

Agente químico	Concentración mínima inhibitoria (CIM) (mg/ml)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
Cloruro de benzalconio	0.5	0.5	0.5
Cloruro de benzeltonio	0.5	0.5	0.5
Cetrimida	4	4	4
Clorexidina	0.5-1	0.5-1	0.5-1
Hexaclorofeno	0.5	0.5	0.5
Fenol	2.000	2.000	2.000
o- fenilfenol	100	100	100
Isetionato de propamina	2	2	2
Isetionato de dibromopropamidina	1	1	1
Triclosán	0.1	0.1	0.1

estos agentes, incluyendo la clorhexidina (Cuadro 2)¹⁸.

La membrana externa de las bacterias gramnegativas actúa como una barrera que limita la entrada de varios tipos de agentes antibacterianos sin relación química. Las moléculas hidrofílicas de bajo peso molecular pasan fácilmente a través de las porinas, en cambio las moléculas hidrofóbicas se difunden a través de la bicapa de la membrana. Además de las vías antes descritas se ha propuesto una tercera vía para agentes catiónicos como los CAC, biguanidas y diamidinas, los cuales dañan la membrana y facilitan su autocaptación²³⁻²⁸. Un ejemplo claro de resistencia mediada por la membrana externa es el de *P. aeruginosa* que presenta diferencias en la composición del lipopolisacárido (LPS) y el contenido de cationes como el magnesio, que produce enlaces estables entre moléculas de LPS y como complemento a este mecanismo, esta bacteria presenta porinas pequeñas que impiden el paso por difusión de ciertas sustancias. Algunas cepas que son muy resistentes a clorhexidina, CAC, EDTA y diamidinas se han aislado de muestras clínicas. La presencia de un LPS menos ácido en la membrana externa puede ser un factor que contribuye a la resistencia intrínseca^{29,30}.

MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA ADQUIRIDA

Como se ha visto en los antibióticos y en los agentes quimioterapéuticos, la resistencia adquirida a los antisép-

ticos y desinfectantes surge por mutación o por la adquisición de material genético en forma de plásmidos o transposones; estas configuraciones permiten grandes arreglos de genes de resistencia para la mayoría de los antibióticos y desinfectantes al ser transferidos juntos en un solo evento de conjugación²². Chopra^{31,32} evaluó el papel de los plásmidos en la resistencia codificada (o incremento en la tolerancia) a los antisépticos y desinfectantes y concluyó que aparte de ciertos ejemplos específicos como algunos metales, los plásmidos no eran los responsables por los altos niveles de resistencia a antisépticos o desinfectantes de ciertas especies o cepas. Sin embargo, algunos autores evidencian la relación entre la presencia de plásmidos en bacterias con el aumento de la tolerancia a clorhexidina, CAC, triclosán, así como a diamidinas^{31,33}.

Sutton y Jacoby³⁴ observaron que el plásmido RP1 no alteraba en forma significativa la resistencia de *P. aeruginosa* a CAC, clorhexidina, yodo o fenoles clorados, aunque se observó un aumento en la resistencia a hexaclorofeno. La transformación de este plásmido (que codifica resistencia a carbenicilina, tetraciclina, neomicina y kanamicina) en *E. coli* o *P. aeruginosa*, no aumentó la sensibilidad de estas bacterias a los antisépticos y desinfectantes³⁵. Se han visto altos niveles de resistencia en aislados de hospitales³⁶, aunque no es claro que haya una resistencia mediada por el plásmido³⁷⁻³⁹. Los altos niveles de tolerancia a clorhexidina y CAC⁴⁰, pueden ser intrínsecos o se pueden generar por mutaciones. Se ha propuesto

Cuadro 3
Mecanismos de resistencia bacteriana a biocidas

Mecanismos de resistencia	Ejemplos
<i>Intrínsecos</i>	
Impermeabilidad	Bacterias Gram-: Triclosán, solventes
Bombas de eflujo	Bacterias Gram-: multirresistentes: algunos biocidas
Inactivación	Triclosán, clorhexidina
<i>Adquiridos</i>	
Inactivación/modificación	Formaldehído
Sitio blanco insensible	Triclosán
Disminución en acumulación (mediado por plásmido y eflujo)	Biocidas
Sobre-producción del sitio blanco	Triclosán

que el uso intensivo de estos agentes catiónicos podría ser responsable por la selección de cepas resistentes a antibióticos, desinfectantes y antisépticos⁴¹; sin embargo existe poca evidencia que apoye esta conclusión. Además, otros estudios muestran que el plásmido R124 altera la proteína de la membrana externa OmpF en *E. coli* y concluyen que las células que contienen este plásmido son más resistentes a CAC (cetrimida) y otros agentes⁴².

Los mecanismos de resistencia bacteriana a formaldehído y a bactericidas industriales pueden ser codificados por plásmidos⁴³. Las alteraciones en las proteínas de la membrana externa y la formaldehído-dehidrogenasa se consideran responsables^{44,45}. También se ha documentado la participación de las bombas de eflujo en la adquisición de esta resistencia. La activación de estas bombas es mediada por plásmidos y es un importante mecanismo de resistencia a antibióticos, metales, desinfectantes y antisépticos catiónicos (Cuadro 3)^{46,47}.

Los aislados de bacterias gramnegativas de hospitales son menos sensibles a los desinfectantes que las cepas de laboratorio^{26,48,49}. Debido a que las transferencias mediadas por plásmidos se han descartado aparentemente, la selección y la mutación podrían jugar un papel muy importante en la presencia de estos aislados. Las concentraciones subinhibitorias de antibióticos pueden causar cambios sutiles en la estructura externa de la bacteria, y estimular de esta forma el contacto célula a célula⁵⁰; queda el interrogante si las concentraciones residuales de antisépticos y desinfectantes en ambientes clínicos podrían producir el mismo efecto.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Hay géneros de bacterias con resistencia innata a antibióticos específicos como lo muestra el Cuadro 4⁵¹.

Las bacterias pueden presentar resistencia a antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales o por intercambio de material genético mediante el transporte de genes de resistencia a través de varios mecanismos como:

Transducción. Transferencia de cualquier parte de un genoma bacteriano, cuando un fago atemperado (genoma del virus que se encuentra inserto en el ADN bacteriano) durante su fase de ensamblaje, encapsula este material. Si el fragmento de ADN que queda envuelto es totalmente bacteriano se denomina *transducción generalizada* y si sólo se encapsula parte del genoma bacteriano pero se conserva el genoma viral se habla de *transducción especializada*⁴.

Conjugación. Transferencia de material genético contenido en plásmidos de una bacteria a otra a través de una hebra sexual; estos plásmidos usualmente contienen genes que le confieren resistencia a drogas, antisépticos y desinfectantes¹⁴.

Transformación. Transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma¹².

Transposición. Movimiento de una sección de ADN (transposon) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular^{4,14}.

Existen cinco mecanismos de resistencia adquirida.

Cuadro 4
Ejemplos de bacterias que presentan resistencia innata a antibióticos

Antibióticos	Cepas con resistencia innata
Penicilina	<i>Pseudomonas</i> spp. (excepto ureidopenicilinas)
Cefalosporinas	<i>Enterococcus</i> spp
Carbapenemes	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Aztreonam	Todas las bacterias grampositivas
Aminoglicósidos	Bacterias anaeróbicas, <i>Enterococcus</i> spp
Macrólidos	Enterobacteriaceae
Tetraciclinas	<i>Pseudomonas</i> spp.
Glicopéptidos	Todas las bacterias gramnegativas

Las bacterias pueden utilizar más de un mecanismo:

Modificación enzimática o destrucción del antibiótico. Es el mecanismo de resistencia que utilizan algunas bacterias contra medicamentos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes y monobactámicos). El ejemplo más representativo son las betalactamasas, enzimas que inactivan el antibiótico al hidrolizar el anillo betalactámico de la molécula^{8,52}. Otra clase importante de antibióticos que son destruidos por enzimas, son los aminoglicósidos. Se sabe que hay tres tipos de modificaciones catalizadas por O-fosfotransferasas (OPH), O-adeniltransferasas (ANT) y N-acetiltransferasas (ACT) que inactivan estos medicamentos^{53,54}.

Se reconocen cuatro clases de betalactamasas:

- a. Clase A: penicilinasas
- b. Clase B: betalactamasas
- c. Clase C: cefalosporinasas
- d. Clase D: oxacilinasas

La resistencia surge de estímulos naturales o mutaciones en los cromosomas de los genes o de la adquisición de elementos genéticos extracromosomales (plásmidos o transposones) que portan los genes de transferencia⁵. Los genes que codifican para estas enzimas se encuentran generalmente en elementos móviles como transposones y plásmidos, por ejemplo en *S. aureus*; algunas veces se han encontrado en el cromosoma bacteriano en *P. aeruginosa*^{8,53}.

A pesar de los esfuerzos en la producción de medicamentos que pudieran resistir la acción de las betalactamasas como la cloxacilina, las bacterias alteraron el sitio blanco (PBP) y esto llevó al desarrollo de MRSA (*Staph. aureus* multirresistente). Se produjo entonces la tercera y cuarta

generación de cefalosporinas, resistentes a las betalactamasas producidas por bacterias gramnegativas; sin embargo, con el uso amplio, las bacterias desarrollaron un mecanismo para destruir el medicamento: las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs). A fin de contrarrestar esta acción de las bacterias se produjeron los carbapenemes resistentes a las BLEEs, pero una vez que se generalizó su empleo, las poblaciones bacterianas iniciaron la producción de carbapenemasas que hidrolizan estos medicamentos^{54,55}. De tales enzimas se ha informado a nivel mundial y en Latinoamérica en países como Brasil, Chile y Argentina, donde han aparecido cepas de bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* y *Serratia marcescens*⁵⁷. En Colombia, se hizo un estudio en 8 hospitales y se analizó la prevalencia y susceptibilidad a antibióticos en aislados de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEEs. Los resultados mostraron una prevalencia de 34.8% de *K. pneumoniae* en unidad de cuidados intensivos; también se encontraron bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación o aztreonam, así como resistencia asociada con aminoglicósidos, ciprofloxacina y piperacilina/tazobactam⁵⁸.

Impermeabilidad al antibiótico. Existen diferencias en la composición de la envoltura celular de las bacterias y en especial en la cantidad del peptidoglicano. Además de una capa pequeña de peptidoglicano en las bacterias gramnegativas, se conoce una estructura de membrana consistente en lipopolisacárido y lipoproteína anclados al peptidoglicano junto con grandes proteínas de membrana externa llamadas porinas (OMP). Estas porinas varían en número y tamaño y funcionan como canales acuosos que

generan una ruta hidrofílica a través de la estructura de la membrana hacia el espacio periplásmico⁵⁴. La resistencia intrínseca de bacterias como *P. aeruginosa* y *Enterococcus sp* se relaciona con la poca cantidad de moléculas de porina, las mutaciones que resultan por la alteración de la forma y el número de las ya existentes, influyen en la permeabilidad a los antibióticos, por lo cual se presentan diversos tipos de resistencia a través de la membrana^{54,59}.

Alteración o producción de nuevos sitios blanco

Los cambios en los sitios blanco del antibiótico son uno de los mecanismos más importantes de resistencia a los antibióticos que se usan en clínica, pues evitan el efecto bactericida/bacteriostático que estimula la resistencia. Por ejemplo, el mecanismo más común de resistencia a macrólidos (eritromicina) por bacterias gramnegativas, implica la modificación del sitio blanco en el ribosoma, específicamente la metilación de un residuo de adenina en el dominio V del ARNr23S⁶⁰. La resistencia a fluoroquinolonas es otro ejemplo donde se atribuye a los efectos debidos a la mutación que afectan los sitios blanco (ADN-girasa y topoisomerasa) del medicamento⁶¹. En el caso de *Staph. aureus* resistente a meticilina, la bacteria altera las proteínas que unen penicilina y evita así la acción del antibiótico⁸.

Muchas clases de antibióticos, por ejemplo betalactámicos, glicopéptidos y quinolonas, pueden disminuir su eficacia debido a cambios o producción de nuevos sitios blanco. Los betalactámicos actúan al fijarse covalentemente a proteínas que unen penicilina (PBP) en la membrana citoplasmática; de esta forma se bloquea la función transpeptidasa y carboxipeptidasa de las PBP en los estadios finales de la síntesis del peptidoglicano; esto hace que las autolisinas endógenas se activen y lleven a la bacteria a la lisis y muerte celular. Se ha descrito en bacterias como *Str. pneumoniae* y aislados de *Neisseria* que hay cambios en la estructura de las proteínas que unen penicilina (PBP) ocasionados por una estructura tipo mosaico en la secuencia del gen de la proteína PBP-2, probablemente debida a un evento de recombinación interespecie entre *Streptococcus* orales y neisserias comensales⁵¹.

Presencia de bombas de eflujo que expulsan el antibiótico El mecanismo de eflujo para múltiples agentes antimicrobianos contribuye a la resistencia intrínseca y adquirida contra tales agentes. El análisis del genoma de bacterias grampositivas y gramnegativas ha confirmado la amplia distribución de estos sistemas. Este modo de

resistencia puede llegar a disminuir o inclusive suprimir la susceptibilidad a un amplio rango de antimicrobianos. El diseño de eflujo (bomba) es mediado por proteínas de transporte, que confieren resistencia a los componentes tóxicos. En las bacterias gramnegativas es necesario un sistema de eflujo tripartita para expulsar el antimicrobiano hacia el medio externo: una proteína localizada en la membrana citoplasmática, otra en el espacio periplasmático (proteína de fusión de membrana MFP) y una tercera en la membrana externa (factor de membrana externa) OMF⁶². Los sistemas de eflujo particularmente de bacterias gramnegativas se asocian con resistencia a múltiples antimicrobianos de importancia clínica como las fluoroquinolonas⁶³.

Sobre-expresión del sitio blanco La sobre-expresión del sitio blanco, sólo se ha descrito en aislados clínicos de micobacterias. La duplicación génica o las mutaciones de los promotores implicados en la transcripción de estos genes, son probablemente el mecanismo responsable. La hiper-producción de betalactamasas (gen *Tem*) induce resistencia al clavulanato y se podría considerar la sobre-expresión del blanco del antibiótico⁶⁴.

CONCLUSIONES

Los biocidas hacen parte importante de los protocolos y estrategias que se utilizan para disminuir la adquisición y diseminación de las infecciones nosocomiales. Se ha documentado la eficacia de estos compuestos en los procesos de desinfección. Los mecanismos de acción de los antibióticos son bien conocidos, mientras los de los biocidas se encuentran en investigación. Estudios al respecto afirman que los biocidas presentan múltiples sitios blanco y que a concentraciones distintas muestran efectos bactericidas. Caracterizar los sitios blanco es necesario para entender los mecanismos de acción y de esta manera dilucidar cómo se relacionan con la selección de resistencia a los antibióticos de importancia clínica que se emplean en la actualidad.

Las herramientas epidemiológicas usadas para monitorear la resistencia a los antibióticos pueden a su vez servir para vigilar los cambios en la susceptibilidad de los patrones a los biocidas.

En la medida que se conocen los mecanismos de resistencia a los antibióticos y biocidas, se puede esperar el desarrollo de cepas altamente resistentes, pues los mecanismos que genéticamente se activan para uno de los

compuestos los puede emplear el otro; se establece así una posible resistencia cruzada entre dos tipos de compuestos, que llevarían a un incremento en la resistencia a antibióticos y al aumento en la prevalencia de microorganismos resistentes en los hospitales.

Es esencial que el empleo de los antisépticos y desinfectantes junto con preservativos incorporados en los productos de consumo humano, sólo se usen cuando sea necesario y que haya control y vigilancia permanentes en el manejo y uso de los elementos de limpieza y desinfección tanto en los centros hospitalarios como en los hogares.

REFERENCIAS

1. Ang JY, Ezike E, Asmar BI. Antibacterial resistance. *Indian J Pediatr* 2004; **71**: 229-239.
2. Hsueh PR, Chen ML, Sun CC, Chen WH, Pan HJ, Yang, LS, *et al.* Antimicrobial drug resistance in pathogens causing nosocomial infections at a university hospital in Taiwan, 1981-1999. *Emerg Infect Dis* 2002; **8**: 63-68.
3. Casellas JM, Pinto ME, Guzmán Blanco M. Infectious diseases. *Clin North Am* 1994; **8**: 29-45.
4. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. *Microbiología*. 5ª ed. Madrid: McGraw Hill Interamericana; 2004.
5. Iruka NO, Ramanan L, Zulqar AB, Adriano GD, Philip J, Thomas FO, *et al.* Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. *Lancet* 2005; **5**: 481-493.
6. French GL. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; **57**: 1514-1527.
7. Linares JF, Martínez JL. Resistencia a los antimicrobianos y virulencia bacteriana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; **23**: 86-93.
8. Samaja-Kfoury JN, Araj GF. Recent development in β lactamases and extended spectrum β lactamases. *BMJ* 2003; **327**: 1209-1213.
9. Quinn JP. Clinical problems posed by multiresistant non fermenting gram-negative pathogens. *Clin Infect Dis* 1998; **27** (Suppl): 117-124.
10. Swartz MN. Hospital-acquired infection: diseases increasingly limited therapies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**: 2420-2427.
11. Palumbi, SR. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science* 2001; **293**: 1786-1790.
12. Levy SB. The challenge by antibiotic resistance. *SciAm* 1998; **278**: 46-53.
13. Levy SB. Microbial resistance to antibiotics and evolving and persistent problem. *Lancet* 1982; **2**: 83-88.
14. Levy SB. Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nature Med* 2004; **10** (Suppl): 122-129.
15. Olarte J. In vitro activity of cefoperazone against clinical isolates of enterobacteriaceae. *Pseudomonas* and *Staphylococcus*. *Clin Ther* 1980; **3** (Spec Issue): 130-133.
16. Levy SB. Antibiotics resistance: consequences of inaction. *Clin Infect Dis* 2001; **33** (Suppl 3): 124-129.
17. McDonnell G, Russell D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; **12**: 147-179.
18. Gilbert P. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev* 2003; **16**: 190-191.
19. Sheldon A. Antiseptic «resistance»: real or perceived threat? *Clin Infect Dis* 2005; **40**: 1650-1656.
20. Russell AD. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistance bacteria. *J Appl Microbiol* 2002; **92** (Suppl): 121-135.
21. Rutala WA. APIC guideline for selection and use of disinfectants. *Am J Infect Control* 1995; **23**: 313-343.
22. Frost LS, Leplae R, Summers AO, Toussaint A. Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. *Nat Rev Microbiol* 2005; **3**: 722-732.
23. Russell AD, Gould GW. Resistance of Enterobacteriaceae to preservatives and disinfectants. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 1988; **17** (Suppl): 167-195.
24. Ayres HM, Furr JR, Russell AD. A rapid method of evaluating permeabilizing activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol* 1993; **17**: 149-151.
25. Gilbert P. Microbial resistance to preservative systems. In Bloomfield SF, Baird R, Leak RE, Leech R. *Microbial quality assurance in pharmaceuticals, cosmetics and toiletries*. Chichester: Ellis Horwood; 1988. p. 171-194.
26. Hammond SM, Lambert PA, Rycroft AN. *The bacterial cell surface*. London: Croom Helm; 1984.
27. Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 1994; **264**: 382-388.
28. Hancock RE. Alterations in membrane permeability. *Annu Rev Microbiol* 1984; **38**: 237-264.
29. Cox AD, Wilkinson SG. Ionizing groups in lipopolysaccharides of *Pseudomonas cepacia* in relation to antibiotic resistance. *Mol Microbiol* 1991; **5**: 641-646.
30. Hugo WB, Russell AD. Types of antimicrobial agents. In *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*. 3ª ed. Oxford: Blackwell Science; 1999. p. 5-94.
31. Chopra I. Plasmids and bacterial resistance. In Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (eds.). *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*. Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd.; 1982. p. 199-206.
32. Chopra I. Microbial resistance to veterinary disinfectants and antiseptics. In: Linton AH, Hugo WB, Russell AD (eds.). *Disinfection in veterinary and farm animal practice*. Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd.; 1987. p. 43-65.
33. Russell AD. Plasmids and bacterial resistance to biocides. *J Appl Microbiol* 1997; **82**: 155-165.
34. Sutton L, Jacoby GA. Plasmid-determined resistance to hexachlorophene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1978; **13**: 634-636.
35. Ahonkhai I, Russell AD. Response RP11 and RP12 strains of *Escherichia coli* to antibacterial agents and transfer of resistance to *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Microbiol* 1979; **3**: 89-94.
36. Hammond SA, Morgan JR, Russell AD. Comparative susceptibility of hospital isolates of gram-negative bacteria to antiseptics and disinfectants. *J Hosp Infect* 1987; **9**: 255-264.
37. Dance DAB, Pearson D, Seal DV, Lowes JA. A hospital outbreak caused by a chlorhexidine and antibiotic resistant *Proteus mirabilis*

- J Hosp Infect* 1987; **10**: 10-16.
38. Nagai I, Ogase H. Absence of role for plasmids in resistance to multiple disinfectants in three strains of bacteria. *J Hosp Infect* 1990; **15**: 149-155.
 39. Pitt TL, Gaston M, Hoffman PN. *In vitro* susceptibility of hospital isolates in various bacterial genera to chlorhexidine. *J Hosp Infect* 1983; **4**: 173-176.
 40. Martin TDM. Sensitivity of the genus *Proteus* to chlorhexidine. *J Med Microbiol* 1969; **2**: 101-108.
 41. Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Principle and practices of disinfection, preservation and sterilization*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd.; 1992.
 42. Rossouw FT, Rowbury RJ. Effects of the resistance plasmid R124 on the level of the OmpF outer membrane protein and on the response of *Escherichia coli* to environmental agents. *J Appl Bacteriol* 1984; **56**: 63-79.
 43. Candal FJ, Eagon RG. Evidence for plasmid-mediated bacterial resistance to industrial biocides. *Int Biodeteriol Biodegrad* 1984; **20**: 221-224.
 44. Azachi M, Henis Y, Shapira R, Oren A. The role of the outer membrane in formaldehyde tolerance in *Escherichia coli* VU3695 and *Halomonas* sp. MAC. *Microbiology* 1996; **142**: 1249-1254.
 45. Heinzel M. The phenomena of resistance to disinfectants and preservatives. In: Payne KR (ed.). *Industrial biocides*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.; 1988. p. 52-67.
 46. Midgley M. The phosphonium ion efflux system of *Escherichia coli*: a relationship to the ethidium efflux system and energetic studies. *J Gen Microbiol* 1986; **132**: 3187-3193.
 47. Miller PF, Sulavik MC. Overlaps and parallels in the regulation of intrinsic multiple-antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 1996; **21**: 441-448.
 48. LeChevalier MW, Cawthorn CC, Lee RG. Mechanisms of bacterial survival in chlorinated water supplies. *App Environ Microbiol* 1988; **54**: 2492-2499.
 49. Stickler DJ, Thomas B, Clayton JC, Chawla JA. Studies on the genetic basis of chlorhexidine resistance. *Br J Clin Pract Symp* 1983; **25 (Suppl)**: 23-28.
 50. Davies JG, Babb JR, Bradley CR, Ayliffe GAJ. Preliminary study of test methods to assess the virucidal activity of skin disinfectants using poliovirus and bacteriophages. *J Hosp Infect* 1993; **25**: 125-131.
 51. Barker K. Antibiotic resistance: a current perspective. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **48**: 109-124.
 52. Thomson KS, Smith ME. The new beta-lactamases of gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect* 2000; **2**: 1225-1235.
 53. Wright GD, Berghuis AM, Mobashery S. Aminoglycoside antibiotics. Structures, functions, and resistance. *Adv Exp Med Biol* 1998; **456**: 27-69.
 54. Kapil A. The challenge of antibiotic resistance: Need to contemplate. *Indian J Med Res* 2005; **121**: 83-91.
 55. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**: 657-686.
 56. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; **8**: 557-584.
 57. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2001; **32 (Suppl 2)**: 94-103.
 58. Villegas MV, Correa A, Pérez F, Miranda MC, Radice M, Quinn JP, et al. Prevalence of extended-spectrum-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from eight Colombian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; **49**: 217-222.
 59. Yoneyama H, Nakae T. Mechanism of efficient elimination of protein D2 in outer membrane of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; **37**: 2385-2390.
 60. Leclercq R, Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; **35**: 1267-1272.
 61. Hooper DC. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 2000; **31 (Suppl. 2)**: 24-28.
 62. Moreira MAS, De Souza EC, De Moraes CA. Multidrug efflux systems in gram-negative bacteria. *Braz J Microbiol* 2004; **35**: 19-28.
 63. Poole K. Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44**: 2233-2241.
 64. Martínez JL, Vicente MF, Delgado-Iribarren A, Pérez-Díaz JC, Baquero F. Small plasmids are involved in amoxicillin clavulanate resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; **33**: 595.

