

I

Modos y Mecanismos

1

Modos de Acción de los Antimicrobianos

OBJETIVOS

Al finalizar este capítulo el lector deberá ser capaz de:

- Comparar y distinguir la estructura básica de las bacterias gram-positivas y gram-negativas.
 - Explicar como cada grupo de agentes antimicrobianos afecta estructuras clave o rutas metabólicas en las bacterias.
 - Enumerar los mecanismos de resistencia en las bacterias.
 - Describir como las bacterias adquieren resistencia a los agentes antimicrobianos.
-

ANTECEDENTES

Cada tipo de agente antimicrobiano tiene un modo de acción único. Para entender como actúan los agentes antimicrobianos es necesario explicar algunas características básicas de la estructura celular bacteriana y como funcionan los blancos de los antimicrobianos en la célula bacteriana.

A pesar que las estructuras de las bacterias gram-positivas y gram-negativas son similares, existen algunas diferencias claves. Estas diferencias son las bases de la capacidad que tiene un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento ya sea de bacterias gram-positivas o gram-negativas. Sin embargo, algunos agentes actúan en ambos tipos de bacteria y estos a menudo se conocen como agentes de amplio espectro.

ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Como se observa en la Figura 1.1 la estructura más externa de la célula gram-negativa tiene muchos componentes:

Pared Celular

- **La membrana externa** sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y ayuda a retener proteínas en el espacio periplásmico. (Algunos autores no consideran a esta membrana como parte de la pared celular.)
 - **Porinas** son canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula,
-

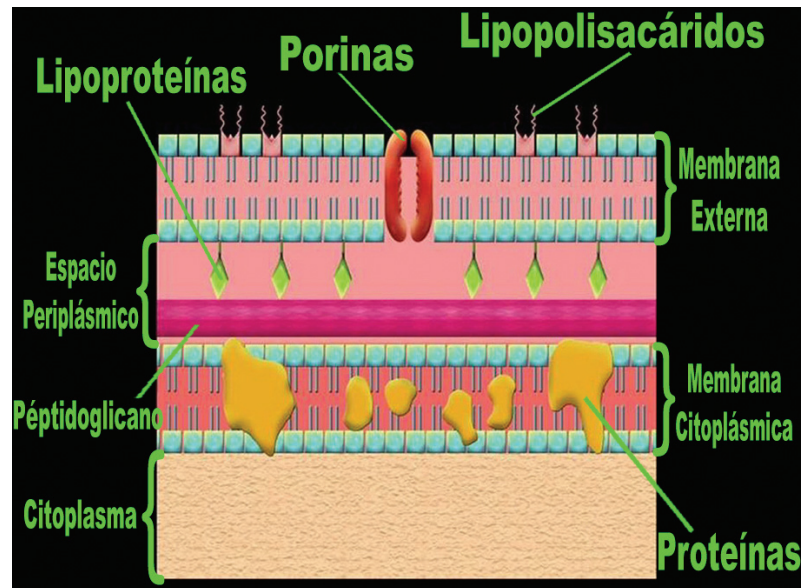


Figura 1.1—Estructura de la pared en una bacteria gram-negativa

incluyendo agentes antimicrobianos. Las bacterias varían en el número y tipo de porinas que contienen.

- **Lipopolisacáridos** se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad y dan a las bacterias gram-negativas su carga negativa neta.
- **Lipoproteínas** adhieren la membrana externa a la capa de mureína.
- La capa de **péptidoglicano** de las bacterias gram-negativas es un polímero relativamente delgado que consiste de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureína o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo. Está localizado dentro de el espacio periplásmico.
- El **espacio periplásmico** se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos, enzimas hidrolíticas y enzimas detoxificantes.

Membrana Citoplásmica

La membrana citoplásmica rodea el citoplasma de la célula y contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular. La membrana citoplásmica también sirve como una barrera de permeabilidad y un enlace de permeabilidad para las sustancias que entran en la célula.

Citoplasma y Otros Componentes Internos

El citoplasma celular contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas. La gran mayoría de bacterias tiene un solo cromosoma pero unas pocas, como el *Vibrio cholerae*, tiene dos cromosomas.

ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS

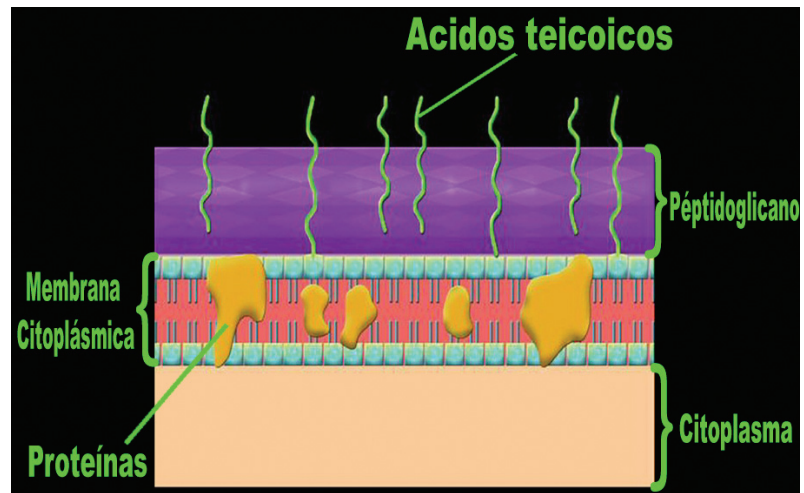


Figura 1.2—Estructura de la pared celular de gram-positiva

Pared Celular

Puesto que la pared celular de las bacterias gram-positivas contiene solo dos componentes principales es mucho menos complicada que la pared celular de las gram-negativas.

- **Ácidos teicoicos** son polímeros que están entrelazados en la capa de péptidoglicano y se extiende en forma de cilios más allá de la superficie de las células gram-positivas. Estos son también importantes antígenos de superficie en aquellos organismos que los poseen.
- La capa de **péptidoglicano**, o capa de mureína, de las bacterias gram-positivas es mucho más gruesa que la de las bacterias gram-negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como la pared celular.

La Membrana Citoplásmica, Citoplasma, y Otros Componentes Internos

Estas estructuras son muy similares tanto en bacterias gram-positivas como en gram-negativas.

AGENTES ANTIMICROBIANOS

Agentes Bacteriostáticos vs. Bactericidas

Los agentes bacteriostáticos tales como tetraciclina inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias. A partir de la exposición a un agente bacteriostático, las células en una población susceptible cesan su división. Sin embargo, si el agente es retirado, las células vuelven a multiplicarse.

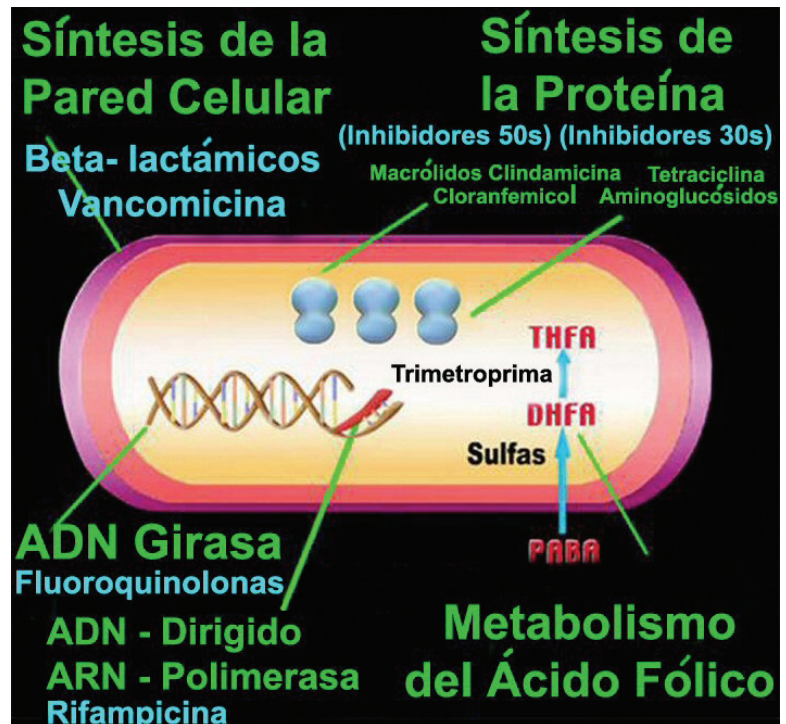


Figura 1.3—Blancos de algunos agentes antimicrobiales

Los agentes bactericidas, como las fluoroquinolonas, no solo inhiben el crecimiento de las células sino también desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular. Las acciones de los agentes bactericidas son irreversibles por tanto una vez que las células susceptibles son expuestas al agente bactericida, estas mueren.

Modos de Acción de los Antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos se clasifican de acuerdo a sus modos específicos de acción contra las células bacterianas. Estos agentes pueden interferir con la síntesis de la pared celular, inhibir la síntesis de proteínas, interferir con la síntesis de ácido nucleico, o inhibir una ruta metabólica. Los modos de acción de los agentes antimicrobianos contra las bacterias gram-positivas y gram-negativas son muy similares.

- **Interferencia con la Síntesis de la Pared Celular:** Los agentes antimicrobianos que interfieren con la síntesis de la pared celular bloquean la síntesis del péptidoglicano y por tanto son activos contra bacterias en crecimiento. Los agentes antimicrobianos que interfieren con la síntesis de la pared celular son bactericidas.
- **Actividad de los beta lactámicos en bacterias gram-negativas:** En las bacterias gram-negativas, los antimicrobianos beta lactámicos entran a la célula a través de los canales porínicos de la membrana externa. En las células susceptibles, las moléculas beta-lactámicas se unen a las proteínas de unión de penicilina (PBPs) que son enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular. La unión de las moléculas beta-lactámicas a las PBPs, ubicadas en la superficie de la membrana citoplásmica, bloquea su función. Esto produce paredes celulares debilitadas o defectuosas y conduce a lisis celular y muerte.

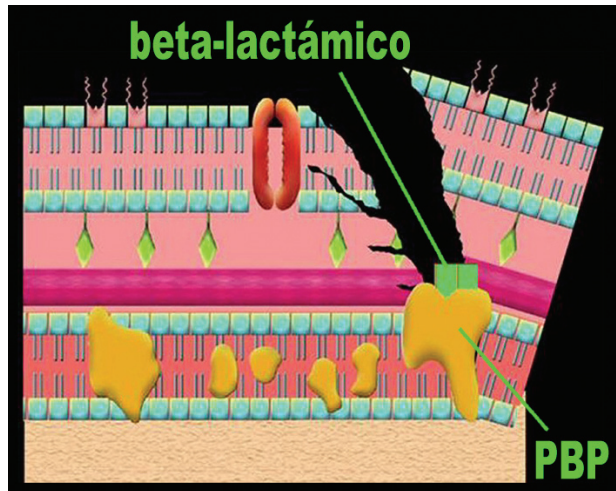


Figura 1.4—Efectos de los beta lactámicos en la pared celular de bacterias gram-negativas

- Actividad de los beta lactámicos en **bacterias gram-positivas**: Puesto que las bacterias gram-positivas no poseen una membrana externa, los antimicrobianos beta lactámicos se difunden a través de la pared celular. Los siguientes pasos son similares a aquellos para las bacterias gram-negativas. En las células susceptibles, las moléculas beta-lactámicas se unen a las PBPs, lo que resulta en paredes celulares debilitadas y lisis celular.
- **Interferencia con la membrana citoplásmica**: Las moléculas de polimixina se difunden a través de la membrana externa y pared celular de células susceptibles hacia la membrana citoplásmica. Estas se unen a la membrana citoplásmica y la alteran y desestabilizan. Esto causa el derrame del citoplasma hacia el exterior de la célula lo que resulta en muerte celular. Los agentes antimicrobianos que interfieren con la membrana citoplásmica son bactericidas.
- **Interferencia con la síntesis de proteínas mediante el enlace a la subunidad ribosómica 30S**:
 - **Las tetraciclinas** (eje. tetraciclina, minociclina y doxiciclina) se unen a la subunidad 30S del ribosoma y bloquean la adherencia del RNA de transferencia (tRNA). Puesto que no se pueden agregar más aminoácidos a la cadena de proteínas que está en crecimiento, la síntesis de proteínas es inhibida. La acción de las tetraciclinas es bacteriostática.
 - **Los aminoglucósidos** (eje. gentamicina, tobramicina, amikacina, y estreptomycin) también se unen a la subunidad 30S del ribosoma y pueden bloquear la síntesis de proteínas de dos maneras diferentes. En primer lugar estos se pueden adherir a la subunidad 30S del ribosoma y prevenir que la subunidad 30S se adhiera al RNA mensajero (mRNA). Segundo, la presencia del aminoglucósido en el ribosoma podría provocar la lectura errada del mRNA. Esto resulta en la inserción de aminoácidos erróneos en la proteína o en la interferencia con la capacidad de los aminoácidos para conectarse unos con otros. Estas actividades por lo general ocurren de manera simultánea y el efecto total es bactericida.
- **Inhibición de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad ribosómica 50S**.
 - **Los macrólidos** (eje. eritromicina, azitromicina y claritromicina) y las **lincosámidas** (eje. clindamicina) se adhieren a la subunidad ribosómica 50S provocando la terminación del crecimiento de la cadena proteica y la inhibición de la síntesis de proteínas. Estos son primordialmente bacteriostáticos.

- **El cloramfenicol** también se une a la subunidad 50S del ribosoma e interfiere con la unión de aminoácidos a la proteína en crecimiento. Los agentes antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas de esta forma son bacteriostáticos.
- **Inhibición de la síntesis de proteínas mediante mecanismos que al momento están en investigación**
 - **La linezolid** (una oxazolidinona) es un nuevo potente inhibidor de la síntesis de proteínas. Es activa contra una gran variedad de bacterias gram-positivas pero no tiene una actividad clínicamente útil contra las bacterias gram-negativas.
- **La interferencia con la síntesis de ácido nucleico es causada por dos tipos de agentes antimicrobianos**
 - **Las fluoroquinolonas** (eje. ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y gemifloxacina) interfieren con la síntesis de ADN bloqueando la enzima ADN girasa. La ADN girasa ayuda a enrollar y desenrollar el ADN durante la replicación de ADN. La enzima se adhiere al ADN e introduce rupturas dobles en las cadenas que permiten al ADN desenrollarse. Las fluoroquinolonas se unen al complejo ADN girasa-ADN y permiten a las cadenas de ADN rotas liberarse dentro de la célula lo que conduce a la muerte celular.
 - **La rifampicina** se une a la ARN polimerasa ADN dependiente lo que bloquea la síntesis de ARN y resulta en la muerte de la célula.
- **Inhibición de la ruta metabólica de la síntesis de ácido fólico causada por sulfonamidas y trimetoprima:** Para muchos organismos el ácido para-amino benzoico (PABA) es un metabolito esencial y está involucrado en la síntesis de ácido fólico, un importante precursor para la síntesis de ácidos nucleicos. Las sulfonamidas son estructuras análogas del PABA y compiten con el PABA por la enzima dihidropteroato sintetasa. La trimetoprima actúa en la ruta de síntesis del ácido fólico en un punto posterior al de las sulfonamidas. Este inhibe la enzima dihidrofolato reductasa. La trimetoprima y las sulfonamidas se pueden usar por separado o en conjunto. Cuando se usan en conjunto producen un bloqueo secuencial de la ruta de síntesis del ácido fólico y tienen un efecto sinérgico. Tanto la trimetoprima como las sulfonamidas son bacteriostáticas.

MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Hay una serie de formas en que los microorganismos son resistentes a los agentes antimicrobianos. Estos incluyen: 1) la bacteria produce enzimas que destruyen el agente antimicrobiano antes que este alcance su blanco o modifica el agente antimicrobiano de tal forma que ya no puede ser reconocido por su blanco; 2) la pared celular se vuelve impermeable al agente antimicrobiano; 3) el sitio de ataque es alterado por mutación de tal manera que ya no permite la unión del agente antimicrobiano; 4) la bacteria posee una bomba de eflujo que expulsa al agente antimicrobiano de la célula antes que este alcance su blanco; 5) rutas metabólicas específicas dentro de la bacteria son alteradas genéticamente para que el agente antimicrobiano no pueda provocar un efecto.

Producción de Enzimas

- **Las beta-lactamasas** son enzimas que hidrolizan los agentes antimicrobianos beta-lactámicos. Como resultado la célula es resistente a la acción de los medicamentos beta lactámicos
 - En las bacterias **gram-negativas** los medicamentos beta lactámicos entran en la célula a través de las porinas y encuentran a las beta-lactamasas en el espa-

- cio periplásmico. Las beta-lactamasas destruyen las moléculas beta-lactámicas antes de que éstas tengan la oportunidad de alcanzar sus PBPs blancos.
- En las bacterias **gram-positivas** las beta-lactamasas son secretadas extracelularmente en el medio circundante y destruyen las moléculas beta-lactámicas antes de que estas tengan oportunidad de entrar en la célula.
 - **Enzimas que modifican los aminoglucósidos:** Las bacterias gram-negativas pueden producir enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que modifican un aminoglucósido para inactivarlo.
 - **Cloranfenicol acetil transferasa:** Las bacterias gram-negativas pueden producir una acetil transferasa que modifica al cloranfenicol para inactivarlo.
 - **Impermeabilidad de la Membrana Bacteriana Externa**
 - **Alteración de porinas** en bacterias gram-negativas:
 - Las bacterias gram-negativas pueden volverse resistentes a los antibióticos beta-lactámicos mediante el desarrollo de barreras de permeabilidad. Esto es usualmente provocado por porinas alteradas en la membrana externa que ya no permiten la entrada y el tránsito de las moléculas del antibiótico dentro de la célula. Cuando los beta-lactámicos no pueden alcanzar las PBPs, la célula es resistente.
 - **Alteración de los Blancos**
 - **Las PBPs** tanto en bacterias gram-positivas y gram-negativas pueden ser alteradas mediante mutación de manera que los beta-lactámicos no puedan unirse a ellas; por tanto la célula es resistente a agentes antimicrobianos.
 - **Los ribosomas.** La metilación del ARN ribosómico confiere resistencia a los macrólidos.
 - **ADN girasa y topoisomerasa IV.** Mutaciones en los genes cromosómicos de ADN girasa y topoisomerasa IV confieren resistencia a las quinolonas.
 - **Bombas de eflujo:**
 - Una amplia variedad de bombas de eflujo proveen resistencia antimicrobiana tanto en bacterias gram-positivas como en gram-negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas trans-membrana insertadas en la membrana citoplásmica y, en el caso de los organismos gram-negativos involucra también componentes en la membrana externa y periplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra.
 - **Alteración de Rutas Metabólicas**
 - Algunos microorganismos desarrollan una ruta metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el antimicrobiano. Mutaciones que inactivan la timidilato sintetasa bloquean la conversión de deoxiuridilato a timidilato. Estos mutantes requieren timina o timidina exógena para la síntesis de ADN y por ende son resistentes a los antagonistas de la ruta del folato como las sulfonamidas y trimetoprima.

RESISTENCIA INTRÍNSECA VS. ADQUIRIDA

En algunas especies la resistencia antimicrobiana es una propiedad **intrínseca o innata**. Esta resistencia intrínseca podría deberse a uno o más de los mecanismos de resistencia anteriormente descritos. Por ejemplo, *E. coli* es intrínsecamente resistente a la vancomicina porque la vancomicina es demasiado grande para pasar a través de los canales de porinas en sus membrana externa. Las bacterias gram-positivas, en cambio, no poseen una membrana externa y por lo tanto no son intrínsecamente resistentes a la vancomicina.

Las bacterias también pueden **adquirir resistencia** a los agentes antimicrobianos por eventos genéticos como mutación, conjugación, transformación, transducción y transposición.

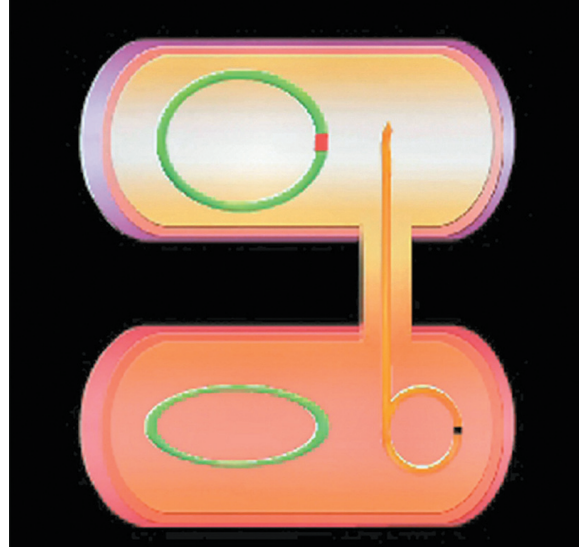


Figura 1.5—Plásmido entrando a una célula

- **Mutación.** La resistencia cromosómica se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un determinado agente antimicrobiano. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia relativamente baja, pero cuando las bacterias son expuestas a los agentes antimicrobianos, solo las células mutantes sobreviven. Entonces estas se multiplican y resultan en la aparición de una población resistente. Las mutaciones espontáneas también podrían ocurrir en plásmidos. Por ejemplo, mutaciones en plásmidos que contienen genes para enzimas beta-lactamasas pueden resultar en beta-lactamasas alteradas por lo general con mayor espectro de actividad.
- **Conjugación.** Las bacterias con frecuencia contienen elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos, muchos de los cuales llevan genes de resistencia antimicrobiana. Cuando dos células bacterianas se encuentran cerca, una estructura similar a un puente conocida como pilus se puede formar entre ellas. Esto permite que una copia del plásmido se replique y transfiera de una célula a la otra. El resultado es una bacteria que expresa la resistencia antimicrobiana codificada en el plásmido.
- **Transformación.** Las bacterias podrían encontrar fragmentos desnudos de ADN que transportan genes de resistencia antimicrobiana. Estos fragmentos son introducidos en la célula mediante un proceso denominado transformación. El fragmento de ADN es incorporado en el cromosoma de la célula huésped por recombinación y la célula resultante es resistente.
- **Transducción.** Cuando los virus bacterianos (bacteriófagos) se están multiplicando en el citoplasma de una bacteria, fragmentos de ADN de plásmidos o cromosomas podrían por casualidad empacarse en una cápsula viral y entrar en otra célula huésped. Cuando los fragmentos contienen genes de resistencia a un agente antimicrobiano estos pueden traspasar la resistencia a la nueva célula huésped.
- **Transposición.** Los transposones son secuencias genéticas especializadas “móviles” que tienen la capacidad de moverse de un área del cromosoma bacteriano a otra o entre cromosomas y plásmidos o ADN de bacteriófagos. Los transposones de ADN pueden estar incorporados a plásmidos y de esa manera transportar genes de resistencia antimicrobiana. Algunos transposones son capaces de moverse de una bacteria a otra sin incorporarse a un cromosoma, un plásmido o un bacteriófago.

REVISIÓN

El lector ahora debe entender como grupos específicos de agentes antimicrobianos inhiben el crecimiento bacteriano y los mecanismos mediante los cuales las bacterias desarrollan resistencia a estos agentes antimicrobianos.

Recuerde que:

- No todo agente antimicrobiano es igualmente efectivo contra bacterias gram-positivas y gram-negativas. Las diferencias en las estructuras de estos dos grupos son las responsables por las diferencias en sus patrones de susceptibilidad.
- Los agentes antimicrobianos que están dentro de la misma clase típicamente tienen modos de acción similares.
- Los modos de acción de los agentes antimicrobianos incluyen inhibición de la síntesis de la pared celular, replicación de ADN, síntesis de proteínas y rutas metabólicas.
- La información genética podría ser traspasada de una bacteria a otra por cuatro mecanismos: conjugación, transformación, transducción y transposición.

ESTUDIO DE CASO 1

Presentación

Una mujer de 27 años de edad acude adonde su médico con una frecuencia urinaria aumentada y dolor al orinar. Con base en los síntomas su médico le diagnostica una infección de las vías urinarias (IVU) y le prescribe un régimen de 3 días de trimetoprima-sulfamethoxazole. Esta es la tercera infección de vías urinarias que ella ha tenido en los últimos 12 meses, todas tratadas con el mismo antimicrobiano. Al día siguiente ella se sintió mucho mejor y decidió no continuar con el antibiótico. Una semana después acudió al Departamento de Emergencia (DE) con dolor en el flanco, fiebre, escalofríos y frecuencia urinaria aumentada. Un cultivo de orina realizado en el DE resultó positivo con >100,000 colonias/mL de *E. coli*. Las pruebas de susceptibilidad revelaron que el aislamiento era resistente a trimetoprima-sulfamethoxazole. ¿Cuáles son las posibles explicaciones para las continuas IVUs y el empeoramiento de los síntomas?

Discusión

Inicialmente lo más probable es que esta paciente sufrió de una cistitis (infección de la vejiga). *E. coli* es la causa más común de IVUs no complicadas, especialmente en mujeres. Parece que en el pasado no se realizó un cultivo. A pesar de que en primera instancia no deberían haberse realizado cultivos en una IVU no complicada, las infecciones repetidas deberían haber inducido un cultivo para determinar la identidad del patógeno y su patrón de susceptibilidad. Esta paciente terminó desarrollando una pielonefritis (infección del riñón) como se evidencia por su fiebre, escalofríos y dolor en el flanco. Es importante distinguir entre cistitis y pielonefritis ya que la pielonefritis es más seria y requiere terapia prolongada.

Esta paciente tuvo IVUs previas por las cuales recibió repetidamente trimetoprima-sulfamethoxazole. Uno de los efectos deletéreos asociado con el uso de agentes antimicrobianos es el desarrollo de resistencia. Esto puede haber sido un resultado de la transferencia de plásmidos entre organismos intestinales como respuesta a la presión ejercida por los antimicrobianos recibidos por el tratamiento repetido con el mismo agente antimicrobiano o la persistencia de organismos en sus vías urinarias debido a su incumplimiento con la terapia.

En esta instancia, el cultivo de orina y las pruebas de susceptibilidad identificaron el patógeno así como los antimicrobianos apropiados para la terapia.

PREGUNTAS DE AUTOEVALUACIÓN

1. VERDADERO o FALSO
La pared celular es un buen blanco para la acción antimicrobiana debido a la diferencia entre la estructura de las células bacterianas y las células mamíferas.
2. ¿Cuál de los ejemplos describe de mejor manera el *concepto* de resistencia antimicrobiana emergente?
 - A. La transferencia de plásmidos bacterianos que contienen genes de resistencia mediante conjugación.
 - B. La incidencia creciente de resistencia a una variedad de agentes antimicrobianos en una variedad de especies bacterianas.
 - C. El incremento en el número de infecciones MRSA.
3. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe los plásmidos bacterianos? Seleccione todas las que apliquen.
 - A. Estos resultan de mutaciones cromosómicas.
 - B. Estos son ADN extracromosómico.
 - C. Estos podrían contener genes de resistencia.
 - D. Estos podrían ser fácilmente transferidos entre bacterias.
 - E. Estos están frecuentemente presentes en bacterias que causan infecciones.
4. Conteste lo siguiente como Verdadero o Falso.
 - A. La pared celular de las bacterias gram-positivas es más gruesa que la pared celular de las bacterias gram-negativas.
 - B. La variedad de antimicrobianos fluoroquinolonas actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular.
 - C. El eflujo está asociado con el bombeo de antimicrobianos fuera de la célula.
 - D. Cambios en las proteínas que se unen a la penicilina conducen a hidrólisis o desactivación de los agentes beta-lactámicos.
 - E. Cambios en las porinas con frecuencia limitan la cantidad de agentes antimicrobianos que pueden entrar en la célula.
 - F. Las beta-lactamasas podrían ser transportadas fuera de la célula y actuar extracelularmente en algunos organismos.
5. ¿Cuál de las siguientes presiones selectivas contribuyen a la resistencia antimicrobiana emergente? Seleccione todas las que apliquen.
 - A. Tomando penicilina para infecciones virales.
 - B. Tomando solo 3 días de un régimen de 7 días de ciprofloxacina.
 - C. Incrementando el consumo de vitamina C.
6. Relacione los siguientes antimicrobianos con su modo de acción
 - A. Inhibición de la síntesis de proteínas (1) Cefalosporinas
 - B. Inhibición de la síntesis de ADN (2) Aminoglucósidos
 - C. Inhibición de la ruta del ácido fólico (3) Quinolonas
 - D. Inhibición de la síntesis de la pared celular (4) Trimethoprim

-
7. Indique si los siguientes antimicrobianos son (1) bacteriostáticos o (2) bactericidas:
- A. Ciprofloxacina
 - B. Tetraciclina
 - C. Gentamicina
 - D. Sulfamethoxazole
8. Relacione los siguientes antimicrobianos con su mecanismo de resistencia bacteriana
- | | |
|--|---------------------|
| A. Porinas alteradas | (1) Sulfonamidas |
| B. Alteración de ribosomas | (2) Aminoglucósidos |
| C. Ruta metabólica alterada | (3) Macrólidos |
| D. Producción de enzimas modificadoras | (4) Beta-lactámicos |