

# Mecanismo de Resistencia MLSB: Macrólidos, Lincosaminas y Estreptogramina B en Estafilococos Coagulasa Negativa y *Staphylococcus Aureus*. Hospital "Jaime Mendoza". Sucre, 2009

Padilla Chumacero, Martha<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bacterióloga Hospital "Jaime Mendoza". Docente titular de bacteriología. Facultad de Medicina. UMRPSFXCH. Magíster en Diagnóstico Laboratorial de Enfermedades Infecciosas.

**Introducción.-** El género *Staphylococcus* contiene por lo menos 13 especies diferentes, 3 de ellas con importancia médica:

*Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus epidermidis*

*Staphylococcus saprophyticus*

Las principales características distintivas de los estafilococos con importancia médica son:

Prueba	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Producción de coagulasa	+	-	-
Proteína A	+	-	-
Producción de exotoxinas	+	-	-
Producción de hemolisinas	+	-	-
Resistencia a novobiocina	-	-	+

***Staphylococcus aureus*.-** Coco gram positivo, patógeno estricto, su división refleja la habilidad para dividirse en más de un plano, son coagulasa positivo, lo que permite diferenciarle de otros estafilococos oportunistas que son coagulasa negativa.

Su hábitat normal es el humano y animales asociados con ellos, piel, especialmente nariz y periné (tasa de estado de portador más alta en pacientes y personal de los hospitales). Contagio por contacto y por vía aérea. El microorganismo sobrevive a la desecación, tolera la sal y los nitritos.

***Staphylococcus epidermidis*.-** Es un estafilococo coagulasa negativa, patógeno oportunista, causa infecciones intrahospitalarias, las infecciones pueden ser también endógenas (infección por propia flora normal de la piel).

***Staphylococcus saprophyticus*.-** Estafilococo coagulasa negativa, patógeno oportunista, causante de infecciones en el tracto urinario.

**Sensibilidad ya resistencia a los antibióticos.-** La introducción de los antimicrobianos a la terapia médica ha facilitado enormemente el tratamiento de todo tipo de infecciones. Sin embargo, los patógenos han desarrollado diversos mecanismos de defensa contra los antimicrobianos:

- Procesos de disminución del ingreso de los fármacos por modificaciones en la permeabilidad celular bacteriana,
- Procesos activos de aumento en el egreso del fármaco del interior de la célula bacteriana,

- Alteraciones en los blancos estructurales dentro de la célula bacteriana que son afectados por la molécula antimicrobiana y
- Desarrollo de enzimas que modifican o destruyen al antimicrobiano para anular su efecto.

Las células bacterianas pueden ser intrínsecamente resistentes o adquirir la resistencia por mutaciones cromosomales individuales o por la adquisición de genes de transferencia de resistencia de fuentes externas.

La resistencia de los estafilococos a los antibióticos, se da por 3 mecanismos:

- Inactivación enzimática del antimicrobiano dentro o fuera de la célula bacteriana, estos mecanismos son los más eficientes puesto que modifican o destruyen al antimicrobiano antes de que pueda ejercer su acción contra la célula bacteriana: Producción de beta lactamasa que destruye el anillo beta lactámico de penicilinas y cefalosporinas, las penicilinas semisintéticas (metecilina, oxacilina), resistentes a beta lactamasa pueden ser efectivas. (estafilococos metecilino sensibles).
- Alteración del blanco estructural de la célula bacteriana, es decir, cambio estructural de la proteína ligadora de Penicilina (PLP o PBP), produce resistencia a penicilinas y asociaciones de beta lactámicos e inhibidores de beta lactamasa. Estos estafilococos son llamados estafilococos metecilino resistentes (SMR), en caso de *Staphylococcus aureus* (SAMR).
- En el caso de antibióticos que afectan la síntesis de proteínas, la resistencia se debe a que existe cambio en el sitio de unión del antibiótico en el ribosoma bacteriano dando resistencia a macrólidos, lincosaminas y estreptogramina B. (MLSB). Mediada por plásmidos o transposones que codifican la enzima metilasa, la cual modifica el ARN del ribosoma causando una disminución en la afinidad por el antibiótico.
- Mecanismos que disminuyen el ingreso del antibiótico hacia la célula bacteriana por medio de alteraciones en la permeabilidad de la pared celular: Impermeabilidad.

La mayoría de las cepas de *S. aureus* son resistentes a la penicilina, en la mayoría de los casos esta resistencia se debe a la producción de una beta lactamasa que depende de plásmidos extracromosomales.

Los estafilococos resistentes a la penicilina también pueden serlo a las nuevas penicilinas semisintéticas como meticilina, oxacilina y nafcilina que no son atacadas por las betalactamasas.

Clindamicina, macrólidos y estreptograminas, son antibióticos útiles para el tratamiento de infecciones causadas por estafilococos, pero su rápida resistencia hace que sean estudiados en los antibiogramas de rutina.

**1.- Clindamicina.-** Lincosamina aislada de *Streptomyces lincolnesis*, una modificación química de la lincomicina ha resultado en la clindamicina, la cual por su mayor actividad antimicrobiana y mejor absorción intestinal ha reemplazado a la lincomicina. Es una opción para infección de piel y tejidos blandos causada por SAMR puesto que tiene biodisponibilidad del 90% cuando es administrada por vía oral; existe en formulaciones oral y parenteral, muestra buena penetración dentro de los tejidos incluyendo la piel y tejidos blandos, su actividad no es afectada por una carga bacteriana alta. Una de las mayores preocupaciones con el uso de la clindamicina, es la posibilidad de que se desarrolle resistencia del tipo MLSB. Se sugiere que en el caso de cepas SAMR que no poseen la resistencia del tipo MLSB es posible administrar clindamicina en forma segura y eficaz.

**Mecanismo de acción.-** Son inhibidores de la síntesis de proteínas. Se unen a la subunidad 50S de los ribosomas en un punto de fijación muy similar (si no es idéntico) al de los macrólidos y el cloranfenicol. Por lo tanto, cada uno de estos antibióticos puede interferir en la acción de los otros.

**Acción sobre los estafilococos.-** Los estafilococos tienen sensibilidad variable, por lo cual se necesita confirmación de laboratorio. Los estafilococos resistentes a la eritromicina pueden ser sensibles o resistentes a la clindamicina. Algunas veces se observa el fenómeno de resistencia cruzada desasociada, en la cual los estafilococos resistentes a la eritromicina, pero sensibles a la clindamicina, pierden rápidamente su sensibilidad a la clindamicina siempre que se utilice la clindamicina en el tratamiento de esa infección.

**2.- Macrólidos.-** Familia de antibióticos estrechamente relacionados., los macrólidos de mayor uso terapéutico tienen anillos de 14 (claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina), 15 (azitromicina) y 16 (diacetilmidecamicina, espiramicina y josamicina) átomos.

**Mecanismo de acción.** Son inhibidores de la síntesis de proteínas. Se unen a la subunidad 50 S del ribosoma.

**Mecanismos de resistencia:** Existen dos mecanismos de resistencia a los macrólidos:

**A.- Resistencia intrínseca.-** Es el caso de las enterobacterias en las que un defecto de permeabilidad impide el paso del compuesto a través de la pared celular.

**B.- Resistencia adquirida.-** En los estafilococos la resistencia puede ser mediada por plásmidos o transposones que codifican la enzima metilasa, la cual modifica el ARN del ribosoma causando una disminución en la afinidad por el antibiótico. La resistencia adquirida puede ser inducible o constitutiva.

- En la resistencia inducible, el gen que codifica la enzima metilasa entra solo en actividad cuando el organismo se ve frente al antibiótico. Los macrólidos de 14 y 15 átomos inducen la desrepresión del gen. La metilasa una vez activada hace que la bacteria se vuelva resistente a todos los macrólidos y a la clindamicina. Los macrólidos de 16 átomos no inducen esta desrepresión del gen, ni su resistencia.
- En la resistencia constitutiva el gen codificador está presente en todos los organismos resistentes y produce resistencia cruzada hacia todos los macrólidos, las lincosaminas y las estreptograminas.
- Otras formas menos frecuentes de resistencia adquirida son la modificación del antibiótico por esterases bacterianas y el flujo activo del antibiótico hacia el exterior de la célula (*Staphylococcus epidermidis*).

**Estreptograminas.- Quinupristina/Dalfopristina.-** Las estreptograminas constituyen una clase única de antibióticos naturales derivados del *Streptomyces pristinaespiralis*. Se incluyen en esta familia a las mikamicinas, pristinamicinas, ostreomicinas y virginamicinas. El primer fármaco desarrollado en este grupo fue la pristinamicina. La cual a causa de su limitada solubilidad acuosa ha sido utilizada solamente como formulación oral en el tratamiento de infecciones leves causadas por *Staphylococcus aureus*.

Las pristinamicinas contienen dos subunidades: la pristinamicina IA y la pristinamicina IIA que son macrolactonas que pertenecen a la familia de las estreptograminas B y A respectivamente. Estas moléculas son bacteriostáticas individualmente pero cuando actúan en combinación producen una acción sinérgica que es bactericida.

**Synercid.-** Combina la quinupristina (una pristinamicina del grupo IA) y la dalfopristina (una pristinamicina del grupo IIA) en una proporción 30:70 para crear una formulación intravenosa.

Es activo contra *Enterococcus faecium* resistentes a la vancomicina y multiresistentes a otros antibióticos. También es activo contra las cepas de *S.aureus* (sensibles y resistentes a la meticilina), es decir su espectro de actividad se extiende a las cepas SAMR, aunque se ha descrito raros casos de resistencia. *Staphylococcus epidermidis* (sensibles y resistentes a la meticilina). Cuando no existe otra opción de tratamiento.

**Mecanismo de acción.-** Son compuestos funcionalmente relacionados a los macrólidos y a las lincosaminas, pues tienen la capacidad de ligarse a la subunidad 50S de los ribosomas para inhibir la síntesis de proteínas bacterianas.

El método más común de resistencia contra las estreptograminas ocurre por acción de la familia de genes *erm* (erythromycin resistance metilase) y se denomina MLSB (Macrolide, Lincosamide, Streptogramina B). Estos genes codifican la acción de una enzima que disminuye el grado de fijación de la eritromicina, clindamicina y las estreptograminas del grupo B hacia los organismos.

Los genes de resistencia pueden ser constitutivos o inducibles.

Los organismos con genes **constitutivos** son resistentes a todos los macrólidos, lincosaminas y a las estreptograminas del tipo B.

Los organismos con genes de resistencia **inducibles** por lo general se mantienen sensibles a las estreptograminas del tipo B.

Afortunadamente la presencia de genes de resistencia hacia las estreptograminas del grupo B no modifica ni la actividad antimicrobiana de las estreptograminas del tipo A ni el efecto sinérgico de la combinación.

Synercid es una oxazolidona que muestra actividad bactericida frente a cepas de *S. aureus* con resistencia constitutiva o inducible del tipo MLSB. Sin embargo, la expresión de la resistencia MLSB constitutiva disminuye la actividad bactericida tanto in vitro como in vivo.

*Staphylococcus aureus* y *Estafilococos coagulasa negativa*, pueden tener resistencia constitutiva o inducible a clindamicina (por metilación del 23S ARNr, codificado por el gen *erm*, también referido como MLSB<sub>II</sub>, resistencia a macrólidos, lincosaminas y estreptogramina del tipo B), o puede ser resistencia sólo a macrólidos y clindamicina sensible (mecanismo de eflujo codificado por el gen *msrA*).

### Identificación de Resistencia MLSB en Antibiograma.-

**Resistencia MLSB.-** Para detectar estos mecanismos de resistencia, colocar en el antibiograma un disco de eritromicina a 20 mm del disco de clindamicina; de acuerdo al resultado se hará las siguientes interpretaciones:

Fenotipo	Mecanismo de resistencia	Informar
Eritromicina Sensible	Ausente	Sensibilidad a ambos antibióticos
Clindamicina Sensible Eritromicina Resistente Clindamicina Sensible, con achatamiento del halo de clindamicina	MLSB inducible	Resistencia a ambos, incluida la lincomicina
Eritromicina Resistente Clindamicina Sensible sin achatamiento del halo de clindamicina	Eflujo	Eritromicina resistente y clindamicina sensible
Eritromicina Resistente Clindamicina Resistente	MLSB constitutivo	Resistencia a ambos antibióticos

La eritromicina induce resistencia fenotípica a la clindamicina en las cepas que contienen MLSB<sub>I</sub> lo que causa una disminución de la zona de inhibición de la clindamicina, dicho efecto produce visualmente un achatamiento.

**Material y Métodos.-** Se realizó la revisión de los resultados de cultivos y de antibiogramas de *Staphylococcus aureus* y *estafilococos coagulasa negativa* aislados en el servicio de bacteriología del Hospital "Jaime Mendoza", dependiente de la Caja Nacional de Salud de Sucre, en el año 2009.

Las cepas de estas bacterias fueron sometidas a antibiograma según las reglas de CLSI, según la técnica de difusión de discos Bauer Kirby, buscando la meticilino resistencia y la resistencia del tipo MLSB.

La meticilino resistencia se detectó mediante disco de oxacilina (halo de inhibición  $\geq 13$  mm) o disco de cefoxitina (halo de resistencia de  $\geq 22$  mm) Para *Staphylococcus aureus*, el test con disco de cefoxitina es comparable con el de oxacilina como indicador de la predicción del Gen MecA.

La resistencia del tipo MLSB se detectó usando discos de clindamicina 2 mcg. y eritromicina 15 mcg. colocados a una distancia de 20 mm uno del otro.

Tras la incubación, el microorganismo puede no presentar crecimiento en la zona de clindamicina, entonces reportar clindamicina sensible.

Organismos sensibles a clindamicina, pero que presenten crecimiento en la zona del disco de clindamicina adyacente al de eritromicina en forma de una zona D=achatamiento indica resistencia inducible a la clindamicina.

Organismos que presentan crecimiento alrededor del disco de clindamicina deben ser reportados como clindamicina resistentes, siempre que no presente la zona de achatamiento (zona D).

El control de calidad se realizó con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### Objetivo General.-

Determinar la resistencia MLSB (macrólidos, lincosaminas y estreptogramina B) de *Estafilococos coagulasa negativa* y *Staphylococcus aureus* de muestras biológicas provenientes de pacientes infectados con estas bacterias, del Hospital "Jaime Mendoza" de Sucre, durante el año 2009.

### Objetivos Específicos.-

1.- Determinar la meticilino resistencia en *Estafilococos coagulasa negativa* y *Staphylococcus aureus*.

2.- Determinar la sensibilidad y resistencia de estos estafilococos frente a clindamicina y eritromicina, para conocer la resistencia MLSB inducible, eflujo, constitutivo o su ausencia.

3.- Relacionar la meticilino resistencia de estos estafilococos, con el mecanismo de resistencia MLSB.

### Resultados.-

#### Cuadro N° 1

*Estafilococos coagulasa negativo*  
Sensibilidad y resistencia a la oxacilina (meticilina)

Oxacilina 1 mcg.	N°	%
Sensible	5	23.8
Resistente	16	76.2
Total	21	100

**Cuadro N° 1.-** Muestra que 76,2% de los estafilococos coagulasa negativo son meticilino resistentes y 23,8 sensibles.

#### Cuadro N° 2

*Staphylococcus aureus*  
Sensibilidad y resistencia a la oxacilina (meticilina)

Oxacilina 1 mcg.	N°	%
Sensible	30	51.6
Resistente	26	46.4
Total	56	100



**Cuadro N° 2.-** *Staphylococcus aureus*, se muestra más sensible a oxacilina, siendo 51,6% meticilino sensibles y 46,4% resistentes.

**Cuadro N° 3**

Estafilococos coagulasa negativa

Sensibilidad y Resistencia a Macrólidos y Lincosaminas: MLSB.

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	13	61.9	Sensible	13	61.9	Ausente
Resistente	1	4.8	S. con achatam	1	4.8	MSLB inducible
Resistente	3	14.3	S. sin achatam	3	14.3	MSLB Eflujo
Resistente	4	19.0	Resistente	4	19.0	MSLB constitutivo
Total	21	100	Total	21	100	

**Cuadro N° 3.-** 61,9% de los estafilococos coagulasa negativa no tienen resistencia MLSB, 4,8% presentan resistencia inducible, 14,3% de eflujo y 19% constitutivo.

**Cuadro N° 4**

*Staphylococcus aureus*

Sensibilidad y resistencia a Macrólidos y Lincosaminas (MSLB)

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	35	62.5	Sensible	35	62.5	Ausente
Resistente	5	8.9	S. con achatam	5	8.9	Inducible
Resistente	0	0.0	S. sin achatam	0	0.0	Eflujo
Resistente	16	28.6	Resistente	16	28.6	Constitutivo
Total	56	100	Total	56	100	

**Cuadro N° 4.-** 62,5% de *Staphylococcus aureus* no presenta mecanismo de resistencia MLSB. 28,6% con resistencia constitutiva y 8,9% con resistencia inducible. No se presenta resistencia de eflujo.

**Cuadro N° 5**

Estafilococos coagulasa negativa meticilino resistente.

Relación entre meticilino resistencia y resistencia MLSB

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	9	56.2	Sensible	9	56.2	Ausente
Resistente	1	6.3	S. con achatam	1	6.3	Inducible
Resistente	2	12.5	S. sin achatam	2	12.5	Eflujo
Resistente	4	25.0	Resistente	4	25.0	Constitutivo
Total	16	100	Total	16	100	

**Cuadro N° 5.-** 56,2% de los estafilococos coagulasa negativa meticilino resistentes no presentaron resistencia MLSB, 6,3% resistencia de tipo inducible, 12,5% de eflujo y 25% constitutivo.

**Cuadro N° 6**

Estafilococo coagulasa negativa meticilino sensible

Relación entre meticilino resistencia y resistencia MLSB

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	4	80	Sensible	4	80	Ausente
Resistente	0	0	S. con achatam	0	0	Inducible
Resistente	1	20	S. sin achatam	1	20	Eflujo
Resistente	0	0	Resistente	0	0	Constitutivo
Total	5	100	Total	5	100	

**Cuadro N° 6.-** 80% de estafilococos coagulasa negativa, meticilino sensible, no presentaron resistencia de tipo MLSB, el 20% presentaron resistencia de eflujo, no se observó resistencia inducible ni constitutiva.

**Cuadro N° 7**

*Staphylococcus aureus* meticilino resistente

Relación entre meticilino resistencia y resistencia MLSB

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	7	26.9	Sensible	7	26.9	Ausente
Resistente	4	15.4	S. con achatam	4	15.4	Inducible
Resistente	0	0.0	S. sin achatam	0	0.0	Eflujo
Resistente	15	57.7	Resistente	15	57.7	Constitutivo
Total	26	100	Total	26	100	

**Cuadro N° 7.-** 26,9% de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes no presentaron resistencia MLSB, 57,7% resistencia constitutiva y 15,4% resistencia inducible. No se presenta resistencia de eflujo.

**Cuadro N° 8**

*Staphylococcus aureus* meticilino sensible

Relación entre meticilino resistencia y resistencia MLSB

Eritromicina	N°	%	Clindamicina	N°	%	Tipo de R MLSB
Sensible	28	93.4	Sensible	28	93.4	Ausente
Resistente	1	3.3	S. con achatam	1	3.3	Inducible
Resistente	0	0.0	S. sin achatam	0	0.0	Eflujo
Resistente	1	3.3	Resistente	1	3.3	Constitutivo
Total	30	100	Total	30	100	

**Cuadro N° 8.-** 93,4% de *Staphylococcus aureus* meticilino sensible, no presenta resistencia MLSB, 3,3% resistencia constitutiva e inducible. No se presenta resistencia de eflujo.

**Conclusiones.-**

La resistencia a macrólidos, lincosaminas y estreptogramina B, en estafilococos coagulasa negativa fue de tipo inducible, 4,8%, eflujo 14,3%, constitutiva 19% y ausencia de resistencia 61.9%; en *Staphylococcus aureus*: inducible, 8,9% 28,6% constitutiva y ausencia de resistencia, 62,5%, no se presentó resistencia de eflujo. La resistencia en estos dos grupos de bacterias es relativamente similar.

Durante el año 2009, el 23,8% de estafilococos coagulasa negativa fueron meticilino sensible y de *Staphylococcus aureus* 51,6%. La meticilino resistencia en estafilococos coagulasa negativa fue de 76,2% y en *S.aureus* 46,4%. Los estafilococos coagulasa negativa, son los que tienden a tener multiresistencia.

De los estafilococos coagulasa negativa meticilino resistentes 56.2% no presentaron resistencia MLSB, 6.3% inducible, 12,5% de eflujo y 57,7% constitutiva. A diferencia de los meticilino sensibles donde el 80% no presentaron resistencia MLSB y 20% de resistencia de eflujo, no se presentó resistencia inducible ni constitutiva.



*Staphylococcus aureus* meticilino resistentes 26,9% no presentó resistencia MLSB, 15,4% inducible, y constitutiva 57,7%, a diferencia de los meticilino sensibles, donde el 93.4% no presentó resistencia y sólo el 3.3% resistencia inducible y constitutiva.

Los estafilococos meticilino sensibles, presentan baja o ausencia de resistencia MLSB

#### **RECOMENDACIONES.-**

Es muy importante que los laboratorios de bacteriología determinen la meticilino resistencia en todos los estafilococos y también la resistencia a macrólidos, lincosaminas y estreptogramina B, para evitar fracaso en el tratamiento con antibióticos.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.-**

1.- Bailey/Scott.- Diagnóstico microbiológico. Séptima edición. Editorial Panamericana. Bs. Aires.

- 2.- Jauregui Luis, Curso de epidemiología, prevención, tratamiento y control de infecciones nosocomiales. Mercy Children's Hospital. INLASA, Ministerio de Salud y Deportes. Pan American Health and Education Foundation (PAHEF)
- 3.- Jauregui Luis. Antimicrobianos: Uso terapéutico en Infectología Clínica. St. Vincent. Mercy Medical Center. Pág. 195, 201 y 213. Edición I, 2002.
- 4.- Mims. Playfair. Microbiología Médica. Primera Edición. 1995. Madrid-España. Pág A-11
- 5.- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; eighteenth Informational Supplement. Clinical an Laboratory Standards Institute. Vol 28. N° 1. Replaces M-100-S17. vol 27 N° 1
- 6.- Trigos Christian, Torrico Elizabeth. Manual de procedimientos de bacteriología en sensibilidad y resistencia antimicrobiana. Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica. INLASA. La Paz. Pág. 35-36
- 7.- Trigos Christian, Manual de aislamiento e identificación de estafilococos y enterococos. Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica. INLASA. La Paz, Bolivia.