



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: MECANISMOS DE RESISTENCIA A
ANTIBIÓTICOS DE MICROORGANISMOS
PATÓGENOS DE PRIORIDAD 1**

Autor: Alejandro Martín Daza

Fecha: Junio 2019

Tutor: Lucía Monteoliva Díaz

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS	7
4. METODOLOGÍA	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
5.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	8
5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
5.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
5.4. <i>Escherichia coli</i>	18
6. CONCLUSIÓN	20
7. BIBLIOGRAFÍA	20

1-RESUMEN

Los patógenos multirresistentes más importantes se han agrupado en el acrónimo ESKAPE, compuesto por la inicial de diferentes bacterias grampositivas y gramnegativas las cuales son: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp.* Están siendo un problema de salud a nivel mundial ya que gracias a su multirresistencia, entre otros factores, les permite causar infecciones nosocomiales graves para las cuales en muchas ocasiones no hay arsenal terapéutico disponible debido a esa capacidad de resistir la acción de los antibióticos. Entre los diversos mecanismos de resistencia de estos microorganismos destacan sobre todo la producción de diversas betalactamasas de espectro ampliado, multitud de bombas de eflujo y porinas transmembranales. La OMS publicó una lista que se divide en tres categorías clasificadas como prioridad 1, 2 o 3 según la urgencia con la que se necesitan nuevos antibióticos, siendo **CRÍTICA** para *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter sp* resistentes a los carbapenémicos que son **patógenos prioridad 1**. El principal mecanismo de diseminación de resistencias es la transmisión horizontal de genes entre las bacterias que permite que unas enzimas llamadas carbapenemasas, entre muchas otras, puedan ser sintetizadas por la mayoría de este grupo bacteriano siendo capaces de resistir la acción de los carbapenems. Este grupo de antibióticos de último recurso se usa para tratar infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes como *K. pneumoniae* y *E. coli* sobre todo ya que, prácticamente no hay tratamientos eficaces disponibles para hacerlas frente. Solo hay disponible como tratamiento de último recurso la colistina, pero ya se ha detectado la presencia de resistencia a este antibiótico, siendo un aviso serio de que los recursos para tratar a pacientes infectados son muy limitados.

2-INTRODUCCIÓN

A lo largo de los últimos 10 años se ha visto un aumento de la incidencia de infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes. Estos microorganismos suponen un problema de salud pública a nivel mundial ya que las infecciones que causan presentan un peor pronóstico, debido principalmente a que los tratamientos que se pautan antes de conocer datos microbiológicos que permitan conocer la etiología de la infección no son efectivos en la mayoría de los casos (1).

Un creciente número de infecciones, como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o las enfermedades de transmisión alimentaria, son cada vez más difíciles, incluso a veces imposibles de tratar. El aumento de las resistencias junto con el poco desarrollo de nuevos antibióticos, hace que no tengamos suficiente arsenal terapéutico para el tratamiento de las enfermedades infecciosas (1).

Aunque se desarrollen nuevos medicamentos, si no se modifican los comportamientos actuales, la resistencia a los antibióticos seguirá representando una grave amenaza. Los cambios de comportamiento también deben incluir medidas destinadas a reducir la propagación de las infecciones, a través de la vacunación, el lavado de las manos, la seguridad de las relaciones sexuales y una buena higiene alimentaria siendo necesario un cambio urgente la forma de prescribir y utilizar los antibióticos. Sin antimicrobianos eficaces para prevenir y tratar las infecciones, intervenciones como el trasplante de órganos, la quimioterapia del cáncer, el tratamiento de la diabetes o la cirugía mayor (por ejemplo, las cesáreas o las prótesis de cadera) se convertirán en procedimientos de muy alto riesgo. En muchos lugares hay un abuso y mal uso de los antibióticos tanto en las personas como en los animales, y es frecuente que se administren sin supervisión de un profesional (2). Como ejemplos de uso incorrecto se pueden citar su administración para tratar infecciones víricas,

su uso como estimulantes del crecimiento de animales o para prevenir enfermedades en animales sanos (3).

Los microorganismos patógenos *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp* están agrupados conformando con sus iniciales el acrónimo "ESKAPE"(4)(5), siendo responsables de causar numerosas infecciones nosocomiales durante la asistencia sanitaria siendo la causa más prevenible de eventos adversos graves en pacientes hospitalizados. Sobre la vida de los pacientes ocasionan efectos incalculables, la imagen de los equipos asistenciales, de los hospitales y del sistema sanitario queda mermada, y causan un enorme impacto en la economía del país, poniendo a prueba la sostenibilidad de los programas de salud, siendo uno de los principales problemas de salud pública y la importancia de implantar sistemas de prevención de las infecciones nosocomiales para mejorar la calidad asistencial en los centros sanitarios(6).

Se denominan infecciones nosocomiales a las infecciones que se adquieren en la estancia hospitalaria, de ahí su origen del latín *nosocomium* que significa hospital. Estas no se presentan ni en el período de incubación ni en el ingreso del paciente, suelen ocurrir unas 48 horas después.

En 2010 según el Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España (EPINE) y del *Point Prevalence Study*, se estableció que en torno a un 7% de los pacientes hospitalizados presentaban una infección relacionada con la asistencia (6).

Las infecciones nosocomiales más comunes fueron neumonía y otras infecciones del tracto respiratorio (26%), seguida de infección de localización quirúrgica (19%), la urinaria (17%), bacteriemia (14%) e infección gastrointestinal (8%) (7). Todas estas infecciones surgen debido al uso de procedimientos asistenciales invasivos tales como: la infección nosocomial por cateterismo urinario, la infección quirúrgica por el procedimiento quirúrgico, la infección respiratoria por la ventilación mecánica invasiva y la bacteriemia de catéter por el cateterismo vascular.

Las infecciones nosocomiales originan una tasa de mortalidad alta, prolongan las estancias hospitalarias y aumentan los costes asistenciales. Según datos del National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) durante el 2002 se produjeron más de 1,7 millones de infecciones nosocomiales y unas 100.000 muertes anuales por esta causa.(6)

En los últimos años además se ha visto un incremento de la multirresistencia antibiótica en bacilos gramnegativos, especialmente en enterobacterias, relacionada con la presión selectiva que ocasiona el uso inadecuado de antibióticos de amplio espectro. De hecho los patógenos más prevalentes en las infecciones nosocomiales en 2016 según datos del EPINE fueron *E.coli* 15,5%, *P.aeruginosa* 10,5%, *K.pneumoniae* 8,6% y *A.baumannii* con un 1,6%.(8)

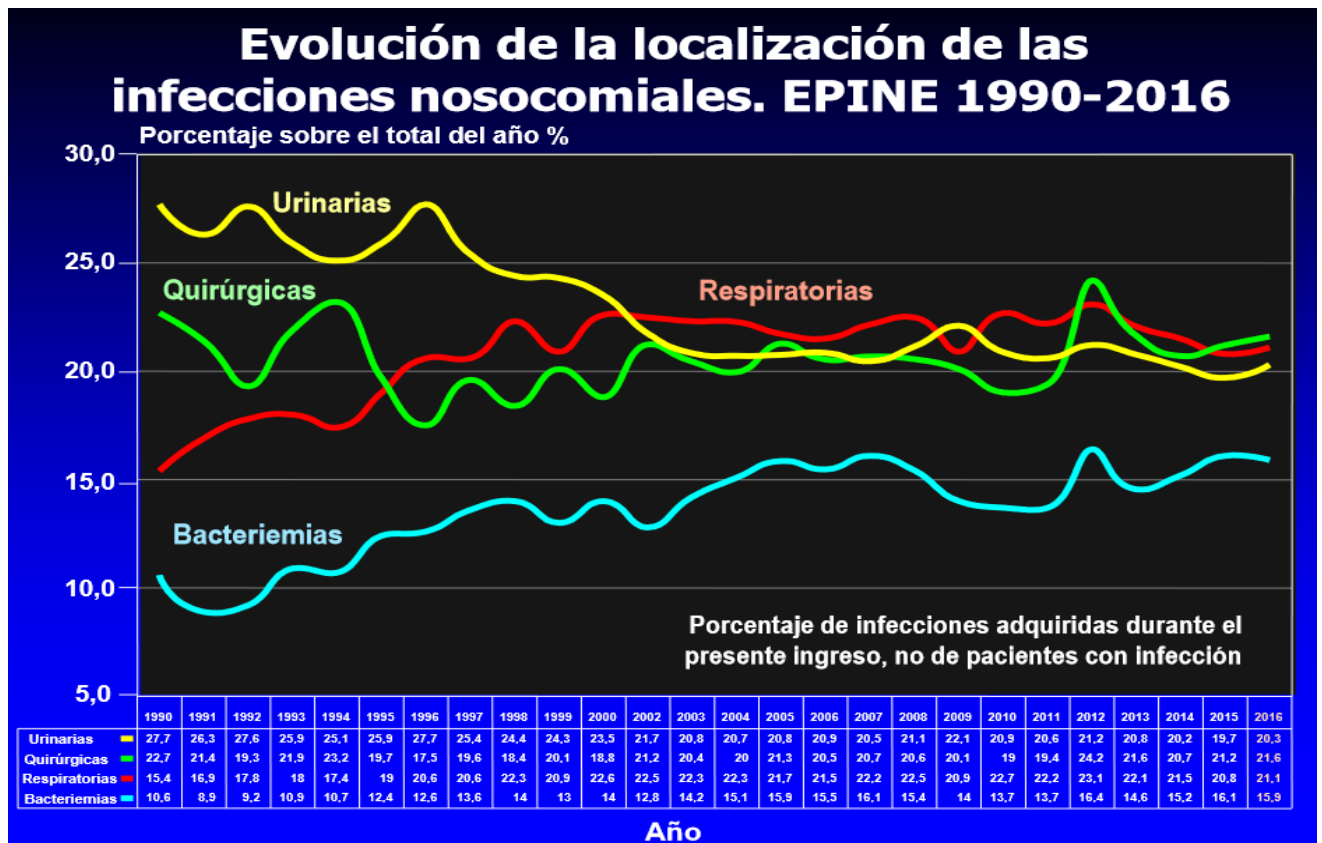


FIGURA 1: Evolución de la localización de las infecciones nosocomiales. Tomada de (8).

2.1. ANTIBIÓTICOS

Los propios microorganismos producen una serie de sustancias antimicrobianas que es lo que conocemos como antibiótico y su manera de actuar es inhibiendo o matando a otros microorganismos. Útiles clínicamente hablando hay menos del 1%, ya que el resto por problemas de toxicidad o falta de absorción no se utilizan, siendo los antibióticos semisintéticos que son antibióticos naturales modificados para mejorar su eficacia los utilizados en clínica (9). Los principales tipos de antibióticos son:

- Los antibióticos **betalactámicos** son inhibidores de la síntesis de la pared celular y entre ellos se encuentran las penicilinas y cefalosporinas, los cuales comparten un componente estructural, el anillo betalactámico. Un paso vital en la síntesis de la pared celular es la transpeptidación, que da lugar el entrecruzamiento de dos cadenas de péptido-glicano. Esto es exclusivo de *Bacteria* de modo que los betalactámicos son altamente selectivos y no tóxicos para las células del hospedador. La penicilina G es activa principalmente contra grampositivas mientras que las gramnegativas son impermeables pero, con modificaciones químicas se originan penicilinas semisintéticas resultando eficaces contra gramnegativas. Muchas de estas penicilinas son sensibles a betalactamasas, cefalosporinasas y también a unas enzimas de mayor espectro denominadas carbapenemas(9).
- **Aminoglucósidos**: Son antibióticos que tienen aminoazúcares unidos por enlace glicosídico. Útiles para el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas como por ejemplo la estreptomina, kanamicina, neomicina y gentamicina. Su forma de actuar es atacando la subunidad 30S del ribosoma de modo que inhiben la síntesis de proteínas. Suelen utilizarse cuando fallan otros antibióticos.

- **Macrólidos:** La variación de anillos de lactona unida azúcares originan numerosos macrólidos, los más comunes son eritromicina, claritromicina, azitromicina. La eritromicina es de amplio espectro y actúa a nivel de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, inhibiendo parcialmente la síntesis de proteínas.
- **Tetraciclinas:** Antibióticos de amplio espectro que inhiben a la mayoría de grampositivas y gramnegativas. Se componen de un anillo de naftaleno cuya sustituciones se producen de forma natural originando análogos nuevos, también hay semisintéticas. Inhibe la síntesis de proteínas interfiriendo en la subunidad 30S del ribosoma.
- **Quinolonas:** son compuestos sintéticos antibacterianos que modifican el metabolismo bacteriano ya que interfieren con la DNA girasa impidiendo el superenrollamiento del DNA. Las fluoroquinolonas son eficaces para tratar infecciones tanto por bacterias gramnegativas como grampositivas (9).

2.2. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La capacidad que tiene un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico al que normalmente es susceptible se conoce como resistencia a fármacos antimicrobianos (9). Esta capacidad puede ser inherente o adquirida. Un microorganismo puede no tener la diana a la cual se dirige un determinado antibiótico, siendo resistente al mismo. Este fenómeno se denomina resistencia natural, mientras que, si ese microorganismo tiene un mecanismo de resistencia por el cual impide la acción del antibiótico se le denomina resistencia intrínseca. Hablamos de resistencia adquirida cuando una bacteria sensible se convierte en resistente al mismo. Este proceso implica un cambio genético, y se transfiere a la descendencia por transmisión vertical o a otras bacterias mediante lo que se denomina transmisión horizontal de genes (5).

Actualmente ya no preocupa la resistencia a un único antibiótico, sino la multirresistencia, dado que, han aparecido bacterias resistentes denominadas:

- **XDR** (*eXtensively Drug-Resistant*), resistentes a dos o más grupos de antibióticos.
- **MDR** (*Multidrug-Resistant*), resistentes a tres o más grupos antibióticos.
- **PDR** (*Pandrug-Resistant*), resistentes a todos los fármacos recomendados.

Las dificultades actuales para el tratamiento se centran sobre todo en un grupo de patógenos bacterianos que causan graves infecciones nosocomiales recogidos en el acrónimo "ESKAPE": *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp* (5).

Hay varios mecanismos de resistencias entre los que destacan:

1. Entrada disminuida por cambios en la permeabilidad o en transportadores.
2. Expulsión del antibiótico por bombas de eflujo.
3. Concentración intracelular insuficiente que afecte a la diana como consecuencia de los puntos 1 y 2.
4. Cambios estructurales en la diana que evitan la interacción con el antibiótico.
5. *By pass* metabólico, síntesis de una molécula alternativa a la diana, sin afinidad por el antibiótico, permitiendo el mantenimiento de las funciones normales.
6. Síntesis de enzimas capaces de inactivar el antibiótico (5).

La OMS elaboró una lista en 2017 de «patógenos prioritarios» resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, cuyo fin es el de tratar de guiar y promover la investigación y desarrollo (I+D) de nuevos

antibióticos. Además es imprescindible que haya una mejor prevención de infecciones y un uso de antibióticos racional y apropiado. Los criterios de inclusión de patógenos en la lista fueron los siguientes: el grado de letalidad de las infecciones que provocan; el hecho de que el tratamiento requiera o no una hospitalización larga; la frecuencia con que presentan resistencia a los antibióticos existentes cuando infectan a las personas de las comunidades; la facilidad con la que se transmiten entre animales, de animales a personas y entre personas; si las infecciones que provocan pueden o no prevenirse (por ejemplo, mediante una buena higiene y vacunación); cuántas opciones terapéuticas quedan; y si se están investigando y desarrollando nuevos antibióticos para tratar las infecciones que causan. La lista de la OMS se divide en tres categorías según la urgencia con la que se necesitan nuevos antibióticos (10):

Prioridad 1: CRÍTICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos
- Enterobacteriaceae, resistentes a los carbapenémicos, productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBL en inglés) o (BLEE en español)

Prioridad 2: ELEVADA

- *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina
- *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina
- *Helicobacter pylori*, resistente a la claritromicina
- *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas
- *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas

Prioridad 3: MEDIA

- *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina
- *Haemophilus influenzae*, resistente a la ampicilina
- *Shigella* spp., resistente a las fluoroquinolonas

3-OBJETIVOS

Hacer una revisión bibliográfica detallada con el fin de conocer los mecanismos de resistencia que presentan los patógenos prioridad 1: CRÍTICA según la OMS, los cuales engloban a *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter sp* resistentes a los antibióticos carbapenémicos.

Conocer los mecanismos de resistencia presentes en los microorganismos patógenos prioridad 1 a diversos antibióticos.

4-METODOLOGÍA

Revisión bibliográfica de artículos científicos sobre los distintos mecanismos de resistencia de los patógenos *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter sp* resistentes a los carbapenémicos que son patógenos ESKAPE prioridad 1: CRÍTICA según la OMS.

Las fuentes bibliográficas han sido artículos y revisiones de las siguientes bases de datos bibliográficas PubMed, Science Direct, Google Scholar, Elsevier (editorial) y dos libros científicos de Microbiología que han sido el Brock Biology of Microorganisms (9) y Fármacos antimicrobianos: mecanismos de acción y resistencia (5).

Las fechas de búsqueda han sido entre los meses de febrero a mayo de 2019 y se seleccionaron artículos desde el año 2005 hasta la actualidad.

5-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PATÓGENOS PRIORIDAD 1: CRÍTICA

Como se ha comentado anteriormente estos patógenos serían *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter sp* (*Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*).

5.1 ACINETOBACTER BAUMANNII

La resistencia de *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* podría ser especialmente peligrosa a largo plazo debido a su resistencia intrínseca a algunos antibióticos gramnegativos y su fácil adquisición de ADN de otras bacterias, lo que garantiza la propagación de resistencias adicionales. En una encuesta que se realizó a determinados países europeos, se observó que actualmente tienen las tasas más altas de resistencia tanto a los carbapenems como a los aminoglucósidos, dos antibióticos tradicionalmente utilizados como último recurso. La resistencia de *P.aeruginosa* se ha estabilizado en los Estados Unidos, mientras que, lamentablemente, la resistencia a *Acinetobacter* ha aumentado. La tasa de mortalidad de este último es notablemente más alta también. La especie resistente más común de *Acinetobacter* es *A. baumannii*, un patógeno oportunista anaeróbico facultativo gramnegativo que presenta paredes celulares especialmente gruesas que confieren protección en condiciones secas y alta tolerancia a la temperatura, pH y cambios de nutrientes, siendo capaces de sobrevivir hasta 5 meses en objetos inanimados (11).

A. baumannii es naturalmente resistente a muchos antibióticos debido a la mala penetración a través de la membrana y ha desarrollado diversos mecanismos de resistencia, tales como: betalactamasas, sobreexpresión de bombas de expulsión, pérdida de porinas y modificación del blanco de acción de los antibióticos (12).

5.1.1. MECANISMOS DE RESISTENCIA INTRÍNSECOS

- *A.baumannii* posee una cefalosporinasa tipo AmpC no inducible denominada ADC (del inglés: Acinetobacter-derived cephalosporinase), siendo éste el mecanismo de resistencia más frecuente de esta bacteria a los betalactámicos. La presencia de secuencias de inserción que contienen promotores que favorecen la transcripción del gen, como la ISAb1 e ISAb125, son las responsables de mediar la sobreexpresión de ADC. Se ha visto que en torno a un 50 % de las cepas de *A. baumannii* presentan hiperproducción de ADC, de modo que si esta enzima se expresa en bajo nivel confiere resistencia a ampicilina; sin embargo, cuando está sobreexpresada produce resistencia a cefalotina, piperacilina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam, sin afectar a los antibióticos carbapenémicos, ni a cefepime. Algunas de estas enzimas (ADC-33 y ADC-56) pueden hidrolizar también cefepime por lo que han sido consideradas como AmpC de espectro extendido o ESAC (del inglés: extended-spectrum AmpC) (12).

- Presencia de la oxacilinas OXA-51, que es capaz de hidrolizar débilmente penicilinas y carbapenémicos debido a expresión basal; su sobreexpresión también es mediada por la secuencia de inserción ISAb1 en un mecanismo similar a la AmpC cromosómica (12).

5.1.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA ADQUIRIDOS

A.baumannii presenta una serie de mecanismos de resistencia enzimáticos y otros no enzimáticos para los **betalactámicos**.

- Los mecanismos enzimáticos son aquellos en los cuales distintos tipos de betalactamasas son capaces de degradar el betalactámico, dentro de las cuales se encuentran las betalactamasas de clase A, B o D, según la clasificación de Ambler (Tabla 1). Muchas de estas betalactamasas se pueden encontrar en elementos genéticos móviles como integrones, plásmidos y transposones, por lo que el uso repetitivo de un antibiótico puede llevar a la expresión de múltiples mecanismos de resistencia que pueden fácilmente diseminarse hacia otras bacterias (12).
 - Dentro de las betalactamasas de clase A, se encuentran las de amplio espectro, las cuales están relacionadas con resistencia a penicilinas (TEM-1, TEM-2 y la carbenicilinas CARB-5), las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) como VEB-1, PER-1, TEM-92 y CTX-M-2 y las de tipo KPC. Esta última fue descrita inicialmente en el 2001 en cepas de *Klebsiella pneumoniae*, pero en la actualidad se ha diseminado no solo a otras enterobacterias como *Citrobacter freundii* o *Escherichia coli* sino también a bacilos gramnegativos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* (12).
 - Las betalactamasas de clase B o metalo-betalactamasas comprenden un grupo de enzimas que no son inhibidas por el ácido clavulánico ni por el tazobactam, pero son sensibles a la inhibición por agentes quelantes como el EDTA. De los seis grupos descritos hasta la fecha, cinco han sido identificados en *A. baumannii* incluyendo IMP, VIM, SIM, SPM y NDM. La mayoría de estas enzimas han sido encontradas en integrones con determinantes de resistencia a aminoglicósidos (12). En *A. baumannii*, *blaNDM-1* a menudo está flanqueada por dos copias de la secuencia de inserción ISAb125, localizada en el transposón Tn125. Este transposón Tn125 que lleva *blaNDM-1* también se ha descrito en el cromosoma de *A. baumannii*, lo que respalda la capacidad de este gen para moverse entre ambas moléculas de ADN bacteriano (13).
 - Las betalactamasas de clase D u oxacilinasas son las que se describen con mayor frecuencia en cepas de *A. baumannii*, siendo las principales OXA-24, OXA-23, OXA-51 y OXA-58, estas tres últimas asociadas con el elemento de inserción ISAb1 que permite su sobreexpresión. Pueden estar codificadas en plásmidos, excepto OXA-51, codificada a nivel cromosómico y suele ser usada como marcador de especie. Se ha visto recientemente que, OXA-51 junto con la OXA-58 se encuentran en enterobacterias, lo que evidencia la capacidad de diseminación a bacterias de otro género (12). El gen OXA mejor descrito en *A. baumannii*, *blaOXA-23*, generalmente se localiza en el transposón Tn2006, que casi siempre se encuentra flanqueado por ambos lados por la secuencia de inserción ISAb1. El transposón Tn2006 en plásmidos transferibles también se identifica a menudo en el cromosoma bacteriano de *A. baumannii*, insertado en la zona activa del gen *comM* de integración. Como se informó en *A. baumannii* resistente a múltiples fármacos, este gen *comM* es un punto caliente para la integración de islas genómicas de varios tamaños que llevan determinantes de resistencia a los antimicrobianos, incluidos los responsables de la resistencia a antibióticos, antisépticos y metales pesados (13).

TABLA 1: Mecanismos enzimáticos de resistencias a betalactámicos en *A. baumannii*. Tomado de (12).

β -lactamasa	Variantes	Perfil de resistencia
Clase A	Betalactamasas de amplio espectro: TEM-1, TEM-2, CARB-5, VEB-1, PER-1, PER-2, TEM-92, TEM-116, SHV-5, SHV-12, CTX-M-2, CTX-M-43 Carbapenemasas KPC	Penicilinas Cefalosporinas de espectro extendido, aztreonam Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.
Clase B	Carbapenemasas IMP, VIM, SPM, SIM y NDM	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas, no hidrolizan el aztreonam
Clase D	Carbapenemasas: OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-51	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas (débilmente cefalosporinas de tercera y cuarta generación)

- Los mecanismos no enzimáticos de resistencia a betalactámicos incluyen:
 - Alteración de las proteínas de membrana externa denominadas OMPs (del inglés: outer membrane proteins), que permiten que haya una disminución de la permeabilidad de la membrana. Se ha visto que la alteración en proteínas como CarO se asocia con resistencia a meropenem e imipenem y, las alteraciones que sufre OmpW, homóloga a OmpW de *E.coli* y *P.aeruginosa*, permiten la disminución de la entrada de colistina y de los betalactámicos al interior de la bacteria (12)(4). También se ha visto la resistencia a imipenem debido a la alteración de una OMP de 43 kDa perteneciente a la familia de las OprD. Se han identificado otra OMPs que presentan relación con resistencia a betalactámicos. Estas incluyen la proteína térmicamente modificable HMP-AB, homóloga a OmpA de *Enterobacterias* y OmpF de *P.aeruginosa* (4).
 - Bombas de expulsión que, como su nombre lo indica, expulsan el antibiótico. La más conocida es AdeABC capaz de expulsar betalactámicos, incluyendo carbapenémicos, aminoglucósidos, macrólidos, cloranfenicol, tigeciclina, tetraciclinas, fluoroquinolonas y trimetoprim (12). AdeABC es cromosómicamente codificada y suele estar regulada por un sensor quinasa (AdeS) y su regulador de respuesta asociado (4).
 - Alteración de las proteínas de unión a penicilina o PBPs (del inglés: penicillin binding protein), cuando son blanco del medicamento. Se ha observado que una ausencia de la PBP2a podría conferir resistencia a meropenem e imipenem. También se ha asociado con un nivel de resistencia más elevado a estos antibióticos la ausencia conjunta de la PBP2a y la PBP2b (12).

5.1.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA A OTROS ANTIBIÓTICOS

Aminoglucósidos: existen diferentes enzimas modificantes de aminoglucósidos y bombas de expulsión que confieren resistencia a este grupo de antibióticos. Las enzimas modificantes (acetiltransferasas -AAC-, nucleotiltransferasas -ANT- y fosfotransferasas -APH-) producen diferentes fenotipos de resistencia selectiva en los aminoglicósidos.

Sin embargo, cuando estas enzimas se combinan con bombas de expulsión como la AdeABC pueden conferir resistencia a todos los aminoglicósidos. La metilación de la subunidad 16S del rRNA mediada por el gen *armA* también ha sido descrita en *A. baumannii* y al actuar sobre la diana de acción de los aminoglucósidos también confiere resistencia a todos ellos. La gentamicina y la kanamicina también son sustratos para la bomba AbeM (tabla 2)(12)(4).

Quinolonas: la resistencia a quinolonas está mediada por mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* que codifican para las subunidades A de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, respectivamente. Las quinolonas son sustratos de las bombas AdeABC y la AbeM (9) (cuadro 2)(12).

Tetraciclinas y glicilciclinas: la resistencia de *A. baumannii* a este grupo de antibióticos está mediada por bombas de expulsión y proteínas de protección ribosomal. Las bombas de expulsión incluyen TetA y TetB, codificadas por los genes *tet(A)* y *tet(B)*; la primera confiere resistencia solo a tetraciclina, mientras que la segunda expulsa tetraciclina y minociclina. La codificación de las proteínas de protección ribosomal está mediada por el gen *tet(M)*. La bomba expulsión AdeABC también puede expulsar tetraciclinas y la tigeciclina (cuadro 2)(12).

Colistina: la resistencia a colistina ha sido asociada con los genes *pmrA* y *pmrB* que originan cambios en genes relacionados con la modificación del lípido A, con la consiguiente pérdida o deficiencia de la producción de lipopolisacárido y con la modificación de la porina OmpW (tabla 2)(12).

Trimetoprim, sulfonamidas y cloranfenicol: la resistencia a sulfonamida está mediada por el gen *sul* que se encuentran en la región 3' de un integrón. El gen *dhfr* confiere resistencia a trimetoprim, mientras que la bomba de expulsión CraA (del inglés: chloramphenicol resistance *Acinetobacter*) confiere resistencia a cloranfenicol. La bomba AdeABC también confiere resistencia a estos dos últimos antibióticos (tabla 2)(12).

Los porcentajes de resistencia en bacterias gramnegativas, incluyendo *A. baumannii*, son más altos en Suramérica en comparación con los de Europa y Estados Unidos. En un estudio realizado por el Programa de Vigilancia SENTRY en el que se evaluaron los porcentajes de resistencia de bacilos gramnegativos recolectados en Argentina, Brasil y Chile, se encontró que los porcentajes de resistencia a imipenem en *A.baumannii* aumentaron de 6,4 %, 12,6 % y 0,0 % en el 2008 a 84,9 %, 71,4 % y 50,0 % en el 2010 en Argentina, Brasil y Chile, respectivamente (12).

TABLA 2: Mecanismos de resistencia de *A. baumannii* a antibióticos diferentes de los betalactámicos. Tomado de (12).

Grupo de antibióticos	Mecanismo de resistencia	Variantes	Perfil de resistencia
Aminoglicósidos	Enzimas modificadoras de aminoglicósidos	AAC, ANT, APH	Variable
	Metilación 16S RNA	<i>armA</i>	Todos los aminoglicósidos
	Bombas de expulsión	AdeABC	Todos los aminoglicósidos.
Quinolonas	Mutación genética	AdeM	Gentamicina, kanamicina
		<i>gyrA</i> , <i>parC</i>	Variable
		AdeABC	Todas las quinolonas
Tetraciclinas, glicilciclinas	Bombas de expulsión	AdeM	Variable
		Tet (A)	Tetraciclina, pero no minociclina
		Tet (B)	Tetraciclina, minociclina
Polimixinas	Protección ribosomal	AdeABC	Tetracilinas, glicilciclinas
		<i>tet(M)</i>	Tetraciclinas
		<i>pmrA</i> , <i>pmrB</i>	Colistina
Trimetoprim, sulfonamidas, Cloranfenicol	Modificación porinas	OmpW	Colistina
		Alteración del blanco	Sulfonamidas
		Bombas de expulsión	Trimetoprim
		<i>dnfr</i>	Cloranfenicol
		CraA	Cloranfenicol
		AdeABC	Trimetoprim, cloranfenicol

Las cepas multirresistentes de *Acinetobacter* también son particularmente comunes con más del 60% de todas las cepas de *Acinetobacter* adquiridas en el hospital y resistentes a

múltiples fármacos, incluidos los carbapenems. Además, esta resistencia surgió en un período de tiempo muy corto con un aumento de más del 30% en cepas de *A. baumannii* resistentes a carbapenem desde 1995 y 2004, lo que coincide estrechamente con la rápida propagación de OXA. Durante el mismo período, la resistencia al aminoglucósido amikacina, a la quinolona ciprofloxacino y a la combinación del inhibidor de la β -lactama / β -lactamasa piperacilina-tazobactam también aumentó de manera constante. *Acinetobacter* y *Klebsiella* multirresistentes son tan peligrosos que sus brotes han provocado el cierre de salas de hospital en múltiples ocasiones (11).

Las especies de *Acinetobacter* causan principalmente infecciones asociadas a la atención médica, como neumonía e infecciones del torrente sanguíneo (14).

La resistencia a los antibióticos en las especies de *Acinetobacter* mostró grandes variaciones en toda Europa, con porcentajes de resistencia generalmente altos en los países bálticos, el sur y el sureste de Europa. La resistencia combinada a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y carbapenems fue el fenotipo de resistencia descrito con mayor frecuencia en 2016, y representó casi la mitad de los aislamientos reportados. De los países que informaron resultados de resistencia para 10 o más aislamientos, 10 de 26 tuvieron porcentajes de 50% o más para este tipo de resistencia combinada. Esta es una indicación de opciones seriamente limitadas para el tratamiento de pacientes infectados con especies de *Acinetobacter* en estos países (14).

5.2 PSEUDOMONAS AERUGINOSA

P. aeruginosa es un gramnegativo, anaerobio facultativo y patógeno oportunista. Es la causa más común de infecciones crónicas pulmonares en pacientes con fibrosis quística (FQ). Con frecuencia, estas cepas son altamente resistentes y ya no es infrecuente ver infecciones relacionadas con la FQ que son resistentes a todos los antibióticos, excepto a las polimixinas. *P. aeruginosa* emplea un sistema de secreción tipo III para extraer una gran cantidad de citotoxinas potentes directamente en las células huésped. Tiene una alta tolerancia ambiental, especialmente con respecto a los requisitos nutricionales y se sabe que sobrevive en entornos tan diversos como el combustible para aviones y desinfectantes. *P. aeruginosa* naturalmente tiene una gran cantidad de sideróforos (portadores de Fe^{3+}) y pigmentos que le permiten evadir el sistema inmunitario innato (11).

Esta bacteria presenta resistencia natural y adquirida a un gran número de antibióticos, como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto es debido a que su membrana celular le dota de unas propiedades excepcionales de impermeabilidad (15).

El problema reside en que no solo las cepas de la propia especie pueden transmitirse entre ellas el material genético que media la resistencia, sino que se puede diseminar a partir de otras bacterias gramnegativas como las enterobacterias. *P. aeruginosa* es capaz de desarrollar resistencia durante el tratamiento antibiótico, ya que algunos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia que una bacteria tiene latentes. Esta inducción de resistencia varía dependiendo de cada antibiótico, por ejemplo, ceftazidima, una cefalosporina de tercera generación con actividad antipseudomonas, tiene el riesgo más bajo de inducir resistencia en bacterias previamente sensibles a ceftazidima; por otro lado, imipenem presenta la tasa más alta de emergencia de resistencia después del tratamiento. Otras sustancias como el zinc, componente de una clase de catéteres urinarios, también inducen cambios moleculares que activan la resistencia a imipenem (15).

Los principales mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* comprenden:

- Presencia de betalactamasas
- Bombas de expulsión
- Mutaciones de las porinas transmembranales

5.2.1. BETALACTAMASAS

Las betalactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de los antibióticos, de esta manera destruyen el sitio activo del antibiótico e impiden su actividad. Estas enzimas son susceptibles de ser inhibidas por el clavulanato, el sulbactam y el tazobactam, aunque no todas son susceptibles ni responden de igual forma a esta inhibición (15).

P.aeruginosa posee dos clases de betalactamasas: Amp-C y las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Amp-C, está codificada en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios betalactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Si esto sucede, hay resistencia a penicilinas y cefalosporinas (ceftazidime, cefepime) pero el grado de resistencia depende de la represión de la Amp-C. El problema reside en que esta enzima, es inducida en cuestión de días, por tanto, antes del tratamiento, los betalactámicos parecen servir, pero clínicamente el paciente no mejora y se descubre posteriormente la inducción completa de la enzima (15).

Las BLEE están codificadas por plásmidos y se adquieren mediante transporte de DNA extracromosomal, manifestando también resistencia a penicilinas y a cefalosporinas (15).

Las betalactamasas que son adquiridas de manera más frecuente por plásmidos son la PSE-1 y la PSE-4. Otras BLEE incluyen la PER-1 que confiere franca resistencia a ceftazidima pero que pierde su poder al adicionar clavulanato. TEM, SHV y OXA, son BLEE que confieren resistencia a monobactámicos, penicilinas, cefalosporinas, pero respetan carbapenémicos. También existen metalo betalactamasas que tienen la capacidad de hidrolizar las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos pero no el aztreonam; estas son IMP y VIM recientemente descritas en Japón y Europa (15). Algunas cepas han adquirido una variedad de β -lactamasas, incluidas las BLEE, *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) y metallo- β -lactamasas (MBL) (11). Se ha descrito un elemento genético móvil (un transposón) en *P.aeruginosa*, concretamente el transposón Tn4401, el cual es idéntico al hallado en *K.pneumoniae*, identificado en un plásmido llamado pCOL-1 lo que permite la diseminación mundial de los genes KPC entre las especies EPA (*Enterobacteria, Pseudomonas y Acinetobacter*) (13).

También puede albergar otras enzimas de resistencia a los antibióticos como VIM codificada por blaVIM, de hecho, entre las enzimas de tipo VIM, que ahora comprenden > 30 variantes, blaVIM-1 se informó por primera vez en Verona, Italia, en un aislado clínico de *P. aeruginosa* recuperado en 1997, y se integró como un casete de genes localizado en un integrón clase I junto con un gen aacA4 responsable de la resistencia a los aminoglucósidos. La variante VIM-2 se informó también por primera vez en un aislado clínico de *P. aeruginosa* en Francia, el gen se integró de igual manera que el anterior, como un casete genético en un integrón clase I y ahora es endémico en muchos países del mundo (13).

La combinación de estas enzimas conduce a altas tasas de resistencia al carbapenem entre los aislados de *P. aeruginosa* y también a la aparición de cepas resistentes a las fluoroquinolonas, ya que los mecanismos correspondientes de resistencia pueden ser transportados por el mismo plásmido (16).

La misma estructura genética de blaNDM-1 que se caracteriza en las enterobacterias ha sido identificada en *P. aeruginosa*, donde se localiza en la región variable de un nuevo integrón complejo de clase 1 que lleva la secuencia de inserción ISCR1 y se localiza en el cromosoma bacteriano (13).

5.2.2. BOMBAS DE EXPULSIÓN

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan detergentes y sustancias anfipáticas capaces de destruir la bacteria. *P. aeruginosa* ya poseía estos complejos enzimáticos antes de la era antibiótica. Este complejo llamado MexAB-OprM, está compuesto por una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa (Figura1), siendo capaz de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración una amplia gama de antibióticos tales como betalactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de que la bacteria sea “impermeable” a la mayoría de los antibióticos (15).

Las bombas de expulsión, también pueden ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacino; además, los cambios mutacionales, incluso de una sola base nucleotídica en el ADN cromosómico de la bacteria, pueden permitir la sobreexpresión de estas bombas (15). El sistema de bombeo de flujo de salida de *P.aeruginosa* es extremadamente completo. Las mutaciones que resultan en la pérdida de la porina de OprD junto con la regulación positiva (sobreexpresión) de las bombas de eflujo de MexEF-OprN dan como resultado resistencia a los carbapenems y las fluoroquinolonas. La regulación al alza de MexCD-OprJ también produce resistencia a las fluoroquinolonas y algunos β -lactámicos. La regulación al alza de MexAB-OprM confiere resistencia a las sulfonamidas, β -lactámicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, macrólidos, novobiocina, tetraciclina, cloranfenicol y algunos detergentes e incluso a meropenem pero no imipenem (11)(15). La sobreexpresión de MexXY-OprM afecta a los betalactámicos, las quinolonas, el meropenem y los aminoglucósidos sin afectar la acción del imipenem (15).

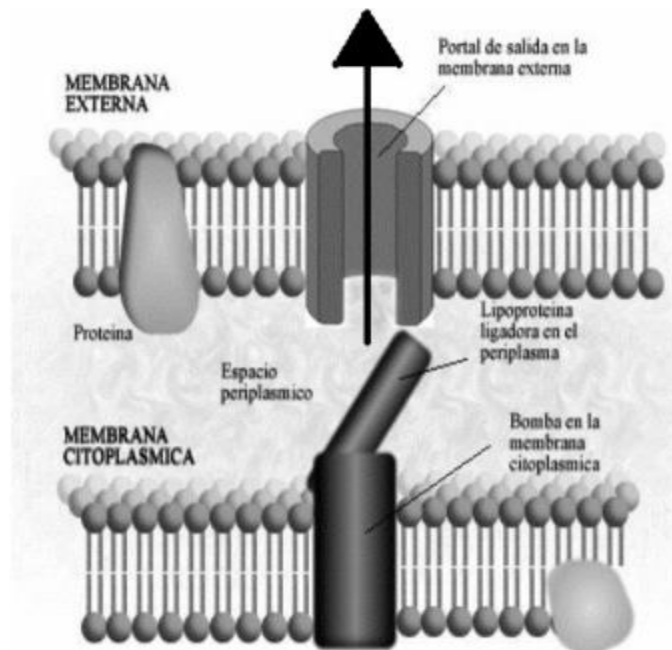


FIGURA 2: Esquema del mecanismo de expulsión de antibióticos *MexAB-OprM*. Modificada de (15). La flecha indica la vía de salida del antibiótico desde el espacio periplásmico hacia el exterior de la bacteria. Note los tres componentes de la bomba de expulsión: la bomba en

la membrana citoplasmática, la proteína ligadora y la porina de salida en la membrana externa.

5.2.3. PORINAS TRANSMEMBRANALES

Las porinas son proteínas transmembranales que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. En *Pseudomonas aeruginosa* se ha descrito la porina de membrana OprD cuyo papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Se conoce también que es capaz de permitir la entrada de carbapenémicos, aunque no de otros betalactámicos (15).

La afinidad y la capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina es casi 70 veces más alta que la de meropenem. El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento cepas que muestran mutaciones en la porina OprD, que demuestran disminución de la afinidad y el transporte de este antibiótico a través de esta proteína. Estas cepas mutantes muestran un aumento de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para imipenem, lo que las hace francamente resistentes a este carbapenem. Con respecto a meropenem, estas cepas mutantes también han demostrado un aumento de la CMI a valores que, si bien no demuestran resistencia, si revelan disminución de la susceptibilidad. La resistencia franca a meropenem exige dos mecanismos de resistencia ya mencionados: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de bombas de expulsión que toman a meropenem como sustrato. La mutación del gen *OprD* se sospecha ante una cepa francamente resistente a imipenem con susceptibilidad reducida o preservada a meropenem y sin afectar a otros betalactámicos, a menos que estén presentes otros mecanismos de resistencia (15).

De forma menos frecuente se encuentra la resistencia a las quinolonas asociadas a mutaciones de las dianas de acción. La mutación de la topoisomerasa tipo II, diana de ciprofloxacino, confiere una resistencia aislada a esta quinolona. Desde el punto de vista epidemiológico este mecanismo se considera menos importante, debido a que en el medio hospitalario el aumento de la resistencia a ciprofloxacino, está asociado con mayor frecuencia a bombas de expulsión que tienen como sustrato a este antibiótico (15).

Además de poseer porinas de membrana externa particularmente discriminatorias que hacen que su membrana externa sea impermeable y, por lo tanto, naturalmente resistente a muchos antibióticos, también presenta una alta propensión a formar biopelículas que pueden aumentar la resistencia a los antibióticos de 100 a 1000 veces (11).

Han sido aisladas cepas de *P. aeruginosa* panresistente susceptible solo a polimixinas. En un caso, la cepa aislada produjo AmpC β -lactamasas, disminuyó la expresión de la porina OprD y aumentó la regulación del flujo de salida de MexXY. Otra cepa produjo una MBL, AmpC β -lactamasa y dos enzimas acetilantes de aminoglucósidos (AAC)(11), y es que se ha visto que hay cepas que son capaces de expresar acetiltransferasas, nucleotidil transferasas y fosfotransferasas, que son enzimas relacionadas con la modificación y resistencia de aminoglucósidos (16).

5.3 KLEBSIELLA PNEUMONIAE

K. pneumoniae es una bacteria gramnegativa, anaeróbica facultativa, principalmente oportunista que puede ser adquirida por la comunidad o de manera nosocomial. Esta bacteria tiene una cápsula de polisacárido gruesa que actúa como un factor antifagocítico y fue la primera especie en la que se aislaron los genes de resistencia a quinolona *qnr*. Esta especie también adquiere comúnmente determinantes de multiresistencia, y en particular una

impresionante variedad de β -lactamasas. Los más preocupantes son BLEE, KPC y, más recientemente, NDM-1. Los dos últimos han causado múltiples epidemias y, lo que es aún más preocupante, son capaces de propagarse a otras especies. *K.pneumoniae* resistente a los carbapenémicos (CRKP), con resistencia codificada por *blaKPC*, presenta un desafío importante ya que los carbapenems son antibióticos de último recurso ante gramnegativas. Además, el surgimiento del super enzima de *K.pneumoniae*, conocido como NDM-1 y codificado por *blaNDM-1*, ha aumentado la proporción de aislados de *K.pneumoniae* resistentes a carbapenem y puede representar una amenaza para otros antibióticos como los betalactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (16).

Al ser una cepa aislada frecuentemente en el ámbito de la atención médica, la aparición de *K. pneumoniae* multirresistente y la diseminación hacen que este microorganismo sea un patógeno nosocomial principal de infecciones como bacteriemia, septicemia e infecciones del tracto urinario (UTI) en niños. Además, las enterobacterias resistentes a carbapenem, especialmente *K. pneumoniae* resistentes a carbapenem (CRKP), están cada vez más implicadas en brotes esporádicos en todo el mundo debido a múltiples combinaciones de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas mediante la difusión de elementos genéticos móviles relacionado con la codificación de todas las clases de betalactamasas (17).

K. pneumoniae es intrínsecamente resistente a la ampicilina debido a la presencia de la penicilinas SHV-1 en su cromosoma. La resistencia a fármacos adicionales a veces surge a través de mutaciones cromosómicas, sin embargo, la mayor parte de la resistencia antimicrobiana en *K. pneumoniae* se debe a la adquisición de genes de resistencia a través de transmisión horizontal de genes, principalmente a través de plásmidos conjugativos (18).

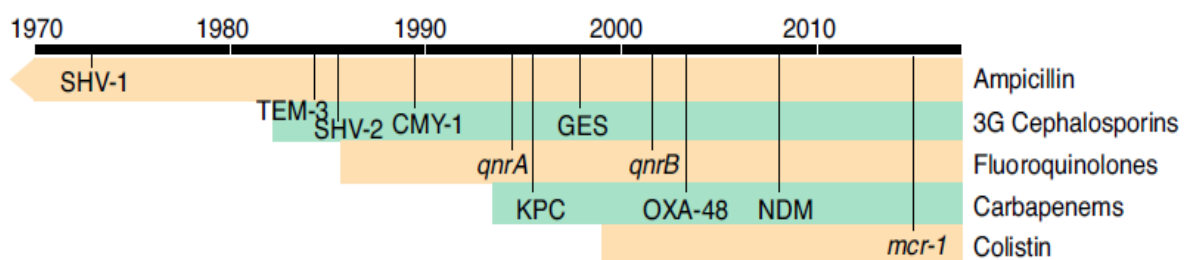


FIGURA 3: Línea de tiempo de los primeros genes móviles de resistencia antimicrobiana detectados en *Klebsiella pneumoniae*. Modificada de (18).

Los primeros genes móviles de resistencia a la ampicilina identificados en las poblaciones de bacterias gramnegativas fueron TEM (presentes en los primeros plásmidos descritos en los 60), y el gen cromosomal SHV-1 de *K. pneumoniae* se detectó por primera vez en otras Enterobacteriaceae en 1973 (18).

A principios de los años 80, con la introducción de la 3ª generación de cefalosporinas para uso clínico, se empezaron a detectar genes de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que confieren resistencia a estos fármacos. Las primeras formas incluyen variantes BLEE de SHV móvil (SHV-2; 1985), TEM (1984) y CMY (1989), las cuales se identificaron por primera vez en *K. pneumoniae* y ahora están extendidas entre enterobacterias, y en algunos casos también en *Acinetobacter* y *Pseudomonas*. El gen BLEE que está más diseminado es CTX-M, concretamente CTX-M-15, reportado por primera vez en la India a mediados de los 90 y del que se conoce que el gen saltó del cromosoma de sus hospedadores naturales, *Kluyvera spp*, a plásmidos que posteriormente se diseminaron ampliamente. Este gen se asocia íntimamente con el clon pandémico de *E. coli* ST131 y varios clones de *K. pneumoniae*, y está

presente en diversos plásmidos lo cual permite una amplia diseminación entre hospitales, humanos y animales, siendo la causa principal de resistencia adquirida a cefalosporinas de 3ª generación en Enterobacteriaceae (18)(19).

En los años 90, la introducción de carbapenémicos y fluoroquinolonas se encontró de manera muy rápida con la aparición de genes de resistencias asociados a estos fármacos, teniendo un papel clave en este suceso *K. pneumoniae*. Los genes de resistencia de quinolona móviles *qnrA* y *qnrB* se identificaron por primera vez en *K. pneumoniae*, después de la movilización desde la bacteria marina *Shewanella*, y ahora son comunes entre los plásmidos de Enterobacteriaceae. La carbapenemasa *K. pneumoniae* (KPC) apareció a mediados de los 90 en EEUU y derivó en la propagación del brote hospitalario pandémico del clon *K. pneumoniae* ST258, el cual está diseminado globalmente.

El gen KPC, cuya diseminación mundial ha quedado demostrada que está asociada a un elemento genético móvil (transposón Tn4401)(13), ha sido transferido a diferentes plásmidos y está ampliamente dispersado entre enterobacterias y también en *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (18).

La carbapenemasa OXA-48 se origina en *Shewanella* y fue detectado por primera vez en *K. pneumoniae* en Turquía en 2003. Fue asociado con brotes hospitalarios en Europa y ahora se ha informado en todo el mundo, aunque no tan dispersado como KPC (18).

En 2008 se reportó un nuevo tipo de gen de resistencia a los carbapenémicos, denominado *bla*NDM-1. El gen es transmitido por plásmidos y se ha reportado en diferentes cepas aisladas de pacientes que habían viajado y en otros que no lo habían hecho recientemente. En 2010, NDM-1 se había propagado a numerosos plásmidos y a enterobacterias, siendo detectado también dentro del cromosoma de *E. coli* y *Providencia stuartii*, y difundida entre *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (18). El gen *bla*NDM-1, el último gen de la metalo-carbapenemasa que se ha encontrado, se ha diseminado intercontinentalmente. Curiosamente, se ha informado que *bla*NDM-1 puede asociarse con diferentes tipos de secuencias de inserción, y esta característica de *bla*NDM-1 y los otros genes de metalo-betalactamasa explican en parte sus diferentes propensiones a diseminarse (13).

Desde la primera identificación de NDM-1, las cepas productoras se han diseminado rápidamente por todo el mundo. La mayoría de estas cepas sólo son susceptibles a la tigeciclina y la colistina, incluso se han reportado cepas panresistentes (11).

El primer gen móvil resistente a la colistina MCR-1 fue reportado en China en 2015 en *E. coli* y *K. pneumoniae*, siendo detectado en los 5 continentes en 2016 (18).

5.3.1. IMPACTO CLÍNICO

En 2007, en Grecia, se reportó una *K. pneumoniae* resistente a carbapenems, mediante una carbapenemasa perteneciente a la familia VIM; representaba el 42% de todos los aislamientos de este microorganismo, que fueron principalmente de la sangre según informó el Sistema de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana Europea (European Antimicrobial Resistance Surveillance System, EARSS). Para ese mismo año, de acuerdo a los datos presentados al CDC (Centers for Disease Control and Prevention), hubo un 8% de *K. pneumoniae* resistente a carbapenems comparado con menos del 1% reportado en 2000 (20).

A lo largo del 2008 se reportaron altas frecuencias de aislamientos de *K.pneumoniae* productores de BLEE en todo el mundo, así: 9% en Europa y Estados Unidos, 25% en Asia y 45% en Sur América (20).

La resistencia a los antibióticos en *K. pneumoniae* es un problema de salud pública en Europa. Más de un tercio de los aislamientos de *K. pneumoniae* informados a EARS-Net para 2016 fueron resistentes a al menos uno de los grupos de antibióticos bajo vigilancia (fluoroquinolonas, cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y carbapenems), y la resistencia combinada a múltiples grupos de antibióticos fue común. Se observó un gradiente de norte a sur y sureste para la mayoría de los grupos antimicrobianos, con porcentajes de resistencia generalmente más bajos en los países del norte de Europa y porcentajes más altos en las partes sur y sureste de Europa (14).

5.4 ESCHERICHIA COLI

E. coli es gramnegativo, anaerobio facultativo y suele ser comensal pero también puede ser patógena. Recientemente se ha visto un aumento de cepas altamente resistentes debido a la transferencia horizontal de genes cuando, tradicionalmente, ha sido susceptible al arsenal terapéutico. Esto es preocupante ya que las infecciones por *E. coli* son las más habituales en humanos en cuanto a infecciones por gramnegativas, siendo una de las causas más frecuentes de infecciones del tracto urinario, y en Europa se ha visto que han emergido cepas resistentes con BLEEs confiriendo resistencia a cefalosporinas de 3ª generación pero también se ha observado en bacteriemias resistencia cruzada con fluoroquinolonas (80%) y gentamicina (40%). *E. coli* ha adquirido en muchos continentes la enzima Nueva Delhi Metallo-βlactamasa-1 (NDM-1) desde *K. pneumoniae*, lo que le confiere una amplia resistencia a todos los betalactámicos incluidos los carbapenémicos, salvo monobactam y aztreonam. Las bacterias que sobreexpresan los genes plasmídicos *FomA* y *FomB* son capaces de inactivar la fosfomicina (11).

5.4.1. BETALACTÁMICOS

Se viene observando desde hace unos años en enterobacterias la aparición de betalactamasas de la familia CTX-M, que es una BLEE que afecta la actividad de cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Un ejemplo de la emergencia de estas betalactamasas CTX-M es un estudio realizado en 32 cepas de *E. coli* BLEE resistentes a cefalosporinas aisladas de pacientes pediátricos hospitalizados en Túnez, se informó una frecuencia del 97 % de *bla*CTX-M-15. También se han descrito en *E. coli* las *bla*GES, las cuales son capaces de hidrolizar ceftazidima (21).

El gen *bla*OXA-48, descubierto por primera vez en 2004 en una cepa de *K. pneumoniae* aislada en Turquía, es el más extendido en las enterobacterias. De hecho, OXA-48 se ha descrito en diferentes Enterobacteriaceae, incluyendo *E. coli*, *S. marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Providencia rettgeri* y *Citrobacter freundii*. Esta enzima hidroliza los carbapenems a un nivel bajo, pero, en combinación con un mecanismo de impermeabilidad de la membrana, puede inducir una resistencia de alto nivel a los carbapenems. Algunas variantes de OXA-48, incluyendo OXA-181, OXA-204 y OXA-232, también se han informado en Enterobacteriaceae, y han mostrado una actividad similar contra los carbapenems (13).

5.4.2. QUINOLONAS

Los mecanismos moleculares de resistencia a las quinolonas abarcan desde las alteraciones en las dianas blanco de quinolonas, las bombas de expulsión activa hasta la transferencia de genes de resistencia plasmídicos. El primero de ellos es el mecanismo mayormente descrito, en el cual mediante una mutación puntual, hay un cambio en el codón 83 y se codifica otro

aminoácido de manera que se modifica el enzima blanco, confiriendo una alta resistencia a quinolonas como el ácido nalidíxico. La alta resistencia hacia fluoroquinolonas, tales como la ciprofloxacina, se relaciona con más de una mutación a nivel de *gyrA* (normalmente además de la posición 83 se afecta la posición 87) o con mutaciones además en *gyrA* a nivel de otros genes como *parC* (codones 80 o 84 de manera usual) (21).

Tradicionalmente, el papel de las bombas de expulsión ha sido considerado como accesorio y de poca relevancia, no obstante, se ha comprobado que, para el caso de ácido nalidíxico las bombas de expulsión sí cumplen una función importante en el nivel basal de resistencia a este antimicrobiano. Un ejemplo de esto fue descrito en *Escherichia coli* y es el gen *qepA*, que codifica una bomba de expulsión para fluoroquinolonas hidrofílicas tales como norfloxacino, ciprofloxacino y enrofloxacin.

Otro tipo de mecanismos de resistencia a quinolonas es el relacionado con la transferencia de genes mediante plásmidos, como es el caso de los genes *qnr* que codifican a la familia de las proteínas Qnr (QnrA, QnrB, QnrS, QnrC y QnrD) que se unen a la ADN girasa (*gyrA* y *gyrB*) y a la topoisomerasa IV (*parC* y *parE*) disminuyendo la acción de las quinolonas (21).

5.4.3. TETRACICLINAS

Los sistemas de eflujo, codificados por los genes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetI* y *tetY*, son el mecanismo de resistencia más común frente a las tetraciclinas. Pero también existen otros mecanismos de resistencia como protección ribosomal y acción enzimática sobre las tetraciclinas codificados por diferentes genes. Un estudio llevado a cabo en cepas de *E. coli* comensales aisladas de niños en Suecia, muestra que *tetB* y *tetA* fueron los genes de resistencia a tetraciclinas más prevalentes, 51 y 49 % respectivamente en un total de 37 cepas. Lo cual es importante debido a que las tetraciclinas no se utilizan en niños, sin embargo, estos genes fueron aislados de bacterias de la flora intestinal que están sirviendo de reservorio de resistencia antibiótica. En el estudio de Mosquito et al., en un total de 106 cepas de *E. coli* peruanas tetraciclina resistentes se observó que *tetA* estuvo presente en el 26,4 % de las cepas, mientras que *tetB* estuvo presente en el 17,9 % de las cepas (21).

La resistencia a los antibióticos en *E. coli* requiere mucha atención, ya que el porcentaje de aislamientos resistentes a los antibióticos de uso común continúa aumentando en toda Europa. Más de la mitad de los aislamientos informados a EARS-Net en 2016 fueron resistentes a al menos uno de los grupos de antibióticos bajo vigilancia (aminopenicilinas, fluoroquinolonas, cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y carbapenems). Los porcentajes de resistencia más altos se registraron en el sur y sureste de Europa (14). De particular preocupación son los aumentos en la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación y la resistencia combinada a las cefalosporinas, fluoroquinolonas y aminoglucósidos de tercera generación que aumentaron significativamente a nivel de la UE / EEE, así como en varios países individuales (según los laboratorios que informan constantemente durante el período) entre 2013 y 2016. La resistencia a los carbapenems en *E. coli* se mantuvo baja (<0,1%) en la UE / EEE (14).

TABLA 3: Principales mecanismos de resistencia antibiótica estudiados en *E. coli*. Modificada de (21).

Familia de antibióticos	Mecanismo de acción	Mecanismos de resistencia	Genes implicados
Betalactámicos	Interfiere en las últimas fases de la síntesis del peptidoglicano, componente necesario en la formación de la pared bacteriana	Betalactamasas: enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del núcleo betalactámico, inactivando de esta manera el antibiótico	Genes que codifican betalactamasas: <i>bla</i> TEM, <i>bla</i> SHV, <i>bla</i> CARB, <i>bla</i> OXA, <i>bla</i> CTX-M y <i>bla</i> GES.
Quinolonas	Inhibe la acción de las topoisomerasas y de la ADN girasa bacterianas	Mutaciones puntuales que generan el cambio de aminoácidos en la enzima blanco del antibiótico	Mutaciones a nivel de <i>gyrA</i> (gen que codifica una subunidad de la ADN girasa) y <i>parC</i> (gen que codifica una subunidad de la topoisomerasa IV).
		Sistemas de expulsión	AcrAB-like (sistemas presente en diferentes enterobacterias)
Tetraciclinas	Se unen al ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de de proteínas	Presencia de genes plasmídicos de resistencia antibiótica	Familia de genes <i>qnr</i> (A, B, C, D S) que codifican proteínas Qnr que impiden estericamente la unión del antibiótico al blanco. Gen que codifica la variante <i>cr</i> de la acetiltransferasa 6' (AAC (6')-Ib-cr), capaz de acetilar fluoroquinolonas
		Presencia de bombas de eflujo específicas para tetraciclinas	Genes <i>tetA</i> y <i>tetB</i> que codifican sistemas de eflujo

6-CONCLUSIÓN

La resistencia antimicrobiana existe desde antes del descubrimiento de los primeros antibióticos, pero, ante la presión selectiva debida entre otros factores a un mal uso de los antibióticos lo que sucede es que muchas bacterias son capaces de transferir genes de resistencia a otras bacterias mediante plásmidos diseminando esos genes por todo el mundo y confiriendo resistencias a todo el arsenal terapéutico disponible.

Los patógenos ESKAPE y en particular los que son prioridad 1 según la OMS constituyen un problema muy importante a nivel sanitario en todo el mundo debido a la capacidad que tienen para transferir y desarrollar resistencias a los antibióticos disponibles. Los microorganismos presentan un gran arsenal de mecanismos de resistencias, desde la expresión de enzimas que inactivan a los antibióticos, la presencia de bombas de eflujo que expulsan a los antibióticos fuera de la bacteria hasta la presencia de porinas que no permiten la entrada de los antibióticos entre otros tantos. Según la OMS, el papel clave en los patógenos de prioridad 1 lo llevan a cabo una serie de betalactamasas de espectro ampliado o extendido, principalmente carbapenemasas que originan muchas complicaciones a la hora de tratar las infecciones causadas por estos microorganismos ya que los antibióticos carbapenémicos son uno de los últimos recursos para tratar infecciones de gramnegativas.

Observando con detenimiento todos los problemas, principalmente sanitarios, que puede acarrear esta situación en el futuro próximo hay que concienciar más a la población de que realicen un uso racional, óptimo y prudente de los antibióticos, y a los profesionales sanitarios que lleven a cabo tratamientos empíricos para evitar que sigan aumentando los porcentajes de cepas resistentes en todo el mundo.

7-BIBLIOGRAFÍA

1. Fariñas MC, Martínez-Martínez L. Multiresistant Gram-negative bacterial infections: Enterobacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and other non-fermenting Gram-negative bacilli. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(6):402-9.
2. OMS. Resistencia a los antimicrobianos. Who Media Centre. 2016.

3. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. WHO Report. 2014.
4. Dario Rodriguez Buenahora R, Enrique Bustillo Zarate D, Carolina Caicedo Sanchez D, Cristina Cadena Sarmiento D, Castellanos Gomez C, Colombia S. Infectología Revisión de Tema *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. 29(2).
5. Rotger R, Martínez M. Fármacos antimicrobianos: mecanismos de acción y resistencia. Madrid: Dextra; 2016.
6. Pujol M, Limón E. Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Enferm Infecc Microbiol Clin,. 2016;31(2):108-13.
7. Weist K, Monnet DL, Goossens H, Coignard B, Catry B, Suetens C, et al. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use. Eurosurveillance. 2017;17(46).
8. Vaqué J, Otal JJ, De G, Epine T. EPINE EVOLUCIÓN 1990-2016;39.
9. Madigan M. Brock Biology of Microorganisms, 14th edn. International Microbiology. 2015.
10. World Health Organisation (WHO). WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. WHO Media Centre. 2017.
11. Fair RJ, Tor Y. Perspectives in Medicinal Chemistry Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. 2014;25-64.
12. Vanegas-Múnera JM, Roncancio-Villamil G, Jiménez-Quiceno JN. *Acinetobacter baumannii*: Clinical importance, resistance mechanisms and diagnosis. Vol 28. 2014;(2):233-46.
13. Diene SM, Rolain JM. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin Microbiol Infect. 2014;20(9):831-8.
14. European Centre for Disease Prevention and Control. Antibiotic resistance in the European Union. EARS-Net Surveill Data. 2017;(November):1-5.
15. Gómez CA, Leal AL, Pérez M de J, Navarrete ML. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: understanding a dangerous enemy. Rev la Fac Med. 2005;53(1):27-34.
16. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in Pasteurellaceae. Pasteurellaceae Biol Genomics Mol Asp. 2016;2016:1-8.
17. Navidinia M, Goudarzi M, Rameshe SM, Farajollahi Z, Asl PE, Khosravi SZ, et al. Molecular characterization of resistance genes in MDR-ESKAPE pathogens. J Pure Appl Microbiol. 2017;11(2):779-92.
18. Wyres KL, Holt KE. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. Curr Opin Microbiol. 2018;45:131-9.
19. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: A molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Dis. 2010;10(9):597-602.
20. Cataño J, Echeverri L. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. Iatreia. 2006;23(3):240-9.
21. Mosquito S, Ruiz J, Bauer JL, Ochoa TJ. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011;28(4):648-56.