

CAPÍTULO 1

RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS

Adriana María Correa Bermúdez*

<https://orcid.org/0000-0003-2024-6975>

Elsa De La Cadena Vivas**

<https://orcid.org/0000-0003-0361-7893>

La resistencia microbiana ha sido considerada como una amenaza para la salud pública a nivel mundial. Entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades de los Estados Unidos (CDC por sus siglas en inglés: *Centers for Disease Control and prevention*) establecieron la lucha contra la resistencia antimicrobiana como una de sus prioridades (CDC, 2020). La selección de microorganismos resistentes a los antimicrobianos es

* Universidad Santiago de Cali. Cali, Colombia

✉ adriana.corea@usc.edu.co

** Universidad El Bosque. Bogotá, Colombia

✉ ecadenav@unbosque.edu.co

Para citar este capítulo:

Correa Bermúdez, A. y De La Cadena Vivas, E. Resistencia bacteriana a los antibióticos beta-lactámicos. En: Correa Bermúdez, A.; De La Cadena Vivas, E.; Rojas, R.; Falco, A.; Aranaga, C.; Alonso, G. et al. (2020). *Estudios en resistencia a los antibióticos beta-lactámicos en bacterias Gram negativas*. (pp. 11-34). Cali, Colombia: Editorial Santiago de Cali.

cada día más común debido, entre otros, al uso de antibióticos de mayor espectro y hospitalizaciones prolongadas que generan mayores tasas de morbi-mortalidad. La resistencia microbiana se ha reportado a todo nivel, bacterias, hongos, virus y parásitos (Septimus, 2018).

En el caso de la resistencia en bacterias, ésta se ha clasificado según su perfil fenotípico como multidrogorresistencia o MDR (por sus siglas en inglés *Multi-drug Resistance*), resistencia extendida o XDR (por sus siglas en inglés *Extended Drug Resistance*) y pan-resistente PDR (por sus siglas en inglés *Pan-drug Resistance*) para caracterizar los diferentes patrones de resistencia. Se han utilizado múltiples definiciones sobre esta terminología, sin embargo, en el año 2011, los grupos del ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) y el CDC crearon una clasificación internacional para *Staphylococcus aureus*, Enterobacterales (no incluidas *Salmonella* y *Shigella*), *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*, (ver tabla 1) (Magiorakos et al., 2012).

Tabla 1. Categoría de antimicrobianos para definir MDR, XDR y PDR en bacterias Gram negativas

Enterobacterales	<i>Acinetobacter spp</i>
Aminoglucósidos (Gentamicina/ Tobramicina/Amikacina/ Netilmicina)	Aminoglucósidos (Gentamicina/Tobramicina/ Amikacina/Netilmicina)
Anti- MRSA cefalosporinas (Ceftarolina)	Carbapenems (Imipenem/ Meropenem/ Doripenem)
Penicilinas+inhibidores de B-lactamasas antipseudomonas (Ticarcilina-ácido clavulánico/ Piperacilina-Tazobactam)	Fluoroquinolonas Antipseudomonas (Ciprofloxacina/ Levofloxacina)

Carbapenems

(Ertapenem/Imipenem/
Meropenem/Doripenem)

**Cefalosporinas de 1ra y 2da
generación** (Cefazolina/
Cefuroxima)

**Cefalosporinas de 3ra y 4ta
generación** (Cefotaxime/
Ceftriaxona/Ceftazidima/
Cefepime)

Cefamicinas

(Cefoxitin/Cefotetan)

Fluoroquinolonas
(Ciprofloxacina)

Inhibidores de Folatos -
Trimetoprima-sulfametoxazol)

Gliciliclinas-(Tigeciclina)

Monobactams - (Aztreonam)

Penicilinas - (Ampicilina)

**Penicilinas+inhibidores
de B-lactamasas**
(Amoxicilina-clavulanato/
Ampicilina-sulbactam)

Ácido fosfónico: (Fosfomicina)

Polimixinas (Colistina)

**Penicilinas+inhibidores
de B-lactamasas
antipseudomonas**

(Ticarcilina-ácido clavulánico/
Piperacilina-Tazobactam)

**Cefalosporinas de 3ra y 4ta
generación** (Cefotaxime/
Ceftriaxona/ Ceftazidima/
Cefepime)

Inhibidores de Folatos
(Trimetoprima-
sulfametoxazol)

**Penicilinas+inhibidores de
B-lactamasas** (Ampicilina-
sulbactam)

Polimixinas (Colistin/
Polimixina B)

Tetraciclinas (Tetraciclina/
Doxiciclina/Minociclina)

MDR: No susceptible a ≥ 1
agente en ≥ 3 categorías

XDR: No susceptible
a ≥ 1 agente en todas
las categorías, pero ≤ 2
categorías

Tetraciclinas: (Tetraciclina/
Doxiciclina/Minociclina)

PDR: No susceptible a todos
los antimicrobianos listados

Fuente: Adaptado de Magiorakos et al., 2012.

Este fenómeno de la resistencia inicialmente fue observado solo en pacientes de las Unidades de Cuidado Intensivo (UCI), generando: 1) Hospitalizaciones prolongadas; 2) Mayores tasas de morbi-mortalidad; 3) No disponibilidad de antibióticos para el tratamiento de estas infecciones; 4) Aumento en los costos asociados al cuidado de la atención en salud (Schwaber et al., 2006). Sin embargo, en la actualidad se observa en otras áreas de hospitalización y aún en infecciones de origen en la comunidad (Otto, 2013).

Mecanismos de resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antibioticos puede ser generada por diferentes mecanismos. A continuación, se mencionan los principales:

Disminución en la permeabilidad de la membrana externa: La membrana externa de las bacterias Gram negativas es el primer obstáculo que deben vencer los antibióticos para alcanzar el sitio blanco, la cual a su vez funciona como una barrera de permeabilidad. Algunos antibióticos como los beta-lactámicos, tetraciclinas y algunas quinolonas, utilizan las proteínas de membrana externa también conocidas como OMP (por sus siglas en inglés *Outer Membrane Protein*), o porinas, como canales de entrada a la bacteria. Los factores que intervienen en este proceso están relacionados con la carga eléctrica del compuesto y su hidrofobicidad. Moléculas cargadas negativamente ingresan de manera lenta a la bacteria, mientras aquellas cargadas positivamente o con carga neutra (Zwitteriones) entran con mayor facilidad. Las bacterias tienen la capacidad de generar mutaciones

en las porinas que cambian su estructura y evitan que estas últimas sean utilizadas por los antibióticos como su canal de entrada (Delcour, 2009; Pagès et al., 2008).

Bombas de expulsión: Otra barrera que los antibióticos deben evadir para llegar al sitio blanco son las bombas de expulsión. Estos son sistemas generalmente de tres componentes que les permiten a las bacterias un intercambio dinámico, permitiendo el ingreso de sustancias necesarias para su desarrollo y eliminando sustancias tóxicas para su supervivencia del espacio periplásmico al espacio extracelular. Se conocen seis familias de transportadores o bombas de expulsión (Kusakizako et al., 2019), las cuales tienen la capacidad de expulsar drogas no relacionadas. Análisis cinéticos del transporte de antibióticos mostraron que estos transportadores poseen múltiples sitios de unión a sustratos, lo que les permite esa versatilidad (Shriram et al., 2018).

Alteraciones del sitio blanco: En las bacterias pueden ocurrir mutaciones capaces de alterar el sitio donde se fija y actúa el antibiótico, impidiendo que interrumpa una función vital de ésta. Un ejemplo de este mecanismo es la resistencia a quinolonas en las bacterias Gram negativas, dada por una alteración de la ADN-girasa y topoisomerasa IV por mutaciones puntuales en los genes *gyrA* y/o *parC* (Rice, 2012).

Modificación enzimática del antibiótico: Las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Como ejemplo de este fenómeno están las enzimas denominadas modificadoras de aminoglucósidos que catalizan la modificación del antibiótico a través de N-acetilación, O-nucleotidilación o la O-fosforilación. El segundo grupo de enzimas son las beta-lactamasas, capaces de hidrolizar los antibióticos beta-lactámicos, principal armamento para combatir las infecciones por

bacterias multidrogorresistentes (MDR). Dentro de este grupo las beta-lactamasas tipo carbapenemasas (CARB) son las de mayor impacto clínico, ya que confieren resistencia a prácticamente la mayor parte de los beta-lactámicos (Rice, 2012).

En general, aunque todos o parte de estos mecanismos de resistencia pueden estar presentes en las bacterias Gram negativas, sin duda alguna la producción de beta-lactamasas son el mecanismo más prevalente e importante en bacterias Gram negativas. Las beta-lactamasas son enzimas producidas tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas, sin embargo, en las Gram positivas, las beta-lactamasas no son el principal mecanismo de resistencia ya que son diluidas en el espacio extracelular mientras que las Gram negativas, son secretadas al espacio periplásmico donde se acumulan generando una ventaja adaptativa, ya que no es indispensable que tengan alta afinidad por el sustrato gracias a las concentraciones alcanzadas en el espacio periplásmico (Matagne et al., 1998).

Clasificación de las beta-lactamasas

Existen dos clasificaciones ampliamente utilizadas para las beta-lactamasas; la primera denominada clasificación funcional, que está basada en el espectro hidrolítico de la enzima y la susceptibilidad a inhibidores, independientemente de su ubicación cromosómica o plasmídica (Bush, 1989). Esta clasificación presenta inconvenientes relacionados con la presencia de mutaciones puntuales que puedan cambiar la actividad hidrolítica de la enzima generando la necesidad de reasignarla nuevamente a otro grupo. La segunda y la más utilizada denominada clasificación molecular, propuesta por Ambler (Ambler et al., 1991), está basada en la comparación por homología de la secuencia de los aminoácidos, lo que la hace más estable ya que, los porcentajes de

homología no se alteran fácilmente a pesar de presentar mutaciones puntuales. Esta clasificación reconoce cuatro clases designadas de la A a la D. Las clases A, C y D son evolutivamente distintas, sin embargo, comparten una relación fundamental en un residuo de serina en su sitio activo que les permite hidrolizar el antibiótico formando un enlace serín-éster, de allí su nombre de serín-beta-lactamasas. En la clase B o metalo-beta-lactamasas (MBL), su sitio activo requiere de cationes divalentes, usualmente zinc, como cofactores para su actividad enzimática (Tabla 2). Los genes productores de beta-lactamasas (genes *bla*) pueden estar codificados a nivel cromosomal o en elementos genéticos móviles. Se ha reportado que uno de los principales factores que propician la selección de las bacterias portadoras de estas enzimas, es el uso indiscriminado de antibióticos (Matagne et al., 1998).

Tabla 2. Clasificación molecular de las beta-lactamasas

Ambler	Bush-Jacoby-Medeiros	Substrato Preferido	Inhibición por ácido clavulánico	Enzima Representativa
A (Serin Penicilinasas)	2a	Penicilinasas	+	PC1 de <i>S. aureus</i>
	2b	Penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro	+	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	Penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro, cefalosporinas de espectro extendido	+	SHV-2 a SHV-6, TEM3 a TEM-26, CTX-M
	2br	Penicilinas	-	TEM-30. SHV-72
	2c	Penicilinas, carbenicilina	+	PSE-1
	2e	Cefalosporinas de espectro extendido	+	FEC-1, CepA
B (metalo-B-lactamasas)	2f	Penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos	+/-	KPC-2, SME-1, NMCA
	3	La mayoría de B-lactámicos incluyendo carbapenems	-	IMP-1.VIM-1-CcrA y Bell (B1); CphA (B2); L1(B3)
C (cefalosporinasas)	1	Cefalosporinas	-	Amp-C. Cmy-2, ACT-1
D (Oxacilinasas)	2d	Penicilinas, cloxacilina	+/-	OXA-1, OXA-10

Fuente: Tomado de Drawz, SM. (Drawz y Bonomo, 2010).

Clase A

La primera beta-lactamasa codificada por plásmidos en Gram negativos fue descrita a principios de los años 60's en Grecia, en una cepa de *Escherichia coli* aislada de un hemocultivo en una paciente llamada Temoneira, razón por la cual a la enzima se le denominó TEM-1 (Livermore et al., 1986). Este gen estaba en un plásmido insertado en un transposon, lo que facilitó su rápida diseminación a otras especies y su expansión global (Bradford PA, 2001). Posteriormente apareció SHV-1 (sulfhydryl variable), otra beta-lactamasa que inicialmente fue encontrada en *E. coli* y *K. pneumoniae*. SHV-1 se encuentra en el cromosoma de la mayoría de las *K. pneumoniae* y mediada por plásmidos en *E. coli* (Bradford PA, 2001). Estas enzimas junto a TEM-2 confieren resistencia a penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación (cefalosporinas de espectro reducido).

Beta-lactamasas de espectro extendido

Para principio de la década de los 80's aparecieron las cefalosporinas de espectro extendido, las oximinocefalosporinas o cefalosporinas de tercera generación. Estas cefalosporinas no eran hidrolizadas por TEM-1, TEM-2 o SHV-1 y empezaron a ser ampliamente utilizadas para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias resistentes a las cefalosporinas de espectro reducido. Como era de esperarse, la resistencia a estas cefalosporinas de tercera generación como cefotaxime, ceftriaxona y ceftazidime no tardó mucho en aparecer (Bradford PA, 2001).

La primera de estas enzimas capaces de hidrolizar los nuevos antibióticos beta-lactámicos fue SHV-2, la cual fue aislada de una *K. ozaenae* en Alemania en 1983 (Haeggman et al., 1997). SHV-2 difería de SHV-1 en un aminoácido, pero esa única mutación fue suficiente para

expandir su espectro de hidrólisis. Posteriormente aparecieron enzimas derivadas de TEM-1 y TEM-2 que igualmente eran capaces de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación (Brun-Buisson y Van Saene, 1991). Debido al aumento en su espectro de hidrólisis estas enzimas fueron denominadas beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs), enzimas capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera generación y aztreonam, pero no son activas contra cefamicinas (cefotixin y cefotetan) o carbapenémicos. Estas enzimas son inhibidas por los inhibidores de beta-lactamasas: ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (Nishiya y Kunii, 1991).

Con la excepción de las enzimas tipo OXAs, las BLEEs están dentro de la clase A de acuerdo con la clasificación de Ambler (Bush, 2013). Dentro de las que no son derivadas de TEM o SHV se encuentran las enzimas tipo: CTX-M, PER, VEB, BES y GES, entre otras (Bush et al., 1995).

Las BLEEs tipo TEM son las beta-lactamasas más reportadas en *E. coli* y *K. pneumoniae*, pero también se han reportado en prácticamente todas las enterobacterias, además de bacilos Gram negativos no fermentadores (Coque et al., 2008). En 1987 se reportó en Francia, en una *K. pneumoniae* una enzima mediada por plásmidos que hidrolizaba cefalosporinas de tercera generación. Debido a que esta enzima tenía una alta afinidad por cefotaxime se denominó CTX-M-1, actualmente se conoce como TEM-3 y difiere de TEM-2 por dos cambios de aminoácidos (Sougakoff et al., 1989).

El nombre SHV hace referencia a "*sulphydryl variable*", se le denominó así debido a que se pensaba que la inhibición de la actividad de la enzima por p-cloromercuribenzoato dependía del sustrato y variaba de acuerdo al mismo (Heritage et al., 1999). La enzima SHV-1 es una beta-lactamasa de espectro reducido que tiene actividad contra las penicilinas; al igual que en el caso de TEM-1 y TEM-2, el fenotipo de BLEE apareció debido

a la presencia de mutaciones puntuales que le permitió extender su espectro de hidrólisis a cefalosporinas de tercera generación (Bradford PA, 2001). La primera BLEE derivada de SHV-1 fue descrita en 1985 y fue denominada SHV-2 debido a su homología con los genes que codifican para SHV-1. Esta enzima presentaba una sustitución de serina por glicina en la posición 238 (Paterson y Bonomo, 2005). Actualmente existe una gran cantidad de variantes de SHV que se han diseminado globalmente y han sido causantes de brotes (Paterson et al., 2003).

Las enzimas tipo CTX-M se caracterizan por tener valores de punto isoeléctrico (pI) alcalinos lo que les confiere altos niveles de resistencia a cefotaxime más que a ceftazidime, de allí proviene su nombre. Además, exhiben más susceptibilidad a tazobactam que a los demás (Cantón et al., 2012). Fueron reportadas por primera vez en 1989, alcanzando gran relevancia en los primeros años de siglo XXI debido a su diseminación global, especialmente en *E. coli* tanto a nivel hospitalario como de la comunidad (Mathers et al., 2015). La diseminación global de *E. coli* pertenecientes al clon epidémico ST131 asociados a CTX-M 15, genes de resistencia a quinolonas y otros grupos de antibióticos ha representado un problema para el tratamiento de infecciones urinarias de origen en la comunidad (Stoesser et al., 2016).

CTX-M a diferencia de TEM y SHV no apareció como variante de otras enzimas existentes, estas derivan de un gen *bla* de especies de *Kluyvera*, los cuales fueron incorporados en elementos genéticos móviles que les permitió diseminarse a otras especies (Decousser et al., 2001). Inicialmente estas enzimas tenían un mayor efecto hidrolítico sobre cefotaxime que sobre ceftazidime, sin embargo, mutaciones puntuales en su secuencia llevaron a la aparición de variantes que tenían mayor poder hidrolítico contra ceftazidime (Baraniak et al., 2002). Las beta-lactamasas del grupo CTX-M son un grupo muy heterogéneo las cuales incluyen por lo menos

seis sublinajes: CTX-M grupo 1, CTX-M grupo 2, CTX-M grupo 8, CTX-M grupo 9, CTX-M grupo 25 y KLUC, los miembros de cada grupo comparten más del 94% de identidad, mientras la identidad entre las enzimas que pertenecen a diferentes grupos es menor al 90% (Cantón et al., 2012).

Después de su aparición, CTX-M fue desplazando a las otras BLEEs debido a su circulación en plataformas genéticas móviles como plásmidos y transposones, pero también a su asociación a los denominados clones exitosos o de alto riesgo, llegando a ser las más prevalentes en todo el mundo (Woodford et al., 2011). Otra razón para su exitosa diseminación es la co-resistencia especialmente a quinolonas y aminoglucósidos. Aunque los genes que codifican para CTX-M se han reportado asociados a plásmidos conjugativos principalmente, también se han reportado insertados dentro del cromosoma (Mahrouki et al., 2012).

Para el año 1986 se reportó una BLEE que no era derivada de TEM o SHV en un aislamiento de *E. coli* obtenida de la microbiota comensal de un perro en el que se realizaban estudios farmacocinéticos de beta-lactámicos a la que denominaron FEC-1 (Matsumoto et al., 1988). En 1989 se reportó en Alemania una *E. coli* resistente a cefotaxime con las mismas características de FEC-1 y la llamaron CTX-M 1 debido a su actividad hidrolítica contra cefotaxime (Bauernfeind et al., 1996). Por esa misma época se reportaron aislamientos de *Salmonella* spp., con el mismo perfil en Sudamérica. En 1992, el mismo tipo de BLEE fue reportada en un aislamiento clínico de *E. coli*, que había sido aislado a comienzos de 1989 en Francia. A esta beta-lactamasa se le designó el nombre de MEN-1 y posteriormente se encontró que presentaba solo un 40% de identidad con TEM y SHV (Bernard et al., 1992). Algunos años después se reportó una enzima relacionada con MEN-1 con un 83% de homología, a la que se le denominó Toho-1 (Ibuka et al., 1999). La secuenciación de los genes de dos BLEEs no derivadas de TEM o SHV en 1996 reveló que CTX-M 1 era

idéntica a MEN-1 y que Toho-1 era una variante de una enzima reportada en Argentina designada como CTX-M 2 (Bauernfeind et al., 1996). Desde entonces, las enzimas tipo CTX-M han conformado una familia en continuo crecimiento que se ha diseminado prácticamente por todo el mundo (Falagas y Karageorgopoulos, 2009).

Se ha sugerido que el residuo de serina en la posición 237, presente en todas las enzimas tipo CTX-M juega un papel importante en el perfil de resistencia. Aunque se ha visto que no es esencial. El residuo de arginina en la posición 276 parece ser equivalente a la arginina en la posición 244 en los derivados de TEM o SHV y podría estar implicado en la hidrólisis de las cefalosporinas de tercera generación (Bradford PA, 2001). Los carbapenémicos son estables a la hidrólisis por CTX-M, sin embargo, la hiper-expresión de algunas variantes como CTX-M 15 en combinación con disminución en la permeabilidad de membrana puede llevar a una susceptibilidad reducida a los carbapenémicos en *K. pneumoniae* y otras enterobacterias (Adler et al., 2013).

Carbapenemasas de la clase A

Las carbapenemasas son la familia más variable de beta-lactamasas y tienen la mayor capacidad hidrolítica dentro de estas enzimas; se encuentran distribuidas entre las clases moleculares A, B y D (Drawz y Bonomo, 2010). Hasta principios de los 90, las carbapenemasas descritas eran cromosomales y específicas por especie, pero dada su emergencia a través de elementos genéticos móviles se han convertido en un problema de diseminación global entre diferentes especies. En los últimos años las enterobacterias han emergido como importantes productores de carbapenemasas en todos los continentes donde han causado numerosos brotes hospitalarios e infecciones asociadas a altas tasas de mortalidad.

Por todo lo anterior, estas bacterias suponen una gran amenaza de salud pública ya que suelen ser resistentes a múltiples antibióticos beta-lactámicos, incluyendo los carbapenémicos, y a otros grupos de antibióticos como las quinolonas y aminoglucósidos.

Desde su primer reporte estas carbapenemasas han sido identificadas principalmente en enterobacterias tanto en aislamientos ocasionales como en brotes. Su mecanismo hidrolítico requiere la presencia de un residuo de serina en la posición 70 (Ambler et al., 1991). Tienen a hidrolizar un amplio número de beta-lactámicos incluyendo aztreonam, y son inhibidas parcialmente por ácido clavulánico y por tazobactam. Pueden ubicarse a nivel cromosomal o estar presentes en elementos genéticos móviles, lo cual permite transferencia y diseminación entre bacterias Gram negativas.

Clase B

Las enzimas de este grupo (metalo-beta-lactamasas) difieren de las de los otros grupos porque requieren moléculas de zinc en su sitio activo. Se caracteriza porque todas las enzimas son capaces de hidrolizar los carbapenémicos, pero a diferencia de las enzimas tipo serina hidrolizan pobremente al aztreonam, y no son inhibidas por ácido clavulánico o tazobactam (Karen Bush y Jacoby, 2010). Debido a su dependencia de un metal como cofactor (zinc) pueden ser inhibidas por quelantes de metales como el EDTA. Las metalo-beta-lactamasas (MBL) se pueden encontrar en el cromosoma bacteriano, en plásmidos o integrones, sin embargo, en algunas bacterias como *Stenotrophomonas maltophilia* la MBL es intrínseca (Mercuri et al., 2002).

Las enzimas que más se han diseminado globalmente incluyen VIM, IMP y NDM. IMP (imipenem-resistant) fue la primera carbapenemasa identificada en una *Serratia marcescens* en Japón, 1990. VIM-1(Verona integronencoded MBL) fue descrita por primera vez en Italia, en 1997 en una *P. aeruginosa*. Aunque las enzimas tipo VIM son más prevalentes en *Pseudomonas* spp., también se han descrito en *enterobacterales* (Queenan y Bush, 2007).

En Colombia NDM se describió por primera vez en 2011, en un brote producido por *K. pneumoniae* en una sala pediátrica en la ciudad de Bogotá (Escobar Pérez et al., 2013). La primera VIM reportada fue VIM-8, reportada en aislamientos de *P. aeruginosa* en el 2004 (Crespo et al., 2004). En el 2006 se reportó VIM-2 en aislamientos de *P. aeruginosa* recolectadas en el 2004 de diferentes ciudades. VIM- 2 es hasta la fecha la Betalactamasa más prevalente en nuestro país (Villegas et al., 2006).

Clase C

Las enzimas de este grupo se denominan cefalosporinasas o AmpC. Son intrínsecas en muchas especies de *Enterobacterales* y otras especies. *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* and *Pseudomonas aeruginosa*, portan AmpC de manera intrínseca e inducible, es decir la enzima se expresa con un bajo nivel en condiciones normales, pero puede hiper-expresarse cuando la bacteria se expone a betalactámicos, siendo algunos más inductores que otros (Jacoby, 2009). En el caso de *E. coli* y *Acinetobacter baumannii* poseen AmpC intrínseca pero no son inducibles. Bacterias Gram negativas que no poseen naturalmente AmpC pueden adquirirlas a través de plásmidos. Estas enzimas no son hidrolizadas por los inhibidores de beta-lactamasas ni por las cefamicinas (cefoxitin y cefotetan), normalmente producen resistencia a penicilinas,

cefalosporinas hasta tercera generación, sin afectar a las de cuarta generación (cefepime) ni los carbapenémicos en condiciones normales (Jacoby, 2009).

Clase D (OXAs)

Se han constituido en un importante mecanismo de resistencia, especialmente en *A. baumannii* y *enterobacterales*. Las beta-lactamasas tipo OXA son denominadas así debido a su habilidad para hidrolizar oxacilina (Bush et al., 1995). Tienen un espectro de acción muy variable, algunas solo confieren resistencia a penicilinas como oxacilina y cloxacilina; otras variantes lo hacen adicionalmente a cefalosporinas de primera generación, y otras hidrolizan carbapenémicos. En general las OXAs son pobremente inhibidas por los inhibidores clásicos de beta-lactamasas como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.

Estas variantes al no hidrolizar cefalosporinas de tercera generación no son clasificadas como BLEEs, con excepción de algunas pocas variantes que hidrolizan débilmente estas cefalosporinas (Antunes y Fisher, 2014). Muchas de las beta-lactamasas tipo OXA con espectro de hidrólisis extendido son derivadas de OXA-10 (OXA-11, 14, 16, 17) y tienen la capacidad de hidrolizar débilmente cefotaxime, ceftriaxona, ceftazidime y aztreonam (Antunes y Fisher, 2014). Se ha encontrado que en general, las variantes de OXA-10 con fenotipo BLEEs presentan una de dos sustituciones de aminoácidos: una arginina por serina en la posición 143, o aspartato por glicina en la posición 157. En particular esta última sustitución parece conferir un alto nivel de resistencia a ceftazidime (Paterson DL y Bonomo RA, 2005).

El primer reporte de una carbapenemasa tipo OXA (Carbapenem-Hydrolyzing class D beta-Lactamase, CHDL) se describió en el año 1993, en una cepa clínica escocesa de *A. baumannii* aislada por primera vez en el año 1985; estas enzimas confieren una baja resistencia a los carbapenémicos (Antunes y Fisher, 2014). Las OXA-23-like están asociadas a plásmidos, pero también se han encontrado en el cromosoma. Se ha descrito con mucha frecuencia la presencia de un elemento genético móvil denominado ISAbal asociado a *A. baumannii* el cual incrementa el nivel de resistencia a los carbapenémicos. A la fecha se han descrito gran cantidad de variantes de OXAs con actividad hidrolítica hacia los carbapenémicos, como OXA-24/40, OXA-51-like y OXA-58-like. OXA-48 fue identificada en Turquía, en una *K. pneumoniae* MDR. Esta estaba localizada en un plásmido transferible, y es a la fecha la CHDL más frecuente en *Enterobacterales*. La presencia de *bla*_{OXA-48-like} confiere resistencia a penicilinas y decrecida susceptibilidad a los carbapenémicos, pero no hidroliza cefalosporinas de tercera generación (Poirel et al., 2004).

Otro punto importante de las OXAs es que adicionalmente a su asociación con resistencia también se utilizan para la identificación de *Acinetobacter baumannii*. Esto se logra empleando una técnica rápida y sencilla, como lo es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que permite detectar de forma específica el gen cromosomal *bla*_{OXA-51-like} que codifica para una oxacilinas, capaz de hidrolizar penicilinas y carbapenémicos, que le confiere un bajo nivel de resistencia intrínseca a estos antibióticos (Ahmadi y Salimizand, 2017).

Los reportes alrededor del mundo de la propagación de estos mecanismos de resistencia se atribuyen a elementos genéticos móviles (plásmidos, transposones e integrones) que generalmente llevan consigo múltiples genes de resistencia o factores de virulencia, que han sido diseminados por linajes de bacterias denominados clones de alto riesgo (*high risk clo-*

nes) (Mathers et al., 2015). El seguimiento de estos clones de alto riesgo a nivel mundial se realizó inicialmente a través de técnicas como, la electroforesis de campos pulsados (PFGE por su acrónimo en inglés: *Pulsed Field Gel Electrophoresis*), pero los resultados no eran comparables a nivel global. Posteriormente aparece MLST (acrónimo en inglés: *MultiLocus Sequence Typing*), demostrando ser una herramienta que permite inferir diferencias filogenéticas en poblaciones específicas en el tiempo, con base a la caracterización de Secuencias Tipo (Sequence Typing: ST). Los avances obtenidos con la implementación del MLST en el estudio de la epidemiología de enfermedades infecciosas, han posicionado esta técnica de tipificación molecular como una herramienta fundamental. Durante los últimos años la secuenciación del genoma completo ha integrando los análisis antes mencionados en una sola prueba; sin embargo, no es una herramienta que esté aun al alcance de los laboratorios para su seguimiento epidemiológico (Woodford et al., 2011).

En Colombia, la vigilancia epidemiológica de las bacterias Gram negativas portadoras de estas enzimas se ha realizado empleando Electroforesis en Campos Pulsados (PFGE), lográndose establecer la clonalidad entre aislamientos a nivel nacional (Villegas et al., 2007). Sin embargo, esta técnica no permite identificar el comportamiento de estos clones en el tiempo, o si los clones nacionales guardan relación con aquellos reportados a nivel mundial; por tanto, la implementación del MLST, ha permitido a Colombia ingresar en el mapa de la epidemiología mundial de estos agentes infecciosos.

Bibliografía

- Adler, M.; Anjum, M.; Andersson, D. I. y Sandegren, L. (2013). Influence of acquired β -lactamases on the evolution of spontaneous carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(1), 51-59. <https://doi.org/10.1093/jac/dks368>
- Ahmadi, A. y Salimizand, H. (2017). Delayed identification of *Acinetobacter baumannii* during an outbreak owing to disrupted blaOXA-51-like by ISAba19. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50(1), 119-122. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.03.006>
- Ambler, R. P.; Coulson, A. F.; Frère, J. M.; Ghuysen, J. M.; Joris, B.; Forsman, M.; Levesque, R. C.; Tiraby, G. & Waley, S. G. (1991). A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *The Biochemical Journal*, 276 (Pt 1), 269-270. <https://doi.org/10.1042/bj2760269>
- Antunes, N. T. y Fisher, J. F. (2014). Acquired Class D β -Lactamases. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 3(3), 398-434. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030398>
- Baraniak, A.; Fiett, J.; Hryniewicz, W.; Nordmann, P. & Gniadkowski, M. (2002). Ceftazidime-hydrolysing CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in Poland. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(3), 393-396. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf151>
- Bauernfeind, A.; Stemplinger, I.; Jungwirth, R.; Ernst, S. & Casellas, J. M. (1996). Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(2), 509-513.
- Bernard, H.; Tancrede, C.; Livrelli, V.; Morand, A.; Barthelemy, M. & Labia, R. (1992). A novel plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 29(5), 590-592. <https://doi.org/10.1093/jac/29.5.590>
- Brun-Buisson, C. y van Saene, H. K. (1991). SDD and the novel extended-broad-spectrum beta-lactamases. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 28(1), 145-147. <https://doi.org/10.1093/jac/28.1.145>

- Bush, K. (1989). Characterization of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(3), 259-263. <https://doi.org/10.1128/aac.33.3.259>
- Cantón, R.; González-Alba, J. M. y Galán, J. C. (2012). CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Frontiers in Microbiology*, 3, 110. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>
- CDC. (2020, febrero 14). *Antibiotic Resistance Threatens Everyone*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html>
- Crespo, M. P.; Woodford, N.; Sinclair, A.; Kaufmann, M. E.; Turton, J.; Glover, J.; Velez, J. D.; Castañeda, C. R.; Recalde, M. & Livermore, D. M. (2004). Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 5094-5101. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.5094-5101.2004>
- Decousser, J. W.; Poirel, L. y Nordmann, P. (2001). Characterization of a chromosomally encoded extended-spectrum class A beta-lactamase from *Kluyvera cryocrescens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(12), 3595-3598. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.12.3595-3598.2001>
- Delcour, A. H. (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(5), 808-816. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.005>
- Drawz, S. M. y Bonomo, R. A. (2010). Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 160-201. <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-09>
- Escobar Pérez, J. A.; Olarte Escobar, N. M.; Castro-Cardozo, B.; Valderrama Márquez, I. A.; Garzón Aguilar, M. I.; Martínez de la Barrera, L.; Barrero Barreto, E. R.; Marquez-Ortiz, R. A.; Moncada Guayazán, M. V. & Vanegas Gómez, N. (2013). Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(4), 1957-1960. <https://doi.org/10.1128/AAC.01447-12>

- Falagas, M. E. y Karageorgopoulos, D. E. (2009). Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *The Journal of Hospital Infection*, 73(4), 345-354. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.02.021>
- Haeggman, S.; Löfdahl, S. y Burman, L. G. (1997). An allelic variant of the chromosomal gene for class A beta-lactamase K2, specific for *Klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of SHV-1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(12), 2705-2709.
- Ibuka, A.; Taguchi, A.; Ishiguro, M.; Fushinobu, S.; Ishii, Y.; Kamitori, S.; Okuyama, K.; Yamaguchi, K.; Konno, M. & Matsuzawa, H. (1999). Crystal structure of the E166A mutant of extended-spectrum beta-lactamase Toho-1 at 1.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 285(5), 2079-2087. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2432>
- Jacoby, G. A. (2009). AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161-182, Table of Contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
- Kusakizako, T.; Miyauchi, H.; Ishitani, R. & Nureki, O. (2019). Structural biology of the multidrug and toxic compound extrusion superfamily transporters. *Biochimica Et Biophysica Acta. Biomembranes*, 183154. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183154>
- Livermore, D. M.; Moosdeen, F.; Lindridge, M. A.; Kho, P. & Williams, J. D. (1986). Behaviour of TEM-1 beta-lactamase as a resistance mechanism to ampicillin, mezlocillin and azlocillin in *Escherichia coli*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 17(2), 139-146. <https://doi.org/10.1093/jac/17.2.139>
- Magiorakos, A.-P.; Srinivasan, A.; Carey, R. B.; Carmeli, Y.; Falagas, M. E.; Giske, C. G.; Harbarth, S.; Hindler, J. F.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; Paterson, D. L.; Rice, L. B.; Stelling, J.; Struelens, M. J.; Vatopoulos, A.; Weber, J. T. & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(3), 268-281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

- Mahrouki, S.; Belhadj, O.; Chihi, H.; Mohamed, B. M.; Celenza, G.; Amico-sante, G. & Perilli, M. (2012). Chromosomal $FF_{CTX-M-15}$ associated with ISEcp1 in *Proteus mirabilis* and *Morganella morganii* isolated at the Military Hospital of Tunis, Tunisia. *Journal of Medical Microbiology*, 61(Pt 9), 1286-1289. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.039487-0>
- Matagne, A.; Lamotte-Brasseur, J. y Frère, J. M. (1998). Catalytic properties of class A beta-lactamases: Efficiency and diversity. *The Biochemical Journal*, 330 (Pt 2), 581-598. <https://doi.org/10.1042/bj3300581>
- Mathers, A. J.; Peirano, G. y Pitout, J. D. D. (2015). *Escherichia coli* ST131: The quintessential example of an international multiresistant high-risk clone. *Advances in Applied Microbiology*, 90, 109-154. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.002>
- Matsumoto, Y.; Ikeda, F.; Kamimura, T.; Yokota, Y. & Mine, Y. (1988). Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(8), 1243-1246. <https://doi.org/10.1128/AAC.32.8.1243>
- Nishiya, H. y Kunii, O. (1991). [Beta-lactamase inhibitors]. *Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*, 49(9), 2046-2051.
- Otto, M. (2013). Community-associated MRSA: What makes them special? *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6), 324-330. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.007>
- Pagès, J.-M.; James, C. E. y Winterhalter, M. (2008). The porin and the permeating antibiotic: A selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(12), 893-903. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1994>
- Paterson, D. L. y Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657-686. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Paterson, D. L.; Hujer, K. M.; Hujer, A. M.; Yeiser, B.; Bonomo, M. D.; Rice, L. B.; Bonomo, R. A. & International Klebsiella Study Group. (2003). Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: Dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Anti-*

- microbial Agents and Chemotherapy*, 47(11), 3554-3560. <https://doi.org/10.1128/aac.47.11.3554-3560.2003>
- Queenan, A. M. y Bush, K. (2007). Carbapenemases: The versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 440-458, table of contents. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
- Rice, L. B. (2012). Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings*, 87(2), 198-208. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2011.12.003>
- Schwaber, M. J.; Navon-Venezia, S.; Kaye, K. S., Ben-Ami, R.; Schwartz, D. & Carmeli, Y. (2006). Clinical and Economic Impact of Bacteremia with Extended- Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), 1257-1262. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1257-1262.2006>
- Septimus, E. J. (2018). Antimicrobial Resistance: An Antimicrobial/Diagnostic Stewardship and Infection Prevention Approach. *The Medical Clinics of North America*, 102(5), 819-829. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.04.005>
- Shriram, V.; Khare, T.; Bhagwat, R.; Shukla, R. & Kumar, V. (2018). Inhibiting Bacterial Drug Efflux Pumps via Phyto-Therapeutics to Combat Threatening Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02990>
- Sougakoff, W.; Petit, A.; Goussard, S.; Sirot, D.; Bure, A. & Courvalin, P. (1989). Characterization of the plasmid genes blaT-4 and blaT-5 which encode the broad-spectrum beta-lactamases TEM-4 and TEM-5 in enterobacteriaceae. *Gene*, 78(2), 339-348. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(89\)90236-9](https://doi.org/10.1016/0378-1119(89)90236-9)
- Stoesser, N.; Sheppard, A. E.; Pankhurst, L.; De Maio, N.; Moore, C. E.; Sebra, R.; Turner, P.; Anson, L. W.; Kasarskis, A.; Batty, E. M.; Kos, V.; Wilson, D. J.; Phetsouvanh, R.; Wyllie, D.; Sokurenko, E.; Manges, A. R., Johnson, T. J., Price, L. B., Peto, T. E. A., ... Modernizing Medical Microbiology Informatics Group (MMMIG). (2016). Evolutionary History of the Global Emergence of the Escherichia coli Epidemic Clone ST131. *MBio*, 7(2), e02162. <https://doi.org/10.1128/mBio.02162-15>

- Villegas, M. V.; Kattan, J. N.; Correa, A.; Lolans, K.; Guzman, A. M.; Woodford, N.; Livermore, D.; Quinn, J. P. & Group, and the C. N. B. R. S. (2007). Dissemination of *Acinetobacter baumannii* Clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6), 2001-2004. <https://doi.org/10.1128/AAC.00226-07>
- Woodford, N.; Turton, J. F. y Livermore, D. M. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 736-755. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x>