

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Resistencia a antibióticos

Antibiotic resistance

Autor: Dña. Victoria Hoyo Santisteban

Director: D. Jesús Navas Méndez

Santander, Junio 2017

Índice

Resumen	2
1. Introducción	3
2. Mecanismos de resistencia bacteriana y su transmisión	9
Transferencia genética horizontal.....	11
Elementos genéticos móviles.....	15
3. Mecanismos de resistencia en los diversos grupos de antibióticos.....	21
Betalactámicos	22
Aminoglucósidos	29
Glucopéptidos	31
Macrólidos	33
Quinolonas	35
Tetraciclinas	37
4. Bibliografía.....	40

RESUMEN

El descubrimiento de la penicilina en 1928 marcó el inicio de una nueva era en la historia de la medicina, y el posterior desarrollo de las diferentes familias de antibióticos cambió por completo la relación del hombre con las enfermedades infecciosas, hasta el punto de encontrarse por primera vez en condiciones de combatir cualquier infección. Sin embargo, la expansión de los antibióticos se acompañó de la aparición de las primeras cepas bacterianas resistentes. Con los años de exposición a una fuerte presión selectiva, los microorganismos han desarrollado una enorme variedad mecanismos para evitar la acción de los antibióticos. En la actualidad disponemos de pocos compuestos eficaces contra algunos patógenos importantes, de manera que la resistencia a los antimicrobianos se ha convertido en una grave amenaza para la salud pública a nivel global. La rápida adquisición de estos mecanismos de resistencia por parte de los microorganismos se produce por mutaciones genéticas y, fundamentalmente, por la transmisión de material genético entre bacterias mediante mecanismos de transferencia genética horizontal, a través de plásmidos y otros elementos genéticos móviles.

The discovery of penicillin in 1928 marked the beginning of a new era in the history of medicine, and the subsequent development of the different families of antibiotics completely changed the relationship between man and infectious diseases to the extent of making treatable almost any infection. However, the spread of antibiotics was accompanied by the emergence of the first resistant bacterial strains. After such a long period of exposure to this immense selective antibiotic barrage, microorganisms have developed a huge variety of mechanisms to avoid the action of antibiotics, and nowadays there are few compounds that are highly effective, so that antimicrobial resistance has become a serious threat to public health globally. The fast acquisition of these mechanisms of resistance by microorganisms is produced by genetic mutations and mostly, by the transmission of genetic material between bacteria through horizontal genetic transfer mechanisms, through plasmids and other mobile genetic elements.

1. INTRODUCCIÓN

El origen de la palabra antibiótico es griego: *anti* significa contra, y *bios*, vida. Los antibacterianos son sustancias naturales, semisintéticas o sintéticas, que a concentraciones bajas inhiben el crecimiento o provocan la muerte de las bacterias. Popularmente se les denomina antibióticos, aunque en términos estrictos un antibiótico es una sustancia secretada de forma natural por un microorganismo, que tiene la capacidad de afectar al crecimiento de otros microbios. El término “antimicrobiano” engloba todas aquellas sustancias que actúan contra microorganismos (sean bacterias, virus, hongos o parásitos).¹

Los antibióticos son sustancias de bajo peso molecular (generalmente oscila entre los 150 y 5000 Dalton) que según su origen pueden ser clasificados como: naturales (antibióticos propiamente dichos, producidos por bacterias y hongos, como la penicilina), semisintéticos (por ejemplo, la meticilina), y sintéticos (como muestra, las sulfonamidas). Si se clasifican en base a su efecto biológico sobre las bacterias, podemos distinguir dos grupos: bactericidas (aquellos que son capaces de matar las bacterias) y bacteriostáticos (aquellos que inhiben el crecimiento bacteriano).

A lo largo de la historia, las enfermedades infecciosas han sido responsables de la muerte de millones de personas, y han dado lugar a infinidad de epidemias que se han sucedido durante siglos; su transmisión se veía favorecida por las guerras, la hambruna, las condiciones de hacinamiento en las ciudades, la falta de higiene, la carencia de conocimientos médicos, etc. Las infecciones se convirtieron así en una de las principales causas de mortalidad en el ser humano hasta el descubrimiento y desarrollo de los antibióticos en el siglo XX. Sin embargo, ya en la antigüedad el hombre utilizaba compuestos orgánicos que obtenía del medio (como extractos de plantas, hongos, y aceites de origen animal) en el tratamiento tópico de heridas e infecciones cutáneas, aunque aún desconocía el mecanismo por el que se producían y por qué aquellos remedios resultaban eficaces. Este profundo desconocimiento sobre el origen y las vías de transmisión de la enfermedad fue el motivo fundamental por el cual se tardó tanto en encontrar la cura para enfermedades tan frecuentes y mortíferas como lo eran las infecciones.²

A lo largo de los siglos, se postularon diversas teorías sobre el origen de las enfermedades (teoría del desequilibrio humoral, teoría miasmática, teoría teúrgica o del castigo divino, etc.) pero no fue hasta el siglo XIX cuando Louis Pasteur, considerado el padre de la microbiología, desarrolló la teoría microbiana de la enfermedad, según la cual pequeños organismos no visibles para el ojo humano serían la causa de múltiples enfermedades. Ésta se convertiría en una de las bases fundamentales de la medicina moderna.³

Durante uno de sus numerosos estudios sobre el carbunco, Pasteur observó que la presencia del hongo *Penicillium notatum* inhibía el crecimiento bacteriano en cultivos de *Bacillus anthracis*; también el médico británico Sir William Roberts observó que cultivos de *Penicillium glaucum* no mostraban ningún rastro de contaminación bacteriana. Estos serían los primeros indicios de la existencia de compuestos producidos por otros microorganismos capaces de eliminar las bacterias, que se aislarían dando lugar a los primeros antibióticos.

Años después, a finales del siglo XIX, el científico alemán Paul Ehrlich llevó a cabo una serie de ensayos con compuestos que afectaban de manera selectiva a los microorganismos, resultando en el descubrimiento del salvarsán en 1907 (actualmente conocida como arsfenamina), que se convertiría en el tratamiento de la sífilis hasta la aparición de la penicilina.

Pero sin duda el hito histórico que marcó el comienzo de la era antibiótica fue el descubrimiento accidental de la penicilina por el científico británico Alexander Fleming en 1928, quien años antes ya había descrito las propiedades antisépticas de la lisozima (1921). Durante sus estudios sobre la gripe, Fleming observó que el crecimiento de un hongo común, *Penicillium notatum*, había eliminado las bacterias en una de sus placas de cultivo de estafilococos. Sin embargo, no sería hasta años más tarde, en 1940, cuando esta sustancia pudo ser aislada y concentrada gracias al trabajo del bioquímico alemán Ernst Chain y del patólogo australiano Howard Florey en la Universidad de Oxford. En 1945 Fleming, Florey y Chain recibieron de manera conjunta el premio Nobel de Medicina por el descubrimiento de la penicilina y su efecto curativo sobre diversas enfermedades infecciosas.

Otro hecho fundamental en el desarrollo de los antibióticos fue el descubrimiento en 1932 por Gerhard Domagk de la primera sulfonamida, el prontasil, que se convirtió en el primer antimicrobiano de acción sistémica efectivo contra infecciones por cocos Gram positivos. En el año 1939, durante sus investigaciones con gérmenes del suelo, el bacteriólogo norteamericano René Dubos aisló la tirotricina, que resultó altamente eficaz, aunque muy tóxica, por lo que su uso se limitó al tratamiento tópico.

En 1944, el equipo de Selman Waksman descubrió la estreptomycin durante sus estudios sobre actinobacterias. Se aisló a partir de *Streptomyces griseus*, y fue el primer fármaco utilizado en el tratamiento de la tuberculosis. A partir de este momento comenzaron a desarrollarse el resto de aminoglucósidos, que permitieron el tratamiento eficaz de las infecciones causadas por Gram negativos.

El período transcurrido entre 1950 y 1980 fue el periodo más importante en cuanto a estudio y desarrollo de las diferentes clases de antibióticos, siendo considerado como la “edad de oro” de los antibióticos. En este periodo tuvo lugar el descubrimiento del cloranfenicol, los macrólidos, las combinaciones sinérgicas de antibióticos, las tetraciclinas, y las carbapenemas (el imipenem fue descubierto en 1970), entre otros.⁴

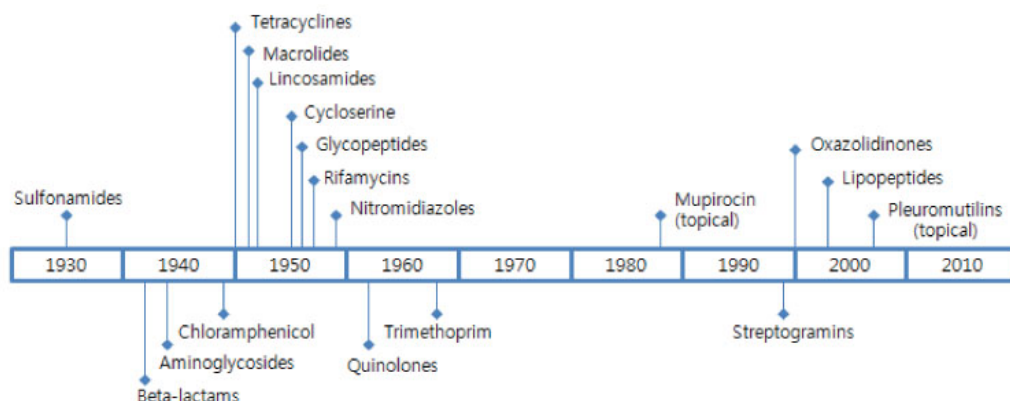


Figura 1: Descubrimiento de los diversos grupos de antibióticos. Hasta catorce clases de antibióticos fueron introducidas para uso clínico entre 1935 y 1968; desde entonces se han introducido sólo cinco.⁵

El descubrimiento de los antimicrobianos marcó un antes y un después en la historia del hombre, y su extendido uso ha sido fundamental en el control de las enfermedades infecciosas, disminuyendo su morbilidad y mortalidad, y contribuyendo de forma muy significativa al aumento de la esperanza de vida en el último tercio del siglo XX.

Sin embargo, en las últimas tres décadas no ha habido grandes avances en el desarrollo de nuevos antibióticos: han salido al mercado nuevos fármacos, pero sintetizados a partir de modificaciones de los ya existentes, como consecuencia de que la industria farmacéutica ha ido perdiendo interés en la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos. Esto es en parte debido al elevado coste que supone conseguir comercializar uno de estos fármacos: cada antimicrobiano que sale al mercado requiere una inversión de entre 800 y 900 millones de dólares, y entre 10 y 15 años de investigación; a esto hay que sumarle el hecho de que previsiblemente acabarán apareciendo resistencias al fármaco en un periodo de tiempo no muy largo tras su introducción, con el consiguiente descenso de las ventas del mismo. Además, los antimicrobianos son fármacos que se emplean generalmente durante periodos cortos de tiempo, lo necesario para tratar el episodio infeccioso: días o semanas en la mayor parte de las infecciones, es poco frecuente que se consuman durante meses o años, como en el caso de los compuestos antituberculosos o contra el VIH . Por estos motivos, frente a la producción de antimicrobianos, las empresas farmacéuticas han priorizado el desarrollo de fármacos para el tratamiento de enfermedades crónicas como la hipertensión, la hipercolesterolemia o la diabetes, en las que el paciente necesita tomar la medicación de por vida.

Cuando empezaron a desarrollarse los diferentes grupos de antibióticos y comenzó a extenderse su uso, no se consideró que la resistencia a antibióticos pudiese llegar a convertirse en una potencial amenaza; se asumía que las mutaciones causantes de resistencia constituían un fenómeno poco frecuente como para llegar a suponer un problema. Incluso tras la detección de las primeras cepas resistentes, nadie esperaba que las bacterias fuesen a desarrollar una respuesta adaptativa tan abrumadora, con tal variedad de mecanismos de resistencia y una gran capacidad de transmisión de los mismos. Más tarde, se descubriría que las bacterias adquieren estos fenotipos resistentes mediante mutaciones cromosómicas que determinan alteraciones de proteínas bacterianas, y a través de mecanismos de transformación, conjugación y otros procesos de transferencia de material genético entre bacterias, siendo estos últimos una de las principales razones por la cual los diferentes mecanismos de resistencia se extienden tan rápidamente entre las bacterias.¹

Así pues, en la actualidad nos enfrentamos al que posiblemente se convierta en el principal problema al que tenga que hacer frente la medicina en este nuevo siglo: la resistencia a antimicrobianos (RAM).

La RAM es una situación de ineficacia de los antimicrobianos en el tratamiento de las infecciones, que surge cuando los microorganismos sufren determinados cambios adaptativos. Estos cambios aparecen con el tiempo de manera natural en las bacterias debido a modificaciones genéticas. Sin embargo el abuso y uso inadecuado de los antimicrobianos ejerce una “presión antibiótica” que favorece y acelera de manera espectacular el proceso.

La RAM supone un aumento de la mortalidad asociada a las infecciones, así como de las secuelas de las mismas, y prolonga la duración de la enfermedad en el caso de que

ésta sea superada. Todo esto conduce a un claro incremento de los costes de atención sanitaria debido al mayor consumo de recursos, ya que alarga el tiempo de hospitalización, aumenta el número de pruebas e intervenciones practicadas y la necesidad de cuidados intensivos, requiriéndose finalmente el uso de fármacos más caros para el tratamiento de la infección.

Además, la falta de eficacia de los antimicrobianos en el tratamiento y prevención de las infecciones convertiría intervenciones tan fundamentales como la cirugía mayor, los tratamientos quimioterápicos o el trasplante de órganos en procedimientos de alto riesgo; y aumentaría de forma alarmante la mortalidad en los pacientes especialmente vulnerables a las infecciones (como son los pacientes diabéticos, ancianos, niños, y pacientes inmunodeficientes, entre otros). También pondría en peligro la lucha activa contra el VIH, la tuberculosis y la malaria, enfermedades que hoy en día aún constituyen una epidemia en muchas regiones del mundo.

Así, el creciente número de microorganismos resistentes a antimicrobianos (fundamentalmente bacterias) supone una grave amenaza para la salud pública a nivel mundial y de continuar progresando a este ritmo, podría dar lugar al inicio próximo de una “era post-antibiótica” en la que infecciones comunes actualmente tratables podrían convertirse de nuevo en afecciones potencialmente letales o invalidantes.⁶

Para evitar esto, y puesto que la RAM es un problema complejo presente en todos los países del mundo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ve necesaria la aplicación de las siguientes medidas urgentes y coordinadas a nivel mundial:

1. Mejora de la concienciación y la comprensión con respecto a la resistencia a los antimicrobianos, tanto en el personal sanitario como en la población general.
2. Creación de sistemas de vigilancia de la aparición y progresión de farmacorresistencias en los distintos países y áreas poblacionales. Muchos países poseen desde hace años planes nacionales de seguimiento de resistencias, pero aún hay muchos en los que no existe apenas vigilancia o control, sobre todo en aquellos menos desarrollados.
3. Promoción de un uso adecuado y responsable de los antimicrobianos, tanto en humanos como en el sector agrícola y ganadero:
 - Los profesionales sanitarios deben prescribir antibióticos sólo cuando sea verdaderamente necesario y emplear siempre el fármaco indicado para tratar una enfermedad concreta, evitando abusar de los antibióticos de amplio espectro y prescribir antibióticos para las infecciones virales.
 - La población general debe ser consciente de la importancia de consumir antimicrobianos sólo cuando éstos hayan sido prescritos por el médico (evitando la automedicación), así como de completar el tratamiento antibiótico prescrito a pesar de que exista una mejoría clínica precoz.
 - Es necesario establecer un estricto control sobre el uso de los antimicrobianos como promotores del crecimiento de animales y cultivos.

4. Prevención de las infecciones con el objetivo de reducir la necesidad de antibióticos a través de medidas como la vacunación, la potabilización del agua, el lavado de manos, una adecuada educación sexual, medidas de higiene y asepsia hospitalarias, etc.
5. Aumento sostenible de las inversiones destinadas a la investigación y desarrollo de nuevos fármacos, vacunas, métodos diagnósticos y otras intervenciones relacionadas con el abordaje de las enfermedades infecciosas.

Estas medidas están recogidas en el Plan de Acción Mundial contra la resistencia a los antimicrobianos, aprobado en la 68ª Asamblea Mundial de la Salud celebrada por la OMS en mayo de 2015.^{7,8}

Actualmente existe una alarmante diferencia entre la rápida aparición y difusión de mecanismos de resistencia entre las bacterias y la escasa producción de nuevos antimicrobianos eficaces, lo que se traduce en una posición de clara desventaja frente a los gérmenes multirresistentes; se prevé que, de seguir así, en unos años no quedarían fármacos eficaces para el tratamiento de ciertos patógenos.

Por ello, la OMS ha elaborado recientemente una lista con las doce familias de “patógenos prioritarios”, bacterias multirresistentes que considera una mayor amenaza para la salud pública, clasificándolas como prioridad “crítica”, “alta” o “media”, según el grado de urgencia de desarrollar nuevos fármacos para tratarlas. El objetivo principal de la lista es constituir una guía a la hora de promover la investigación de nuevos antibióticos y priorizar aquellos patógenos que suponen una mayor amenaza:

Prioridad 1: CRÍTICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistente a las carbapenemas.
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a las carbapenemas.
- *Enterobacteriaceae**, resistentes a las carbapenemas, y cefalosporinas de tercera generación.

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 claritromicina.
- *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas.
- *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas.
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a cefalosporinas, 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

* La familia Enterobacteriaceae incluye *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. y *Morganella* spp.

El grupo de patógenos que suponen una *prioridad crítica* está constituido por bacterias Gram negativas, agentes causales de la mayor parte de las enfermedades nosocomiales o de adquisición en el ámbito hospitalario, residencias de ancianos y otras instituciones. En este grupo están incluidas *Pseudomona aeruginosa* resistente a carbapenémicos, y numerosas enterobacterias entre las que se incluyen *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia* y otras; muchas de las cuales además de ser resistentes a carbapenemas, presentan betalactamasas de espectro extendido (BLEE), lo que las hace resistentes a los derivados de la penicilina. También se incluye a *Acinetobacter baumannii*, bacteria oportunista que ha pasado de causar infecciones prácticamente limitadas a pacientes con VIH y otros inmunosuprimidos graves, a ser uno de los patógenos que más preocupan actualmente, debido a la gran diversidad de mecanismos de resistencia que presenta a múltiples antibióticos, y su implicación en las infecciones de pacientes en las unidades de vigilancia intensiva, donde ha llegado a causar brotes epidémicos.

Estas bacterias Gram negativas multirresistentes causan infecciones graves en pacientes hospitalizados, especialmente en aquellos ingresados en las unidades de cuidados intensivos y reanimación, aquellos sometidos a cirugía y otros procedimientos invasivos (incluidas la ventilación mecánica, los cateterismos, la toma de accesos venosos centrales, infecciones de las vías periféricas, etc.), y en pacientes a los que se ha administrado antibióticos de amplio espectro de forma prolongada, entre otros.

Los grupos de *prioridad alta e intermedia* incluyen bacterias responsables de infecciones comunes, como *H. pylori*, *Salmonella*, o *Haemophilus influenzae*, que hasta ahora se resolvían con antibióticos, pero que podrían volver a resultar mortales debido a la creciente aparición de resistencias.

Los criterios utilizados para elaborar la lista y establecer el orden de prioridad de cada patógeno incluyen la mortalidad, la carga sanitaria, la prevalencia de resistencias y su tendencia evolutiva, la posibilidad de prevención en hospitales y otras instituciones comunitarias, la transmisibilidad, los tratamientos existentes, y los fármacos en desarrollo.⁹

Mycobacterium tuberculosis (agente causal de la tuberculosis humana) no fue incluida en esta lista dado que ya está considerada como una prioridad global: actualmente se estima que el 3,7% de los casos nuevos y en torno al 20% de los casos ya tratados de tuberculosis son resistentes a isoniacida y rifampicina, fármacos fundamentales que constituyen la primera línea de tratamiento. Además, se calcula que sólo la mitad de los casos de tuberculosis multirresistente pueden ser tratados de forma eficaz con los fármacos existentes, por lo que el desarrollo de nuevos antituberculosos es una necesidad urgente.¹⁰

Tampoco aparecen incluidos como microorganismos prioritarios otros patógenos relevantes a nivel mundial, como el VIH y el *Plasmodium* (agente causal de la malaria) porque no son bacterias; no obstante, se prevé que en actualizaciones futuras la lista pueda incluir otros microorganismos, como virus y parásitos.⁹

2. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANOS Y SU TRANSMISIÓN

A lo largo de millones de años de evolución, los microorganismos han desarrollado multitud de mecanismos de protección frente a agresiones externas, incluidos los antibióticos. Se sabe que hay genes de resistencia que llevan presentes en las bacterias desde mucho antes de la era antibiótica. Esto forma parte de un proceso de selección natural, por el cual aquellas bacterias con mayor capacidad para la supervivencia (en este caso, aquellas que tienen genes de resistencia a antibióticos), son capaces de proliferar en presencia de la agresión dando lugar a una progenie que presenta los mismos genes de resistencia, y que progresivamente termina por sustituir a la cepa inicial no resistente. Por lo tanto, éste es un fenómeno biológico que ha existido siempre: las bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia a antibióticos desde que éstos existen en la naturaleza. Sin embargo, hasta ahora este proceso no se había producido a tal escala, de forma que no existía tanta variedad de mecanismos de resistencia ni se encontraban tan ampliamente difundidos entre los microorganismos como actualmente. Esto se debe a que en el último medio siglo las bacterias han sido expuestas de forma masiva y descontrolada a los antibióticos, ejerciéndose así una enorme “presión antibiótica” selectiva.⁴

Cualquier antibiótico tiene la capacidad de seleccionar aquellas subpoblaciones de microorganismos resistentes, de forma que todos los antimicrobianos acaban generando resistencias. Según las características del antibiótico y su exposición, la bacteria expuesta y otros factores, estos mecanismos de resistencia aparecen de forma más o menos tardía.

Se distinguen tres formas de resistencia:

Resistencia individual: hace referencia a la interacción molecular entre una célula bacteriana, con sus recursos genéticos y metabólicos, y un antibiótico determinado. Aquí se incluyen los distintos mecanismos que presenta una bacteria para evitar la acción del antibiótico en cuestión. Sin embargo, hay que tener en cuenta que un microorganismo puede tener un gen que codifique un mecanismo de resistencia frente a un antibiótico determinado, pero esto no siempre es suficiente para que exista resistencia. Es necesario que ese gen se exprese en cantidad y calidad suficiente, y muchas veces deben interactuar distintos mecanismos de resistencia. Por ejemplo, *E. coli* posee de forma natural un gen que codifica una beta-lactamasa (tipo AmpC), capaz de hidrolizar diversos beta-lactámicos, pero la expresión de esta enzima es mínima debido a que este microorganismo carece del promotor natural (Amp-R). De este modo, su escasa expresión hace que el microorganismo pueda comportarse como sensible a ampicilina a pesar de poseer un gen de resistencia.

Resistencia poblacional: representa el comportamiento in vitro de un inóculo bacteriano frente a una determinada concentración de un antibiótico, durante un período de tiempo concreto. Este tipo de estudio es el que se realiza en el laboratorio clínico mediante el antibiograma, cuyo objetivo fundamental es determinar la susceptibilidad de una población bacteriana concreta a un antibiótico o grupo de antibióticos. El resultado final del mismo es importante para la orientación terapéutica del paciente, pero no siempre coincide con el éxito terapéutico. Por ejemplo, en ocasiones un paciente que presenta una cistitis producida por *E. coli* puede ser tratado de forma eficaz con ampicilina, a pesar de que los estudios in vitro muestran que es resistente a la misma. Esto es debido a que los beta-lactámicos se concentran cien veces más en la vejiga que en el plasma, alcanzando concentraciones que superan las posibilidades de resistencia bacteriana. Por

otra parte, un coco Gram positivo como *S. aureus*, que in vitro es sensible a eritromicina, no puede ser tratado con este antibiótico si está produciendo una bacteriemia, dado que los macrólidos alcanzan concentraciones insuficientes en plasma. Es decir, el estudio de la susceptibilidad de una cepa bacteriana a un antibiótico in vitro es fundamental para orientar la estrategia terapéutica frente a la infección, pero hay que tener en cuenta que existen variables farmacocinéticas que pueden modificar la eficacia final del tratamiento.

Resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección: aquí influyen factores como el sitio de infección y ambiente del mismo, las propiedades farmacocinéticas del antibiótico, el estado inmunológico del paciente, el tamaño del inóculo bacteriano, etc. La curación de la infección en el paciente es el parámetro que determina la efectividad del tratamiento antibiótico.¹¹

2.1. Tipos de resistencia

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia intrínseca es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano, y constituye la capacidad innata de resistir la acción de un determinado antibiótico o grupo de antibióticos mediante unas características estructurales o funcionales inherentes. Por ejemplo, todos los gérmenes gramnegativos son resistentes a la vancomicina por la incapacidad de la misma para atravesar su membrana externa. Otro ejemplo es el metronidazol, que es ineficaz frente a bacterias aerobias debido a que éstas son incapaces de reducir el antibiótico a su forma activa en situación de anaerobiosis. Por lo tanto, este tipo de resistencia es una característica natural, predecible y heredada de forma invariable entre las bacterias de una misma especie o grupo.

Resistencia natural	Mecanismo
De las bacterias anaerobias a los aminoglucósidos	Falta de metabolismo oxidativo para mediar la captación de aminoglucósidos
De las bacterias grampositivas al aztreonam (un betalactámico)	Falta de proteínas de unión a la penicilina (PBP) que se unan y sean inhibidas por este antibiótico betalactámico
De las bacterias gramnegativas a la vancomicina	Falta de captación como resultado de la incapacidad de la vancomicina de atravesar la membrana externa
De <i>P. aeruginosa</i> a las sulfonamidas, el trimetoprim, la tetraciclinas o el cloranfenicol	Falta de captación como resultado de la incapacidad de los antibióticos de alcanzar concentraciones intracelulares eficaces
De las especies de <i>Klebsiella</i> a la ampicilina (un betalactámico)	Producción de enzimas (betalactamasas) que destruyen la ampicilina antes de que pueda llegar a las PBP
De las bacterias aerobias al metronidazol	Incapacidad de reducir el fármaco a su forma activa en anaerobiosis
De los enterococos a los aminoglucósidos	Falta de metabolismo oxidativo suficiente para mediar la captación de aminoglucósidos
De los enterococos a todas las cefalosporinas	Falta de PBP que se unan y sean inhibidas por estos antibióticos betalactámicos
De los lactobacilos y de <i>Leuconostoc</i> a la vancomicina	Falta de un precursor de la pared celular como diana apropiada para permitir que la vancomicina se una e inhiba la síntesis de la pared celular
De <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> al imipenem (un betalactámico)	Producción de enzimas (betalactamasas) que destruyen el imipenem antes de que pueda alcanzar los sitios de acción de las PBP

Figura 2: Ejemplos de resistencia intrínseca a agentes antibacterianos.¹²

La resistencia adquirida aparece cuando un microorganismo obtiene la capacidad de resistir la actividad de un agente antimicrobiano (al que era previamente sensible) como resultado de alteraciones en la estructura o fisiología normales debido a cambios en su material genético. Esto puede aparecer como consecuencia de la mutación de genes implicados en procesos fisiológicos y estructuras celulares, a través de la adquisición de nuevos genes de otros microorganismos, o bien como resultado de ambos mecanismos. A diferencia de la resistencia intrínseca, puede aparecer en algunas cepas de una especie o grupo, pero no estar presente en otras. Así, existen cepas de estafilococo que han adquirido resistencia a la meticilina, cepas de *Escherichia coli* resistentes a la ampicilina

y cepas de gonococo resistentes a ciprofloxacino. Además, la resistencia adquirida es variable e imprevisible, y por eso son fundamentales las técnicas de laboratorio para detectar la resistencia adquirida en cepas de bacterias que no son intrínsecamente resistentes. Esta forma de resistencia es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce la infección.

Así, la adquisición de mecanismos de resistencia por las bacterias se produce mediante mutaciones genéticas (cambios producidos en la secuencia de bases del cromosoma bacteriano) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias, que se produce mediante mecanismos de transferencia genética horizontal, a través de plásmidos y otros elementos genéticos móviles, como integrones y transposones.¹²

2.2. Transferencia genética horizontal

La transferencia genética horizontal (TGH) o lateral, consiste en el intercambio de material genético entre dos células que no comparten una relación de parentesco directo. Por el contrario, se denomina transferencia vertical a la transferencia de información genética a la descendencia, como ocurre en el proceso de fisión binaria, en el caso de las bacterias.

La TGH constituye un mecanismo de variabilidad genética importante desde el punto de vista evolutivo, especialmente en organismos procariotas, y es común entre las bacterias, incluso entre aquellas que son distantes filogenéticamente. Resulta crucial en la propagación de los mecanismos de resistencia antibiótica, y también contribuye a la difusión de factores de virulencia, toxinas, y otros. Existen tres mecanismos de transferencia horizontal de material genético:

Transformación: consiste en la captación de material genético que se encuentra libre en el medio por parte de una célula bacteriana, que lo incorpora a su propio material genético mediante recombinación homóloga, y lo expresa como propio. Estos fragmentos de ADN libre pueden presentar un origen diverso: restos celulares de bacterias lisadas, plásmidos liberados por otras células, etc.

La transformación natural bacteriana fue descubierta hace más de cinco décadas por el microbiólogo británico Frederick Griffith, quien observó por primera vez el proceso en unas cepas de *S. pneumoniae*. Posteriormente este fenómeno fue estudiado en profundidad por Avery, McLeod y McCarty, quienes lo bautizaron con el nombre de transformación. Actualmente, en ocasiones se utiliza el término transformación “natural” para distinguir los procesos de transferencia genética que tienen lugar de forma espontánea en el medio, de otros procedimientos de “transformación artificial” in vitro utilizados para introducir moléculas de ADN en células bacterianas.¹³

A diferencia de los procesos de conjugación y transducción, para que tenga lugar la transformación no es necesario que exista un donante vivo, ya que la liberación de ADN tras la muerte y lisis de la célula donante es suficiente para proporcionar el ADN libre. La persistencia y difusión del ADN en el entorno determinan hasta qué punto en tiempo y espacio la célula receptora puede estar distanciada de la donante, de forma que es

posible la transferencia de material genético entre poblaciones y comunidades bacterianas que se encuentran en diferentes ambientes o presentan dinámicas poblacionales diversas. Sin embargo, para que se produzca la transformación es necesario que la célula receptora sea “competente” en ese momento, es decir, que sea fisiológicamente capaz de producir los cambios necesarios para llevar a cabo la captación de material genético del medio y la integración del mismo.

La competencia genética es un estado fisiológico en el que una célula bacteriana tiene la capacidad de captar ADN libre del medio. En la mayor parte de los casos, esta competencia se adquiere bajo unas condiciones específicas; este proceso se ve influenciado por el estado fisiológico en que se encuentra la célula, las condiciones del medio circundante, y la etapa de su ciclo de crecimiento. Además, el desarrollo de este estado depende de la expresión de los genes que codifican los denominados factores de competencia, unas proteínas producidas durante el ciclo de crecimiento que llevan a cabo las funciones necesarias para que tenga lugar la transformación. Durante el proceso, se producen cambios en la superficie celular de la célula receptora que permiten la entrada de los fragmentos de ADN. Una vez ha penetrado el material genético, y sólo si éste presenta suficiente homología, se integra en el genoma del receptor, produciéndose recombinación genética. En el caso de que el material genético adquirido del medio se encuentre en un plásmido, la recombinación es innecesaria puesto que el plásmido es un replicón; en estos casos no es necesaria una estrecha relación genética entre donante y receptoras células para que tenga lugar la transformación.¹⁴

No todas las bacterias pueden experimentar procesos de transformación natural, siendo un fenómeno que se presenta con mayor frecuencia en bacterias Gram positivas, como *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae* y diversas especies del género *Streptococcus*. Sin embargo, es un Gram negativo, *Neisseria gonorrhoeae*, la única bacteria identificada que presenta competencia de manera constitutiva; en el resto de especies bacterianas potencialmente transformables la competencia genética es una propiedad transitoria inducible.

La competencia también puede ser inducida en el laboratorio mediante métodos químicos, como cambios en la concentración de calcio del medio. Esta técnica suele emplearse para introducir en una bacteria receptora material genético contenido en plásmidos, y es la base de las técnicas utilizadas en ingeniería genética.¹⁵

Conjugación: es un proceso de transferencia de material genético de una célula donadora a una receptora mediante el contacto directo entre ambas, que requiere de la intervención de estructuras y funciones celulares específicas. Generalmente, el material genético transferido mediante conjugación está contenido en elementos genéticos móviles, fundamentalmente plásmidos conjugativos y transposones, pero también existen formas de conjugación en las que la célula donadora transfiere información contenida en el cromosoma bacteriano.

La conjugación es un fenómeno que puede ocurrir entre bacterias de la misma especie o de diferentes especies relacionadas. No se conoce con exactitud el mecanismo de contacto intercelular en todas las especies bacterianas capaces de realizar conjugación, pero se sabe que en *E. coli* (primera bacteria en la que se observó el proceso) y en otras bacterias Gram negativas el contacto está mediado por un pilus sexual procedente de la

célula donante, que ejerce de puente a través del cual se produce la transferencia del material genético. En las bacterias Gram positivas la conjugación es menos frecuente y no hay participación de los pili sexuales, sino que parece realizarse mediante el contacto estrecho entre ambas bacterias y la síntesis de proteínas de anclaje celular.¹²

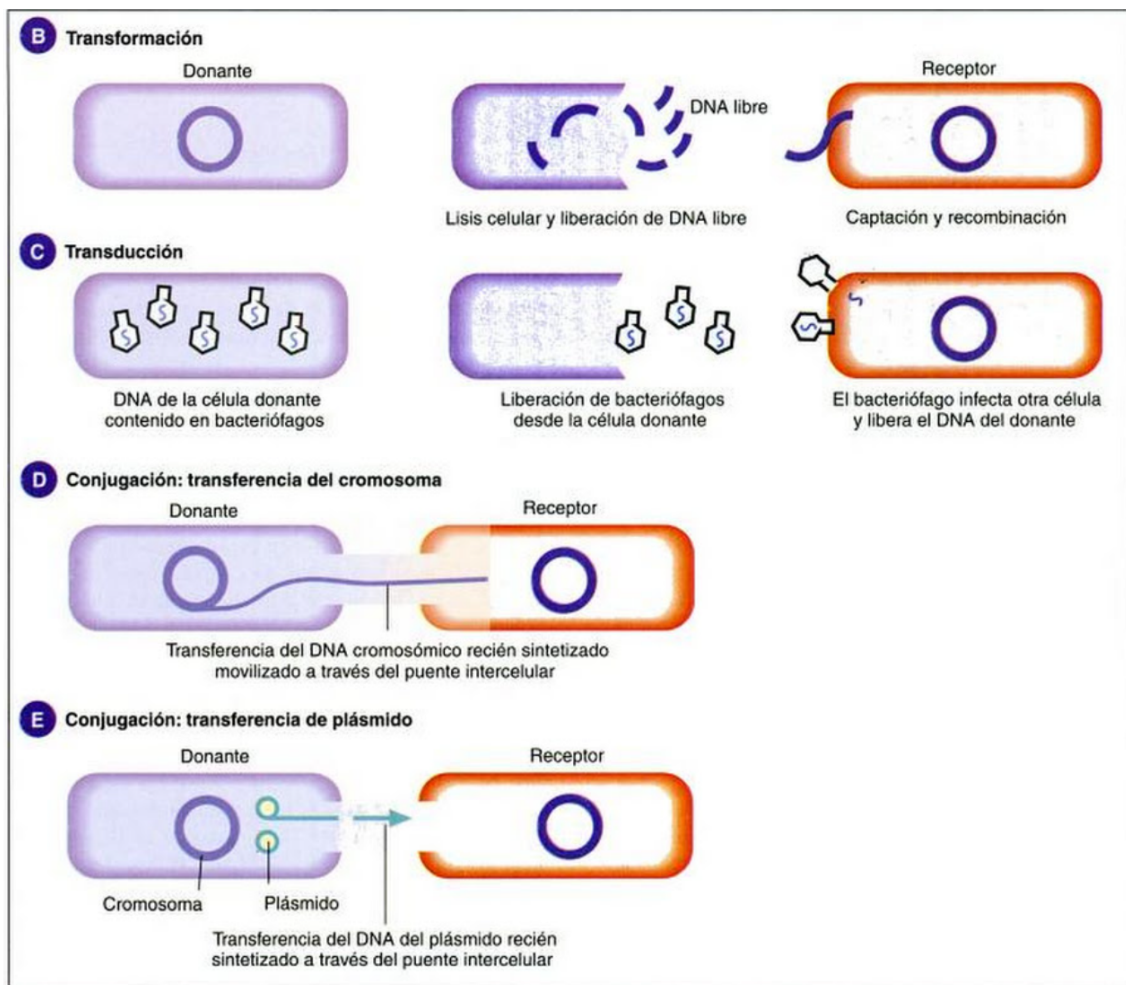


Figura 3. Mecanismos de intercambio genético entre las bacterias: transformación (B), transducción (C), y transferencia mediante conjugación de ADN cromosómico (D) y de un plásmido (E).¹²

Los plásmidos son los elementos genéticos que se transfieren más frecuentemente mediante conjugación, y contienen genes que codifican la maquinaria necesaria para llevarla a cabo. En este proceso, la célula donadora se denomina F⁺ porque posee el denominado factor de fertilidad o factor F, un fragmento de ADN que contiene los genes codificantes de las proteínas del pilus sexual y el origen de inicio de la transferencia, y se encuentra contenido en un plásmido F. La célula receptora carece de este factor y se denomina F⁻. La célula donadora transfiere una copia del factor F mediante conjugación a la receptora, convirtiéndola a su vez en una nueva célula donadora F⁺. Así se produce una rápida diseminación del plásmido entre la población bacteriana, de forma que la conjugación es un proceso de TGH muy eficiente. Existen mecanismos que impiden la conjugación entre dos células F⁺.

Ocasionalmente, el plásmido F se puede introducir por recombinación en el cromosoma bacteriano dando lugar a una célula Hfr (*high frequency recombination*, por ser células capaces de transferir genes cromosómicos con una alta frecuencia). Cuando una célula

Hfr transmite información genética por conjugación a una célula receptora F-, es capaz de transferir genes cromosómicos junto con los genes procedentes del plásmido F (integrados en el cromosoma bacteriano). La cantidad de ADN transferido depende de la estabilidad del puente establecido entre ambas bacterias y del tiempo que consigan mantener el contacto, por lo que normalmente en estos casos pasa sólo un fragmento del cromosoma. Una vez hecha la transferencia, y si el nuevo fragmento de ADN presenta suficiente homología, se integra en el cromosoma de la célula receptora mediante recombinación, pasando a formar parte de su genoma, y siendo heredable por sus células hijas. Si no existe suficiente homología, el fragmento transferido se pierde ya que, a diferencia de un plásmido, no tiene capacidad de replicación autónoma.¹⁶

Transducción: consiste en el paso de ADN de una célula a otra mediado por bacteriófagos. Este fenómeno se estudió por primera vez en cepas de *Salmonella*, y posteriormente se observó que muchos virus bacteriófagos pueden ejercer como vectores de material genético entre sus células huésped. Los fagos son virus que se adhieren a la pared bacteriana a través de receptores específicos e inyectan su genoma en el citoplasma de la bacteria, infectándola.

Pueden presentar dos tipos de ciclo biológico: los fagos virulentos presentan ciclos líticos, en los que el virus utiliza la maquinaria de la célula huésped para replicarse y formar nuevos viriones, causando la lisis de la bacteria, de manera que los viriones son finalmente liberados y pueden infectar nuevas células. Los fagos temperados pueden llevar a cabo ciclos líticos en determinadas circunstancias, pero generalmente presentan ciclos lisogénicos, en los cuales el virus se integra mediante enlaces covalentes en el cromosoma de la bacteria infectada, y se replica junto con el material genético bacteriano como si fuese un gen más, transmitiéndose a las células hijas y pudiendo permanecer así durante generaciones. En este estado, el virus se denomina profago y confiere inmunidad a la bacteria frente a la infección por nuevos fagos. Algunos fagos aportan factores de virulencia a la bacteria huésped, como es el caso de la toxina diftérica, codificada en un fago presente en *Corynebacterium diphtheriae*. Ante cambios en las condiciones ambientales en las que se encuentra la bacteria y otras situaciones de estrés (como la exposición a radiación UV), el fago lisogénico es activado y su genoma se escinde del cromosoma bacteriano, de forma que inicia un ciclo lítico que culmina con la lisis de la bacteria y la liberación de los viriones.¹⁷

Distinguimos dos tipos de transducción: generalizada y especializada o restringida. En la transducción generalizada el fago puede transferir cualquier gen de la célula huésped a otras bacterias. Esto ocurre cuando durante el proceso de replicación viral y formación de los nuevos viriones, se incorporan por error genes de la bacteria huésped en la cápside viral, en lugar de ADN del fago. De esta manera, cuando el virión infecta otra bacteria, transfiere este ADN bacteriano que puede integrarse en el genoma de la nueva célula por recombinación.

La transducción especializada es debida a una escisión defectuosa del profago respecto del cromosoma bacteriano en que se encuentra, de forma que el nuevo fago activado contiene una molécula de ADN híbrido, que contiene genes bacterianos, además de los suyos propios. Por tanto, en este proceso, el material genético que puede ser posteriormente transferido a una nueva célula huésped son genes específicos, que estaban situados junto al profago en el cromosoma bacteriano.¹⁴

Recientemente, se ha descubierto un nuevo mecanismo de transferencia genética horizontal basado en la transferencia de ADN mediante la producción de **vesículas de la membrana externa** (en inglés “Outer Membrane Vesicles”, OMV). Aunque aún no se comprende bien el funcionamiento exacto de este mecanismo, parece que ciertas proteínas están involucradas en la incorporación del ADN incluido en estas vesículas. En estudios recientes se ha visto que *Acinetobacter baumannii* es capaz de producir vesículas que contienen genes codificantes de beta-lactamasas de amplio espectro (en concreto, se ha confirmado la presencia del gen blaOXA24 que codifica una carbapenemasa). Los últimos descubrimientos relacionados con la existencia de cepas competentes (incluso pertenecientes a otras especies bacterianas) abren nuevos campos de investigación relacionados con la transferencia de genes resistencia entre microorganismos.¹⁸

Elementos genéticos móviles

Los elementos genéticos móviles son secuencias de material genético que pueden cambiar su localización dentro del genoma de una célula, o desplazarse del genoma de una célula a otra, incluso entre cepas y especies diferentes. Muchos genes de resistencia a antibióticos están presentes en estas estructuras que facilitan su diseminación.

Clásicamente, se ha clasificado los elementos genéticos móviles en plásmidos, transposones y bacteriófagos (éstos ya mencionados en el apartado de transducción), pero recientemente se han identificado nuevas estructuras genéticas con capacidad para desplazarse o ser movilizadas de un genoma a otro, como son las secuencias integrativas y conjugativas (ICEs), las secuencias de inserción, los integrones, etc.

Estos elementos contienen información que no es estrictamente necesaria para el funcionamiento y la supervivencia de la célula huésped, pero que confiere ventajas evolutivas a la misma, y pueden ser transmitidos por vía vertical u horizontal.

Plásmidos

Los plásmidos son moléculas de ADN extracromosómico de doble cadena, que se replican de manera independiente del cromosoma bacteriano. Presentan un tamaño variable (oscila entre 1 y 250 kilobases), y por lo general son circulares, pero también pueden ser lineales. El número de plásmidos por célula varía en función de la bacteria, y pueden coexistir varios tipos de plásmidos en la misma célula. Son elementos frecuentes en las bacterias, pero también pueden estar presentes en algunas células eucariotas, como las levaduras y otros hongos. Se han encontrado plásmidos en prácticamente todos los géneros bacterianos. No transportan genes necesarios para la supervivencia y replicación celulares, pero confieren ventajas a la bacteria huésped, como resistencia a antibióticos, factores de virulencia, de degradación de tóxicos, etc. (14)

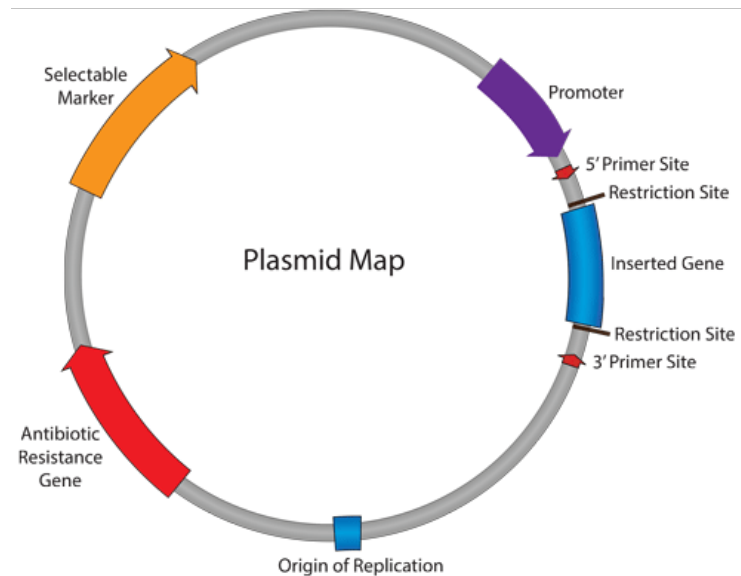


Figura 4. Plásmido: esquema básico de su estructura.¹⁹

Los plásmidos contienen entre sus genes un origen de replicación (*oriT*) que les permite replicarse de forma autónoma. Los más simples pueden codificar solamente este origen de replicación y genes reguladores de las funciones replicativas. Sin embargo, una gran parte de los plásmidos también contienen un origen de transferencia y genes que permiten su transmisión de una bacteria a otra mediante conjugación, además de contener genes codificantes de resistencia a antibióticos y otras funciones ya comentadas, pudiendo llegar a ser estructuras mucho más complejas. Algunos plásmidos pueden estar presentes en un amplio rango de especies bacterianas diferentes, mientras que otros están limitados a un género o especie concretos.²⁰

Aunque la conjugación es la principal vía de movilización de estos elementos, algunos plásmidos pueden integrarse en el cromosoma bacteriano, lo que permite su transmisión por vía vertical, de tal manera que cuando una bacteria se divide por fisión binaria sus células hijas reciben una copia del plásmido. Al plásmido capaz de integrarse en el cromosoma bacteriano se le denomina episoma.

Según su capacidad para transferirse a otros huéspedes mediante conjugación distinguimos entre plásmidos conjugativos y no conjugativos. Los plásmidos conjugativos generalmente presentan un mayor tamaño y contienen genes que codifican los elementos necesarios para realizar la transferencia de ADN a otra célula (como el pilus sexual), así como para llevar a cabo la replicación autónoma. Los plásmidos no conjugativos son plásmidos más simples que carecen de uno o más de los genes necesarios para realizar la transferencia de ADN por conjugación. Dentro de éstos, distinguimos entre plásmidos no movilizables y movilizables; éstos últimos pueden transferirse por conjugación si la célula huésped también alberga un plásmido conjugativo.

Además, según el fenotipo que inducen en la célula huésped, podemos clasificar los plásmidos como:

- Plásmidos F, que contienen el factor F y el resto de elementos necesarios para llevar a cabo la conjugación.

- Plásmidos R, contienen genes que codifican mecanismos de resistencia a antibióticos, siendo la principal vía de propagación de los mismos.
- Plásmidos bacteriocinogénicos, que codifican la producción de bacteriocinas, toxinas de naturaleza proteica que inhiben el crecimiento de otras bacterias. Los más estudiados son los plásmidos Col, que producen colicinas (bacteriocinas de *E. coli*).
- Plásmidos de virulencia, codifican factores de virulencia que determinan patogenicidad en muchas bacterias, como es el caso de la toxina tetánica en *Clostridium tetani*, o el plásmido que codifica la toxina del ántrax en *Bacillus anthracis*.
- Otros: plásmidos codificantes de factores de colonización (para la invasión de los tejidos de su hospedador), plásmidos que confieren la capacidad de degradar compuestos como tolueno y xileno y aportan nuevas rutas metabólicas de obtención de energía (*Pseudomonas*), plásmidos responsables de la producción de tumores en numerosas plantas dicotiledóneas (*Agrobacterium*), etc.

Algunos plásmidos pueden codificar más de un fenotipo; por ejemplo, existen plásmidos que confieren resistencia antibiótica y además aumentan la virulencia de la bacteria.^{21,22}

Los plásmidos son elementos ampliamente utilizados en ingeniería genética como vectores de clonación por su capacidad para replicarse de manera autónoma y su fácil manipulación. Es posible insertar genes o fragmentos de material genético en el interior de un plásmido, denominado “recombinante”, y posteriormente introducirlo en una bacteria mediante procesos de transformación inducida in vitro. Así, los vectores plasmídicos permiten generar copias en grandes cantidades del fragmento de ADN introducido, gracias la rápida multiplicación de las bacterias.

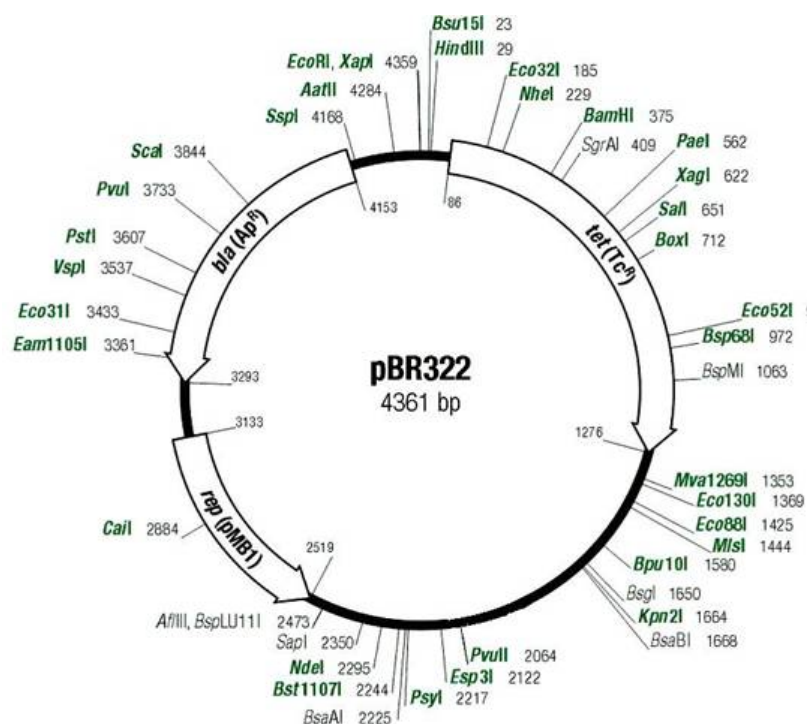


Figura 5. Vector de clonación pBR322 de *E. coli*.²³

El vector de clonación pBR322 de *E.coli* fue el primer plásmido artificial, creado en 1977. Está constituido por ADN circular de doble cadena, con una longitud de 4361 pares de bases. Fue uno de los vectores más utilizados en ingeniería genética durante mucho tiempo. Contiene un origen de replicación que sólo funciona en *E. coli*, así como genes de resistencia a ampicilina y tetraciclina.

Transposones

Los transposones o elementos genéticos transponibles, son secuencias de DNA capaces de desplazarse de manera autónoma de un lugar a otro del genoma, o incluso entre genomas diferentes, gracias a un sistema de recombinación propio. Durante los procesos de escisión, translocación e inserción pueden producirse mutaciones y reordenamientos que afectan a la expresión génica; además algunos transposones contienen genes que confieren características fenotípicas a la célula hospedadora por lo que constituyen, junto con los plásmidos, elementos clave en la diversidad genética y la diseminación de la información genética en las bacterias. Están presentes en todos los organismos, tanto procariotas como eucariotas, de hecho, una importante parte del genoma humano está formado por transposones.²⁴

Estos elementos fueron descritos por primera vez por Barbara McClintock, que descubrió la transposición genética durante sus investigaciones con plantas de maíz entre 1940 y 1950, y recibió el Premio Nobel de Medicina en 1983 por su descubrimiento.

Al contrario que los plásmidos, los transposones no pueden existir de manera independiente en el interior de una célula, ya que carecen de origen de replicación y necesitan integrarse en otras estructuras con capacidad replicativa para permanecer en la misma, como cromosomas o plásmidos.

La transposición es el proceso por el cual estos elementos se escinden de una localización genómica y se insertan en otra. Se distinguen dos tipos de transposones en función de la estrategia de transposición:

- Clase I o retrotransposones: se desplazan de un lugar a otro por medio de intermediarios de RNA, que son transformados en DNA por una transcriptasa inversa, codificada por el mismo transposón, e insertados en el sitio diana. Es un mecanismo muy similar al que llevan a cabo los retrovirus (como el VIH) para replicarse en las células que infectan. Se distinguen fundamentalmente dos tipos: los retrotransposones LTR, de origen viral, caracterizados por la presencia de repeticiones terminales largas (Long Terminal Repeats) en ambos extremos; y los retrotransposones no-LTR, de origen no viral.
- Clase II o transposones DNA: el fragmento de DNA se desplaza directamente de una posición a otra del genoma gracias a la acción de una enzima transposasa. Éstos fueron los transposones descritos por McClintock.

Además, existen diferentes tipos de transposición según el mecanismo por el que se lleva a cabo, ya que el transposón puede simplemente escindirse e insertarse en la región receptora de forma que la región donadora pierde su copia (transposición simple o no replicativa), o bien puede originarse una copia del transposón y que ésta sea la que se integre en la nueva localización (transposición replicativa).

Los transposones de tipo II (transposones DNA) codifican una transposasa, un tipo de enzima recombinante necesaria para la escisión e inserción del transposón. Además, se caracterizan por presentar secuencias de repetición invertidas en ambos extremos terminales (ITRs, en inglés “Inverted Terminal Repeats”), con una longitud de entre 9 y 40 pares de bases. Estas secuencias invertidas son complementarias la una de la otra (Figura 6: en este caso, la secuencia ACGCTA situada en el extremo derecho del transposón es complementaria de la secuencia TGCGAT situada en el terminal izquierdo del mismo). Son fundamentales para el correcto funcionamiento del transposón, ya que son las secuencias que van a ser reconocidas por la transposasa.

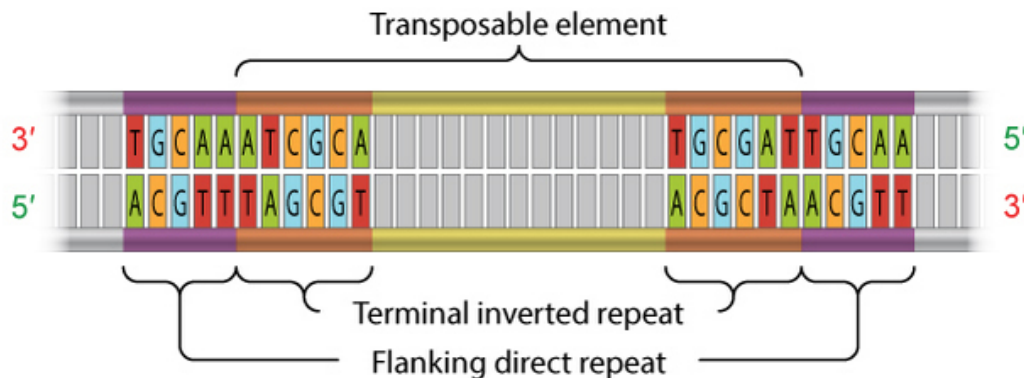


Figura 6. Repeticiones terminales invertidas (ITRs) en los extremos de un transposón.

El transposón se encuentra flanqueado a ambos lados por unas duplicaciones de la secuencia diana, de poca longitud (DR, en inglés “Direct Repeats”). Estas secuencias no forman parte del transposón pero colaboran en el proceso de inserción, momento en el cual aparecen. El número de pares de bases que forman las repeticiones directas de un determinado transposón es siempre el mismo, ya que depende del mecanismo de la transposasa; sin embargo, la secuencia de bases será diferente, ya que depende del sitio de inserción. Cuando el transposón se transfiere a otro sitio estas repeticiones permanecen, constituyendo la "huella del transposón", pudiendo llegar a originar alteraciones en la expresión génica.²⁵

Los transposones más simples se denominan secuencias de inserción (IS) y están constituidos por una secuencia central que codifica la enzima transposasa, y por las repeticiones terminales invertidas (ITRs). Fueron los primeros elementos transponibles conocidos en las bacterias, siendo algunos ejemplos de los mismos IS1, IS2 e IS3.

Los transposones compuestos son de mayor tamaño, y están constituidos por dos secuencias de inserción localizadas en ambos extremos en orden directo o inverso y una secuencia central que codifica otras proteínas, generalmente genes de resistencia a antibióticos (por ejemplo, genes de resistencia frente a tetraciclinas, ampicilina y/o cloranfenicol), pero también toxinas y otros factores que confieren ventajas a la célula huésped. Los transposones compuestos se nombran con la abreviatura Tn seguida de un número, de forma que se denominan Tn1, Tn2, etc.

3. MECANISMOS DE RESISTENCIA EN LOS DIVERSOS GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS

Independientemente de que la resistencia sea natural o adquirida, las bacterias comparten vías y mecanismos similares mediante los cuales consiguen sobrevivir y proliferar a pesar de la acción de los antibióticos. Los mecanismos más frecuentes de resistencia son los siguientes:

- *Alteraciones en la permeabilidad de la pared bacteriana*, de manera que se limita la entrada del antibiótico, como sucede con la disminución en la expresión de porinas. Éste es mecanismo especialmente importante en gérmenes Gram negativos.
- *Expulsión del antimicrobiano* hacia el exterior celular, mediante bombas de reflujo activo.
- *Inactivación enzimática del antibiótico*, mediante beta-lactamasas y otras enzimas, siendo éste un mecanismo especialmente relevante en el caso de resistencia a beta-lactámicos y aminoglucósidos.
- *Modificación del sitio diana*, como alteraciones en las subunidades de los ribosomas bacterianos, que determinan resistencia a tetraciclinas y macrólidos; la producción de una diana alternativa, como la PBP2a codificada por el gen *mecA* en *S. aureus* met icilin-resistente; la metilación del ARNr que determina resistencia a aminoglucósidos; y las modificaciones en la ADN girasa y la topoisomerasa IV, que causan resistencia a las quinolonas.
- *Desarrollo de rutas metabólicas alternativas* a aquellas inhabilitadas por el antibiótico, como en el caso de la resistencia a trimetoprim y sulfamidas.²⁰

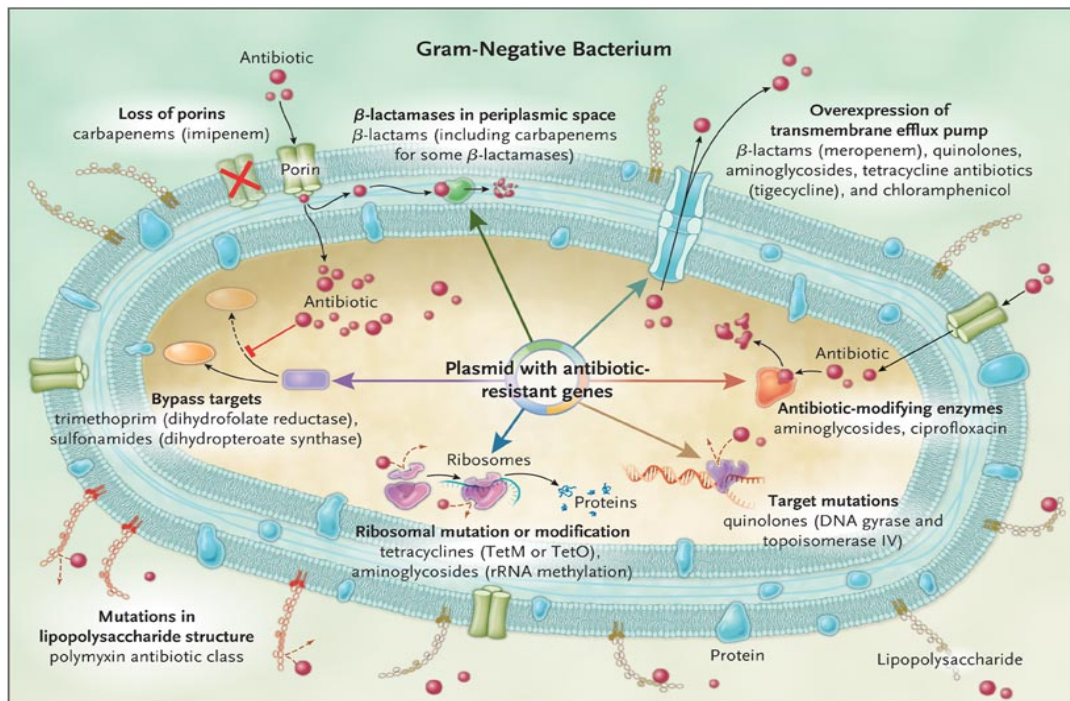


Figura 8. Los diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos en la célula Gram-negativa.²⁸

A continuación, se realiza una descripción de las principales características de los diversos grupos de antibióticos utilizados en la actualidad, así como de los mecanismos de resistencia que afectan a cada uno de ellos.

Beta-lactámicos

Los beta-lactámicos constituyen uno de los grupos antibióticos más extensos que existen, y también se encuentran entre los más prescritos. La penicilina (1928) fue el primer beta-lactámico que se descubrió y desde entonces se ha ido ampliando este grupo de fármacos hasta ser uno de los más grandes, a pesar de que apenas se han añadido nuevos componentes en las últimas tres décadas. Existen diversos subgrupos:

- Penicilina y derivados
- Cefalosporinas
- Carbapenémicos
- Monobactámicos
- Inhibidores de beta-lactamasas

Estructura

El componente estructural común a todos los miembros del grupo es el anillo beta-lactámico. Según la naturaleza de los radicales se diferencian las distintas moléculas, siendo las cadenas laterales complementarias las más relacionadas con la actividad antimicrobiana, farmacocinética y toxicidad.

Las penicilinas están constituidas por el característico ácido 6-aminopenicilánico (resultado de la unión de un anillo beta-lactámico y un anillo de tiazolidina) y por una cadena lateral en la posición 6 del anillo beta-lactámico, que varía de unas penicilinas a otras y es la que define sus propiedades. Las cefalosporinas comparten similitudes estructurales con las penicilinas; su estructura básica es el núcleo cefem, que consiste en la fusión de un anillo dihidrothiacínico y un anillo betalactámico, y la introducción de modificaciones en las cadenas laterales origina las diversas cefalosporinas. En el caso de las carbapenemas, el anillo betalactámico se fusiona con uno pirrolidínico, compartiendo un nitrógeno. Estas modificaciones y las cadenas laterales son las que condicionan una mayor afinidad por las proteínas fijadoras de penicilina o PBPs, así como un incremento de la potencia, del espectro antibacteriano y de la resistencia a las beta-lactamasas, siendo los beta-lactámicos de más amplio espectro y actividad. Los monobactámicos son derivados del ácido 3-aminomonobactámico (3AMA), y presentan una estructura monocíclica en la que el anillo beta-lactámico no está fusionado a otro secundario; gracias a esta diferencia estructural, son los únicos que no presentan reacciones alérgicas cruzadas con los otros grupos de beta-lactámicos

Respecto a los inhibidores de beta-lactamasas, son moléculas con escaso o nulo efecto bactericida a pesar de compartir grandes similitudes estructurales con el resto de beta-lactámicos. Su importancia radica en la elevada afinidad que presentan por las enzimas beta-lactamasas producidas por algunas bacterias, de forma que se unen a éstas de manera irreversible, inutilizándolas, y permitiendo así la actuación del antibiótico con el que se suministran. El ácido clavulánico fue el primer inhibidor que se descubrió y presenta un núcleo similar al ácido penicilánico de las penicilinas, pero con algunos cambios que determinan un aumento de la afinidad por las beta-lactamasas. El

sulbactam es una sulfona semisintética del ácido penicilánico y el tazobactam se diferencia del sulbactam por la presencia de un grupo triazol en posición 3.²⁹

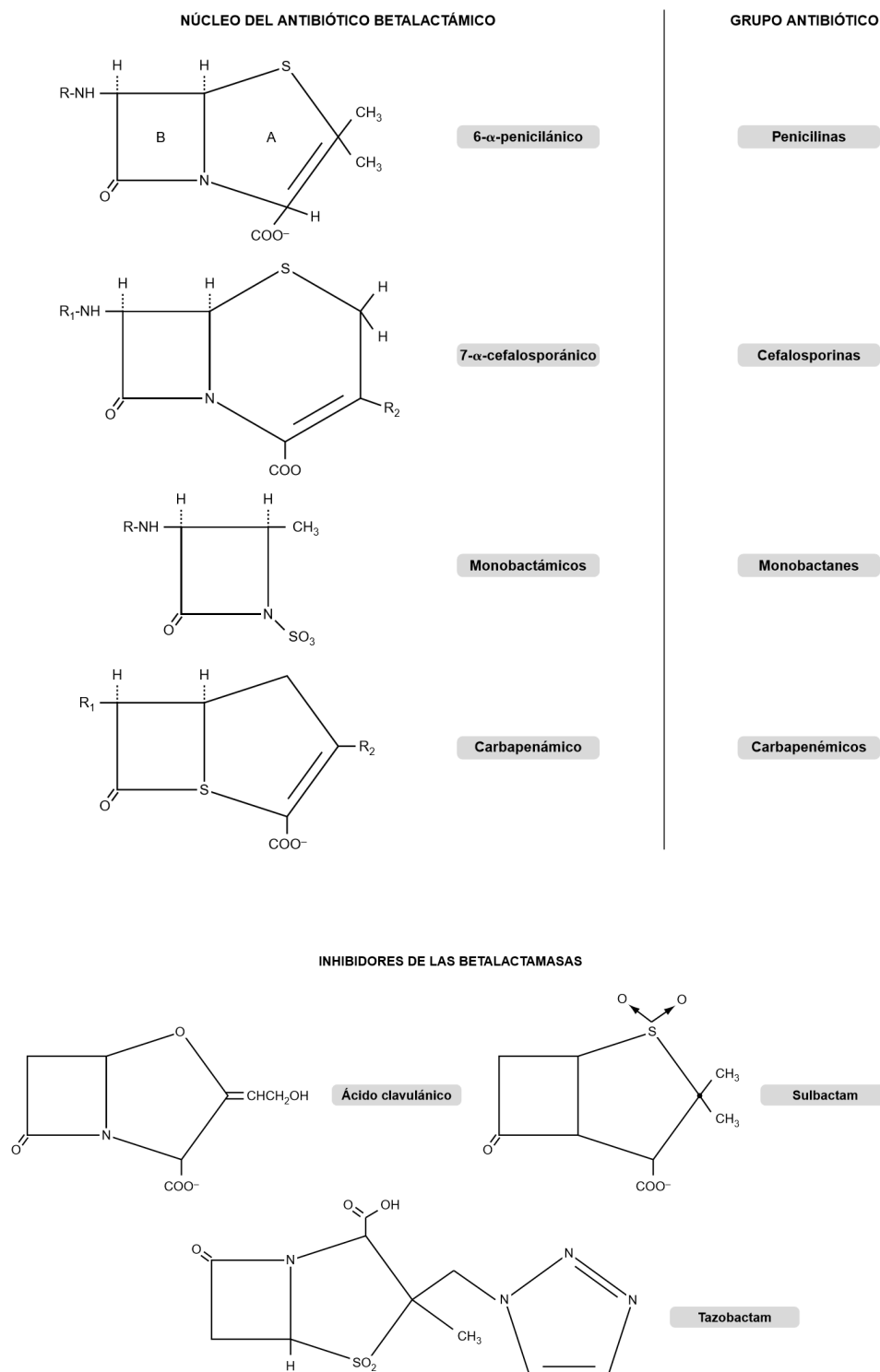


Figura 9. Estructura química básica de los diferentes grupos de betalactámicos.²⁹

Mecanismo de acción

Los beta-lactámicos son antibióticos bactericidas que actúan mediante dos mecanismos: por un lado, inhiben la síntesis de la pared bacteriana interfiriendo en la formación del peptidoglucano, uno de sus componentes fundamentales; por otro, inducen enzimas implicadas en los fenómenos de autólisis bacteriana.

La pared celular es una estructura localizada por fuera de la membrana citoplasmática que está presente en todas las bacterias (excepto en el género *Mycoplasma*) y que cumple diversas funciones, entre ellas la de mantener la rigidez y forma de la célula, y evitar la lisis osmótica del organismo. Las bacterias Gram positivas tienen una pared celular gruesa cuyo componente principal es el peptidoglucano o mureína, un heteropolímero formado por una secuencia alternante de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. En las bacterias Gram negativas, la pared es más fina y compleja, y consta de una capa externa formada por lípidos y proteínas, y de una capa interna de peptidoglucano. Las bacterias ácido-alcohol resistentes (en las que se incluyen el género *Mycobacterium* y algunas especies de *Nocardia*) también cuentan con peptidoglucano en su pared celular, junto con una gruesa capa lipídica.

El ácido acetilmurámico fija cadenas de tetrapéptidos que se unen entre sí para formar una malla; esto se lleva a cabo mediante pentapéptidos de glicina en el caso de las bacterias Gram positivas, o bien de forma directa en el caso de las Gram negativas. Los beta-lactámicos actúan inhibiendo este proceso de transpeptidación, que constituye la tercera y última fase de la síntesis de la pared celular, de forma que la pared se vuelve defectuosa y se produce una lisis osmótica de la bacteria, secundaria a la elevada presión osmótica intracelular determinada por proteínas y otras moléculas.

Para que los beta-lactámicos actúen de forma eficaz es necesario que la bacteria se encuentre en fase de multiplicación celular, ya que es en este momento cuando se lleva a cabo la síntesis de la pared. De hecho, los beta-lactámicos presentan una actividad reducida en aquellas situaciones en la que la mayor parte de las bacterias causantes de una infección se encuentran en fase estacionaria, como en los abscesos.³⁰

Los componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma bacteriano y son transportados al espacio periplásmico, situado entre la membrana citoplasmática y la pared celular, donde existen una serie de enzimas (transpeptidasas y carboxipeptidasas), que son las responsables de llevar a cabo la transpeptidación. El anillo betalactámico posee una estructura similar a los dos últimos aminoácidos (D-alanina-D-alanina) del pentapéptido al que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente en su sitio activo y así impedir la síntesis de la pared celular. Sin embargo, los beta-lactámicos no se van a unir solamente a las transpeptidasas, sino también a carboxipeptidasas, endopeptidasas, y otras. Estas enzimas son denominadas de forma colectiva PBPs (*Penicillin Binding Proteins* o proteínas de unión a penicilinas) y están implicadas en diferentes aspectos de la síntesis de la pared y otras funciones celulares. Los diversos beta-lactámicos presentan diferencias de afinidad de unas PBPs a otras, de forma que existen variaciones en su eficacia bactericida sobre unos organismos u otros.

Además, los beta-lactámicos actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. Algunas bacterias carecen de estas enzimas autolíticas o presentan mutaciones en los genes reguladores de las mismas; estas cepas muestran

“tolerancia” a los beta-lactámicos, es decir, se produce una inhibición del crecimiento bacteriano, pero no muerte celular. En este caso, los beta-lactámicos ejercen un efecto bacteriostático.

Espectro de actividad

Los beta-lactámicos presentan actividad frente a una gran variedad de géneros bacterianos, que incluyen bacterias Gram positivas, Gram negativas y espiroquetas. No son activos frente a *Mycoplasma* porque carece de pared celular, ni sobre bacterias intracelulares como *Chlamydia* o *Rickettsia*. Las micobacterias también presentan resistencia intrínseca a estos fármacos. Los inhibidores de beta-lactamasas son moléculas con una elevada afinidad frente a las beta-lactamasas, pero tienen una baja actividad antibacteriana (a excepción del sulbactam frente a *Acinetobacter baumannii* y a otros bacilos gramnegativos).²⁹

Mecanismos de resistencia

Las bacterias pueden desarrollar resistencia a los beta-lactámicos por diversos mecanismos, que en ocasiones se asocian. Su origen puede ser cromosómico (debido a mutaciones en el material genético de la bacteria), plasmídico o por trasposones. Se han descrito los siguientes mecanismos:

1. *Alteraciones de la permeabilidad.* La resistencia se origina como consecuencia de modificaciones en la estructura o la expresión de porinas, unas proteínas presentes en la membrana celular bacteriana que permiten el paso de sustancias hidrofílicas, como los beta-lactámicos. Este mecanismo de resistencia es especialmente relevante en *Pseudomonas aeruginosa* y otras bacterias Gram-negativas, ya que su membrana externa dificulta la entrada de moléculas hidrófilas, que necesitan de porinas para penetrar en la célula.
2. *Modificación de las dianas.* Las dianas de los beta-lactámicos son las PBPs situadas en la membrana citoplasmática. Cambios en las PBPs conducen a una disminución de la afinidad de unión de los beta-lactámicos, de forma que disminuye la sensibilidad de la bacteria al antibiótico. Este mecanismo se da especialmente en cocos Gram positivos, siendo responsable de la resistencia a la penicilina en *S. pneumoniae*, y de la resistencia a la meticilina/oxacilina en *S. aureus*, entre otros.
3. *Expresión de bombas de reflujo activo.* Algunas bacterias presentan bombas de reflujo activo, dependientes de energía, que expulsan el antimicrobiano del medio interno celular. Es un mecanismo de resistencia presente en patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* o *Enterococcus faecalis*.
4. *Inactivación enzimática,* a través de la producción de beta-lactamasas. Éste es el mecanismo de resistencia a beta-lactámicos más importante y extendido, sobre todo entre las bacterias Gram negativas. Las beta-lactamasas son enzimas catalíticas de naturaleza proteica que actúan abriendo el anillo beta-lactámico, inactivando así el antibiótico. Su producción puede estar controlada por genes situados en el cromosoma bacteriano (y por lo tanto ser características de una especie entera) o por genes adquiridos en un plásmido o un transposón (por lo que se pueden transferir entre diferentes cepas de una misma especie y entre distintas especies bacterianas).

El grado de resistencia que determinan está relacionado con su concentración, afinidad por los diferentes beta-lactámicos y propiedades hidrolíticas.³¹

Las bacterias pueden expresar las beta-lactamasas de forma constitutiva (es decir, se sintetizan siempre, como la mayoría de enzimas codificadas por plásmidos) o inducible en presencia del antibiótico; la capacidad de inducción varía de unos beta-lactámicos a otros. En los microorganismos Gram-negativos, las beta-lactamasas plasmídicas son constitutivas y su producción está en relación con el número de copias del plásmido, mientras que en los estafilococos y otros cocos Gram positivos suelen ser inducibles. Las beta-lactamasas cromosómicas, producidas fundamentalmente por bacterias Gram-negativas, pueden ser constitutivas o inducibles.

Según su espectro, se distinguen diferentes tipos de beta-lactamasas. Las denominadas penicilinasas hidrolizan característicamente los compuestos pertenecientes al grupo de las penicilinas, es decir, bencilpenicilinas, aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. Las cefalosporinasas, además de penicilinas inactivan también cefamicinas y cefalosporinas de distintas generaciones, como es el caso de la betalactamasa cromosómica inducible tipo AmpC de las enterobacterias.

Las beta-lactamasas de espectro ampliado (BLEAs) son enzimas capaces de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido, aunque no son activas frente a carbapenémicos y monobactám. Los inhibidores de beta-lactamasas no son capaces de impedir su actividad. Estas beta-lactamasas se corresponden con las familias TEM-1, TEM-2 y SHV-1, que constituyen la categoría 2b de Ambler y se encuentran ampliamente distribuidas entre las bacterias.

Sin embargo, la mayor amenaza actualmente son las denominadas beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs), que presentan actividad contra penicilinas, cefalosporinas (incluidas las de tercera y cuarta generación) y aztreonam, aunque se ha visto que los carbapenémicos siguen siendo eficaces tanto in vitro como in vivo en su presencia. Pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de beta-lactamasas, aunque existen BLEEs que sólo pueden ser inactivadas por tazobactam. Las BLEEs clásicas derivan mayoritariamente de mutaciones de betalactamasas de las familias temoniera (TEM), variable sulfidril (SHV) y oxacilin (OXA), aunque en los últimos años han surgido BLEEs pertenecientes a otras muchas familias. Sustituciones de aminoácidos que conforman el sitio activo de estas enzimas han dado lugar a cambios en su espectro, que se ha visto ampliado. Estas potentes enzimas están frecuentemente codificadas en plásmidos, lo que facilita su disseminación entre las bacterias, incluso entre especies bacterianas diferentes.³²

β -lactamasas	Bush, Jacoby, Medeiros	Molecular (Ambler)	Familias de β -lactamasas	Sustratos
Espectro Ampliado	2b	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1	Bencilpenicilinas, minopenicilinas, Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, Cefalosporinas de espectro estrecho**
	2d	D	OXA-1 a OXA-10, PSE-2 (OXA-10)	El mismo sustrato de TEM-1, TEM-2, SHV-1, más cloxacilina, meticilina y oxacilina. Inhibidas escasamente por ácido clavulánico.
Espectro extendido (BLEE)	2be	A	TEM-3 a TEM-26 SHV-2 A SHV-6, K1 de <i>Klebsiella oxytoca</i>	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefalosporinas de tercera generación** y aztreonam
	2br	A	TEM-30 a TEM-36, IRT-2	β -lactamasas tipo IRT (Inhibitor Resistant TEM). Resistentes a los inhibidores de β -lactamasas ácido clavulánico y sulbactam, pero sensible a tazobactam.
	2d	D	OXA-1 a OXA-10	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefepima para algunas enzimas.
	2f	A	Otras (BES-1, familia GES/IBC, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1, VEB-1 y VEB-2)	El mismo sustrato de la familia TEM y SHV
AmpC	1	C	ACC-1, ACT-1, CFE-1, familia CMY, DHA-1, DHA-2, familia FOX, familia LAT, MIR-1, MOX-1 y MOX-2	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefamicinas**. No inhibidas por el ácido clavulánico.
Carbapenemasas	3a, 3b, 3c	B	Familia IMP, familia VIM, GIM-1, SPM-1 y L1 (<i>S. Maltophilia</i>)	El mismo sustrato del grupo de Espectro extendido más cefamicinas**, y carbapenémicos. Aztreonam se mantiene estable. No inhibidas por ácido clavulánico
	2f	A	KPC-1, KPC-2 y KPC-3	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1
	ND*	D	OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40 y OXA-48	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1
Penicilinasas	4	ND*	Penicilinasas cromosómica de <i>B. cepacia</i>	Penicilinasas no incluidas en los otros grupos. No inhibidas por ácido clavulánico
* No determinado ** Benzilpenicilinas, penicilina G; aminopenicilinas, amoxicilina y ampicilina; carboxipenicilinas, carbenicilina y ticarcilina; ureidopenicilinas, piperacilina; cefalosporinas de espectro estrecho, cefazolina, cefalotina, cefamandol y cefuroxima, entre otras; cefalosporinas de tercera generación, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, y ceftriaxona; carbapenémicos, ertapenem, imipenem, y meropenem; cefamicinas, cefotetan, cefoxitin.				

Figura 10. Diferentes esquemas de clasificación de las betalactamasas bacterianas y sus diferentes sustratos³²

Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son una familia de potentes antibióticos de amplio espectro, muy utilizados en el tratamiento de las infecciones por enterobacterias y otros gérmenes Gram negativos. Asociados a beta-lactámicos y otros agentes antimicrobianos, presentan un efecto bactericida sinérgico, siendo útiles en el tratamiento de bacteriemias

y otras infecciones graves causadas por Gram positivos. También se utilizan en algunas infecciones por micobacterias.³³

El primer aminoglucósido descubierto fue la estreptomicina en 1944, obtenida a partir de cepas de *Streptomyces griseus*. Años después se obtuvieron otros compuestos como kanamicina, neomicina y tobramicina a partir de otras especies de *Streptomyces* y en 1960 se aisló gentamicina a partir de *Micromonospora purpurea*. Posteriormente aparecieron compuestos semisintéticos, como la amikacina, activos frente a las cepas bacterianas que se habían hecho resistentes a los primeros antibióticos y para la década de 1970 los aminoglucósidos ya se habían establecido como el principal grupo de antibióticos para el tratamiento de las infecciones por Gram negativos. Sin embargo, el ritmo de desarrollo de nuevos aminoglucósidos ha disminuido notablemente desde entonces, y han aparecido nuevas formas de resistencia.

Se estableció una nomenclatura para los aminoglucósidos en función de su origen, de manera que aquellos derivados del género *Streptomyces* se denominan con el sufijo *-mycin* (en inglés), mientras que aquellos derivados de *Micromonospora* se nombran como *-micin*. En español se simplifica y generalmente se escribe el sufijo *-micina* para nombrar ambos grupos, sin embargo, lo correcto sería distinguir kanamycina, tobramycina, neomycina de gentamicina, amikacina, etc.²⁰

Son fármacos bactericidas que actúan interfiriendo con la síntesis de proteínas celulares, lo que secundariamente conduce a la formación de poros en la pared de la célula bacteriana. Tienen una acción rápida que se relaciona con la concentración que alcanzan, y un estrecho margen terapéutico, lo que requiere una administración precisa para evitar problemas de toxicidad. Se administran por vía parenteral, y presentan un efecto post-antibiótico prolongado, lo que permite que los intervalos de administración sean más largos que para el resto de antibióticos.

Estructura

Los aminoglucósidos están compuestos por uno o varios aminoazúcares unidos mediante enlaces glucosídicos a un aminociclitol, un alcohol cíclico hexagonal con grupos amino.

Se distinguen dos grupos de aminoglucósidos en función de si este aminociclitol es la estreptidina o la desoxiestreptamina: ésta última es el componente aminociclitol de la mayor parte de los aminoglucósidos utilizados en la práctica clínica, mientras que la estreptidina es el componente de la estreptomicina. En una categoría aparte se encuentra la espectinomicina, un compuesto constituido únicamente por el aminociclitol, sin presentar un componente aminoglucosídico.³⁴

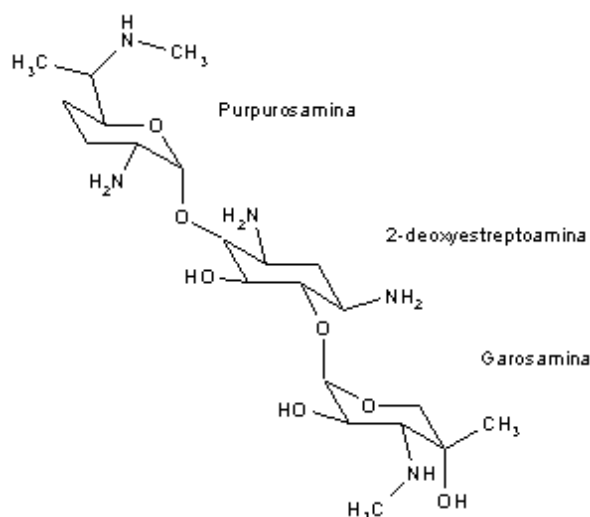


Figura 11. Estructura química de la gentamicina.

Mecanismo de acción

Los aminoglucósidos actúan uniéndose a la subunidad 30S de los ribosomas procarióticos, de forma que impiden la correcta síntesis proteica, lo que secundariamente determina alteraciones en la permeabilidad de la célula.

Son moléculas grandes y altamente polares, por lo que para atravesar la membrana externa de las bacterias Gram negativas inducen la rotura de los puentes de magnesio y calcio presentes entre moléculas de lipopolisacáridos adyacentes. Posteriormente, atraviesan la membrana citoplasmática mediante un mecanismo dependiente de energía, que puede ser inhibido o bloqueado por cationes divalentes, pH bajo, situación de hiperosmolaridad o anaerobiosis.

Una vez en el citosol, los aminoglucósidos se unen al ARN ribosómico 16S de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano (también mediante un proceso dependiente de energía) y así alteran los procesos que aseguran una correcta traducción de la información genética dando como resultado la formación de proteínas aberrantes. Cuando estas proteínas pasan a formar parte de la membrana celular, se producen defectos de la permeabilidad, y como consecuencia, aumenta la entrada de aminoglucósido al interior de la bacteria.^{1,35}

Mecanismos de resistencia

Los aminoglucósidos presentan una mayor estabilidad frente al desarrollo de resistencias en comparación con otros grupos de antibióticos, y la aparición de las mismas durante el tratamiento con estos fármacos es poco frecuente. A pesar de esto, se han descrito formas de resistencia tanto intrínseca como adquirida. Los principales mecanismos son:

1. *Disminución de la permeabilidad y reducción de la concentración intracelular del fármaco.* Este mecanismo es especialmente característico de *Pseudomonas aeruginosa*: está causado por una reducción del paso del fármaco a través de la membrana externa de la célula, y por la presencia de bombas de expulsión

activa. Estos mecanismos son adquiridos fundamentalmente mediante mutaciones cromosómicas y determinan niveles de resistencia intermedios para todos los aminoglucósidos. Además, los gérmenes anaerobios son intrínsecamente resistentes a los aminoglucósidos, gracias a que presentan una permeabilidad muy reducida a los mismos.¹¹

2. *Alteración de la diana ribosomal*, bien por mutaciones que afectan a la subunidad 30S, o bien por modificación enzimática del ARNr 16S por metilasas; en ambos casos se produce una alteración del sitio de unión del aminoglucósido. Las mutaciones en la subunidad 30S constituyen un mecanismo poco relevante ya que está limitado a la estreptomicina y la espectinomicina. Sin embargo, la posesión de ARNr-metiltransferasas determina resistencia para la mayor parte de los aminoglucósidos utilizados en clínica y supone un problema grave que está cobrando cada vez más importancia. Los genes que codifican estas metilasas se encuentran mayoritariamente en plásmidos, lo que favorece su distribución; el primero que se descubrió fue el gen *armA*, pero recientemente se han identificado otros cinco genes codificantes de metilasas.
3. *Inactivación enzimática del antibiótico*. Éste es el principal mecanismo de resistencia a aminoglucósidos. Los genes que codifican las enzimas modificadoras de aminoglucósidos generalmente están contenidos en plásmidos y elementos transponibles, aunque algunos pueden tener un origen cromosómico. Las enzimas se expresan de manera constitutiva, independientemente de que el antibiótico esté presente o no, y llevan a cabo una modificación covalente que conduce a una marcada disminución de la afinidad de unión del aminoglucósido con el ribosoma. Este proceso se produce durante el transporte del antibiótico hacia el interior de la célula. Según el tipo de modificación que producen, las enzimas se clasifican en tres grupos: acetiltransferasas (AAC), nucleotidiltransferasas (ANT), y fosfotransferasas (APH). Además, se puede hacer una subdivisión según la especificidad que presente el enzima para modificar una determinada región del fármaco, ya que pequeños cambios de aminoácidos en la secuencia proteica del enzima pueden implicar grandes diferencias en el sustrato (caracterización fenotípica). Esto está relacionado con la gran variabilidad de las resistencias a los aminoglucósidos a nivel mundial, debido al diferente predominio de los enzimas inactivantes como consecuencia de la presión selectiva ejercida por el uso de determinados aminoglucósidos.³³

Glucopéptidos

Este grupo de antibióticos está constituido fundamentalmente por la vancomicina y la teicoplanina, que son los únicos componentes que se utilizan actualmente en la práctica clínica. También existen otros glucopéptidos menos conocidos, como la avoparcina.

La vancomicina es un antibiótico que se aisló de *Streptomyces orientalis* a finales de los años cincuenta y a partir de entonces comenzó a utilizarse en el tratamiento de gérmenes Gram positivos; treinta años después aparecería la teicoplanina, que presenta una estructura y espectro muy similares. La avoparcina es un compuesto que todavía se utiliza en algunos países como promotor del crecimiento en producción animal ,

aunque su uso está prohibido en la Unión Europea desde hace años ya que se relacionó con la aparición de cepas resistentes de enterococos.²⁰

Los glucopéptidos son fármacos con un elevado peso molecular, lo que impide su paso a través de la pared de las bacterias Gram negativas, de forma que sólo resultan eficaces frente a infecciones causadas por gérmenes Gram positivos. Son los antibióticos de elección en el tratamiento de una gran variedad de cepas de bacterias Gram positivas multirresistentes, siendo el estafilococo dorado resistente a meticilina (SAMR) una de sus principales indicaciones. Son antibióticos con efecto bactericida frente a *Staphylococcus* spp. y el resto de cocos grampositivos, a excepción de *Enterococcus* spp., sobre los que ejercen un efecto bacteriostático.

Respecto a sus propiedades farmacocinéticas, presentan una escasa absorción oral por lo que se administran por vía parenteral, excepto en casos de infección intestinal grave por *Clostridium difficile*, en los que se utiliza vancomicina por vía oral. Aunque la vancomicina es el fármaco más utilizado del grupo, la teicoplanina tiene una vida media diez veces superior, lo que permite intervalos de administración mucho mayores, y además se puede administrar por vía intramuscular, mientras que la vancomicina sólo se administra por vía endovenosa.³⁶

Estructura y mecanismo de acción

Los glucopéptidos son moléculas complejas cuya estructura central es un heptapéptido. La vancomicina y la teicoplanina se diferencian por los aminoácidos en las posiciones 1 y 3, y en los residuos glucídicos fijados a los mismos.

Actúan inhibiendo la síntesis del componente principal de la pared bacteriana, el peptidoglucano. Se unen al extremo carboxílico terminal D-alanil-D-alanina del disacárido-pentapéptido precursor del peptidoglucano, de manera que impiden su transporte a través de la membrana citoplasmática, y por tanto la progresiva elongación de la cadena de peptidoglucano por parte de transpeptidasas y glucosiltransferasas. Los glucopéptidos actúan en el paso previo al de los betalactámicos, por lo que no presentan resistencias cruzadas con este grupo de antibióticos.³⁷

Mecanismos de resistencia

A pesar de su extendido uso, la vancomicina se utilizó durante más de tres décadas hasta que se reportaron los primeros indicios de resistencia a finales de 1980. Recientemente, se ha visto un aumento importante de cepas de enterococos resistentes a vancomicina, especialmente de cepas de *E. faecalis*, y también casos de SAMR resistente.

La resistencia a glucopéptidos está mediada por genes que determinan la producción de precursores de peptidoglucano modificados, de forma que disminuye notablemente la afinidad de unión del fármaco con su diana. Los precursores modificados van a presentar un extremo terminal D-Ala-D-Lactato o D-Ala-D-Serina, en lugar del D-Ala-D-Ala al que se unen habitualmente los glucopéptidos. Este es un mecanismo inducible en presencia del antibiótico.

Hasta ahora se han descrito diversos fenotipos de resistencia, correspondientes a distintos grupos de genes: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE* y *vanG*, siendo el fenotipo *vanA* el más frecuente, y el más estudiado. Determina un alto nivel de resistencia, tanto

a vancomicina como a teicoplanina. El fenotipo *vanB* es el segundo más frecuente, pero resulta clínicamente menos significativo que el *vanA*, y las cepas que lo poseen generalmente son sensibles a teicoplanina.³⁸

Los genes que codifican los fenotipos *vanA* y *vanB* se asocian a transposones y pueden encontrarse tanto en el cromosoma bacteriano como en plásmidos, lo que facilita su dispersión, mientras que el resto de operones sólo se han encontrado en el cromosoma bacteriano.

Hasta el momento se ha detectado resistencia a glucopéptidos en seis géneros bacterianos, algunos tan relevantes como *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* o *Erysipelothrix*; otros menos importantes desde el punto de vista clínico son *Pediococcus* y *Leuconostoc*.²⁰

Macrólidos

El primer macrólido descubierto fue la eritromicina, que se aisló en 1952 a partir de *Streptomyces erythreus*. Posteriormente se desarrollaron otros compuestos, bien a partir de distintas especies de *Streptomyces*, o bien como derivados sintéticos de la eritromicina. Los nuevos macrólidos se crearon con el objetivo de ampliar el espectro de actividad y mejorar las propiedades farmacocinéticas de la eritromicina, que presenta ciertas limitaciones, como una pobre penetración tisular y una baja biodisponibilidad oral, debida a su inestabilidad química en medios ácidos.²⁰

Los macrólidos se utilizan fundamentalmente en el tratamiento de infecciones causadas por gérmenes Gram positivos, tanto cocos como bacilos, y microorganismos de crecimiento intracelular (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp, etc). También presentan actividad frente a algunos gérmenes Gram negativos (*Campylobacter jejuni*, *Neisseria* spp, etc) y ciertos protozoos (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium*). No son eficaces frente a SAMR ni *Enterococcus* spp. y la mayoría de bacilos gramnegativos presentan resistencia intrínseca por la impermeabilidad de su pared.

Son antibióticos bacteriostáticos en la mayor parte de los casos, aunque en determinadas circunstancias pueden llegar a tener efecto bactericida, en función del microorganismo, la concentración alcanzada y el tiempo de exposición. Además de su actividad antimicrobiana, se ha visto que ejercen un efecto antiinflamatorio e inmunomodulador a nivel pulmonar, por lo que están indicados en ciertas enfermedades respiratorias.

Estructura

Su estructura química básica es un anillo lactónico de 14, 15 o 16 átomos de carbono al que se unen mediante enlaces glucosídicos azúcares neutros o básicos. Se clasifican según su el número de átomos del anillo:

14 átomos	15 átomos	16 átomos
Eritromicina	Azitromicina (azálido)	Diacetilmidecamicina
Claritromicina		Espiramicina
Roxitromicina		Josamicina
Telitromicina (cetólido)		

La sustitución de un azúcar en posición 3 por un grupo cetónico en los macrólidos con anillo de 14 átomos, dio lugar a los cetólidos, un nuevo grupo de antibióticos caracterizado por mantener la actividad contra la mayoría de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes* resistentes a macrólidos, y también porque no inducen resistencia en las cepas con resistencia inducible. La telitromicina es el único cetólido comercializado actualmente.³⁹

Mecanismo de acción

Inhiben la síntesis proteica al unirse de forma reversible con el ARN ribosómico 23S de la subunidad mayor de los ribosomas bacterianos 50S, impidiendo así la translocación del aminoacil-ARNt (ARN de transferencia) y la adecuada formación de las proteínas bacterianas.

Mecanismos de resistencia

Se han descrito tres mecanismos diferentes de resistencia adquirida a macrólidos:

1. Modificación de la diana por metilasas que actúan sobre el ARNr 23S.
2. Bombas de expulsión activa, codificadas por genes asociados a plásmidos. Afectan fundamentalmente a los macrólidos con anillos de 14 y 15 átomos de carbono.
3. Inactivación enzimática, por esterazas y fosfotransferasas, mecanismo de especial relevancia en enterobacterias.

El mecanismo de resistencia más importante son las metilasas, que van a modificar un residuo de adenina del ARNr 23S impidiendo así la unión del antibiótico. Estas metilasas están codificadas por una variedad de genes *erm*, que pueden encontrarse en plásmidos y transposones. La resistencia puede ser inducible, como sucede en la mayor parte de los casos, o constitutiva.

Esta modificación ribosómica no sólo altera la afinidad por los macrólidos, sino que también puede conducir a una resistencia cruzada con lincosamidas y estreptograminas del grupo B. Estos antibióticos tienen una estructura química diferente, pero comparten mecanismo de acción con los macrólidos y cierto espectro de actividad antibacteriana, así como mecanismos de resistencia.¹¹

Quinolonas

A diferencia de otros antibióticos que han sido aislados a partir de bacterias y otros microorganismos, las quinolonas son un grupo de agentes antimicrobianos sintéticos.

El primer compuesto del grupo que se descubrió fue el ácido nalidíxico (1962), cuya actividad antibacteriana fue un hallazgo casual durante el proceso de desarrollo de agentes antimaláricos. Desde entonces, se han desarrollado infinidad de nuevos compuestos a través de modificaciones en la estructura base y adición de radicales, lo que dio como resultado la aparición de las quinolonas de segunda, tercera y cuarta generación, que presentan mejores propiedades farmacocinéticas y un espectro de actividad mucho más amplio. Fue especialmente determinante la incorporación de un átomo de flúor en la posición 6, lo que dio lugar a las denominadas fluoroquinolonas, término que engloba todos los compuestos de la segunda y sucesivas generaciones.

Las quinolonas utilizadas actualmente son eficaces frente a una gran variedad de gérmenes Gram negativos (incluyendo *P. aeruginosa*), algunos Gram positivos, bacterias atípicas e incluso algún anaerobio.

Son fármacos bactericidas cuya actividad es concentración-dependiente. Actúan inhibiendo la síntesis del ADN.⁴⁰

Estructura y clasificación

Las quinolonas tienen una estructura base compuesta por dos anillos, con un nitrógeno en la posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3.

La primera quinolona, el ácido nalidíxico, presentaba una biodisponibilidad baja, una pobre distribución sistémica y un espectro de actividad reducido, por lo que su uso se limitó al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas.

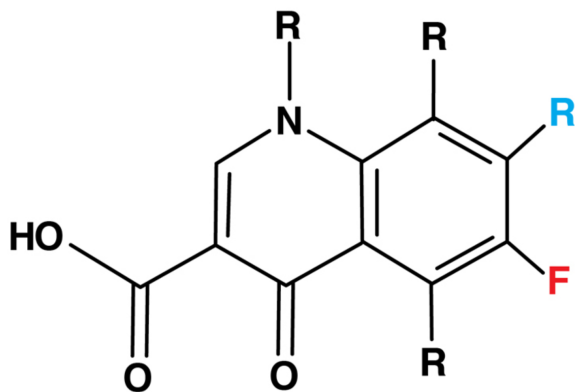


Figura 12. Estructura química básica de las quinolonas.⁴⁰

Con el objetivo de aumentar su utilidad, se incorpora la piperazina en la posición 7 del núcleo básico, dando lugar al ácido pipemídico, que gracias al agregado mostraba ventajas farmacocinéticas y una mejora sustancial de su espectro. Pero fue en la década de los 80 cuando apareció la primera molécula que incluía a la vez piperazina en la posición 7 y un átomo de flúor en la posición 6: el norfloxacin (segunda generación de quinolonas). La potencia y el espectro aumentaron de forma radical al añadir el átomo de flúor, y este descubrimiento marcó un antes y un después en el desarrollo de esta familia de antimicrobianos. Las quinolonas sintetizadas a partir de ese momento han sido 6-fluoroderivados.⁴¹

Según el momento en que aparecieron y el espectro bacteriano que presentan, las quinolonas se clasifican en cuatro generaciones:

- Primera generación: ácido nalidíxico, ácido pipemídico, ácido piromídico, etc.
- Segunda generación: norfloxacin, ciprofloxacino, oxofloxacino, etc.
- Tercera generación: levofloxacino, etc.
- Cuarta generación: moxifloxacino, gatifloxacino, etc.

Mecanismo de acción

Las quinolonas causan muerte celular mediante fragmentación del cromosoma bacteriano. La diana de las quinolonas son dos enzimas fundamentales en el proceso de síntesis del ADN: la ADN girasa y la topoisomerasa IV. Estas enzimas, aunque esenciales para la supervivencia celular, tienen la capacidad de fragmentar el cromosoma, y esta propiedad es lo que van a potenciar las quinolonas a través de la interacción con aminoácidos de su centro activo.

La ADN girasa es una proteína tetramérica compuesta por dos subunidades A y dos subunidades B, codificadas respectivamente por los genes *gyrA* y *gyrB*. A su vez, la topoisomerasa IV es también un tetrámero constituido por dos subunidades A y dos subunidades B, codificadas por los genes *parC* y *parE*. Mutaciones en estos genes conducen al desarrollo de resistencia a las quinolonas.

Se ha visto que las quinolonas actúan de forma más específica sobre la ADN girasa en las bacterias Gram negativas, mientras que el blanco principal en las bacterias Gram positivas es la topoisomerasa IV. Algunas de las quinolonas con amplio espectro de actividad y mayor potencia parecen tener como blanco ambas enzimas.

Mecanismo de resistencia

Las quinolonas son uno de los grupos de antibacterianos más prescritos a nivel global, y se utilizan para tratar una gran variedad de infecciones. Debido a su extendido uso el número de cepas bacterianas resistentes aumenta año tras año y, como sucede con el resto de agentes antimicrobianos, el alarmante crecimiento de bacterias resistentes pone en juego su utilidad clínica en un futuro próximo.

El mecanismo más importante y prevalente de resistencia a quinolonas es la modificación de sus dianas. Mutaciones en los genes que codifican alguna de las subunidades de la ADN girasa o de la topoisomerasa IV conducen a cambios en el sitio de unión de las quinolonas en el complejo girasa-ADN, lo que determina una menor afinidad de la quinolona por este complejo. Las mutaciones se producen en una región específica de los genes que se denomina QRDR (*quinolone resistance-determining region*, región determinante de resistencia a quinolonas).

En general, el mecanismo de resistencia más prevalente en Gram negativos son las mutaciones en *gyrA*, gen que codifica la subunidad A de la girasa, mientras que en Gram positivos, lo más común son las mutaciones en el gen *parC*, que codifica la subunidad C de la topoisomerasa IV. Las mutaciones que afectan a la subunidad B de la ADN-girasa y a la subunidad E de la topoisomerasa IV son mucho menos frecuentes y determinan resistencia de menor nivel.⁴²

Además de la modificación de las dianas, se han descrito otras dos formas de resistencia cromosómica, ambas relacionadas con una disminución de la permeabilidad de la célula al antibiótico. Por una parte, se han descrito cepas de bacterias Gram negativas que expresan un número mucho menor de porinas en su membrana externa, lo que determina una resistencia de bajo nivel a quinolonas; por otra parte, se ha visto que la sobreexpresión de bombas de expulsión activa puede causar resistencia a quinolonas, tanto en Gram positivos como en Gram negativos.

Aunque inicialmente se pensó que la resistencia a quinolonas se limitaba a los mecanismos descritos a nivel cromosómico, posteriormente se vio que también había formas de resistencia asociadas a plásmidos y, por tanto, fácilmente transferibles. Se han descrito tres tipos de genes:

- genes *qnr*, que codifican una proteína que protege a la girasa y a la topoisomerasa IV de la acción de las quinolonas. Hasta el momento, se han identificado claramente cinco familias de genes *qnr*: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* y *qnrS*, aunque recientemente se ha añadido una sexta, *qnrAS*.²⁰
- gen *aac(6')-Ib-cr*, que codifica una variante del enzima aminoglucósido acetiltransferasa, denominada AAC(6')-Ib-cr. Ésta se diferencia de la enzima original AAC(6')-Ib por la presencia de dos mutaciones puntuales en la misma. Este lleva a cabo una N-acetilación en el sustituto de piperazinil en algunas fluoroquinolonas (incluyendo ciprofloxacino) y reduciendo así su actividad antimicrobiana.
- gen *qepA*, que codifica una bomba de eflujo, la cual puede expulsar al exterior celular fluoroquinolonas hidrofílicas como ciprofloxacino y enrofloxacin.⁴²

Tetraciclinas

Las tetraciclinas son una familia de antibióticos constituida por compuestos naturales (oxitetraciclina, tetraciclina) y semisintéticos (doxiciclina, minociclina, tigeciclina), obtenidos a partir de diferentes especies de *Streptomyces* spp.

La primera tetraciclina que se descubrió fue la cloro-tetraciclina en 1948. A partir de entonces, comenzaron a desarrollarse nuevos derivados y en 1967 se comercializa la doxiciclina, primera tetraciclina de segunda generación, que es el agente del grupo más utilizado a nivel mundial en la actualidad. La eficacia antimicrobiana que presentaban las tetraciclinas y su buena tolerancia hicieron que inicialmente fueran muy utilizadas en la profilaxis y el tratamiento de infecciones en humanos, y también como factores promotores del crecimiento en ganadería. Esto desencadenó la aparición de resistencias en muchas especies bacterianas, lo que sumado a la aparición de compuestos más eficaces en otras familias antibióticas, ha hecho que su uso se haya ido reduciendo de forma progresiva, hasta quedar limitado al tratamiento de algunos gérmenes intracelulares. Sin embargo, la aparición de las glicil-ciclinas parece estar modificando esta tendencia.

Las glicilciclinas son derivados sintéticos de las tetraciclinas, que presentan un mayor espectro de actividad y mejores propiedades farmacocinéticas. La tigeciclina fue el primer agente de esta familia que se aprobó para uso clínico, y se comercializa desde 2005.

Las tetraciclinas son agentes bacteriostáticos que actúan uniéndose de manera reversible a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, inhibiendo así la síntesis proteica. Presentan un amplio espectro de actividad, que incluye gérmenes Gram positivos, gérmenes gramnegativos, y bacterias celulares atípicas, como *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Coxiella burnetii*, *Treponema* spp., *Chlamydia* spp. o *Mycoplasma pneumoniae*, así como algunos parásitos, como *Plasmodium falciparum*.

Al igual que las tetraciclinas, la tigeciclina actúa inhibiendo la síntesis proteica uniéndose a la subunidad ribosómica 30S, pero con una mayor afinidad por la misma; además causa alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplasmática de la célula. Tiene un mayor espectro de acción (que incluye SAMR y VRE), y ha demostrado eficacia frente a múltiples gérmenes grampositivos y gramnegativos resistentes a tetraciclinas.

Aunque en general son fármacos bien tolerados, se ha visto que atraviesan la barrera placentaria y producen efectos teratógenos, por lo que no se pueden utilizar en embarazadas. También están contraindicados durante la lactancia, en pacientes con insuficiencia renal avanzada, y en niños.

Las tetraciclinas forman complejos quelantes con distintos cationes, como calcio, magnesio o hierro, dificultando su absorción.

Estructura y clasificación

Como base estructural, las tetraciclinas poseen un núcleo de estructura tetracíclica lineal compuesto por cuatro anillos fusionados, a los cuales se unen diversos grupos funcionales. Las glicil-ciclinas son análogos semisintéticos que se obtienen a través de modificaciones en la posición 9 del anillo tetracíclico de compuestos de las generaciones anteriores. La tigeciclina es un derivado de la minociclina.

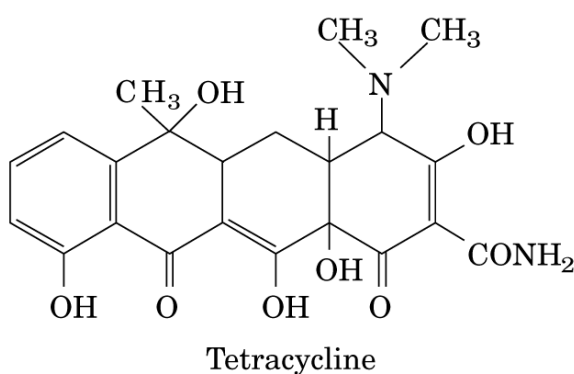


Figura 13. Estructura de la tetraciclina. (43)

Las tetraciclinas se clasifican en tres generaciones en función del orden de descubrimiento, las propiedades farmacocinéticas y el espectro de actividad.

La primera generación incluye las tetraciclinas más antiguas y con peor absorción, de este grupo en la actualidad sólo se siguen utilizando en la práctica clínica oxitetraciclina y tetraciclina. Las de segunda generación, doxiciclina y minociclina, son más liposolubles, presentan una mejor absorción y tienen la ventaja de que pueden administrarse por vía intravenosa, además de por vía oral. Las glicil-ciclinas se incluyen

en la tercera generación, junto con las aminometilciclinas, que se encuentran en fase de desarrollo.⁴⁴

Generación	Nombre genérico	
Primera (1948 –1963)	Clortetraciclina	Producidas por 2 diferentes especies de <i>Streptomyces</i> descubiertas a finales de la década de 1940
	Oxitetraciclina	Obtenidas a partir de <i>Streptomyces</i> en la década de 1950
	Tetraciclina	Derivados semisintéticos caracterizados por su hidrosolubilidad
	Demeclociclina	
	Rolitetraciclina	
	Limeciclina	
	Metaciclina	
Segunda (1965 –1972)	Doxiciclina	Derivados semisintéticos de las primeras
	Minociclina	
Tercera (1993–)	Glicilciclinas (tigeciclina)	Derivado semisintético de minociclina
	Aminometilciclinas (PTK 7906)	En desarrollo experimental

Figura 14. Principales componentes del grupo de las tetraciclinas.⁴³

Mecanismo de acción

Las tetraciclinas atraviesan la pared bacteriana mediante dos mecanismos: aquellas que son más liposolubles y tienen un menor peso molecular penetran por difusión pasiva, mientras que las que presentan menor liposolubilidad y un mayor tamaño entran mediante un sistema de transporte activo dependiente de energía. Una vez en el citoplasma, las tetraciclinas se unen de manera reversible a la subunidad ribosómica 30S, de manera que el complejo ARNt-aminoacyl no puede unirse al complejo ribosoma-ARNm, impidiendo así la elongación de la cadena polipeptídica y, por tanto, la síntesis de proteínas bacterianas.⁴⁵

Mecanismos de resistencia

Los principales mecanismos de resistencia a tetraciclinas son dos: la expulsión activa y las proteínas de protección ribosomales. En general, estas formas de resistencia se deben a la adquisición de nuevos genes, que frecuentemente se encuentran codificados en plásmidos y transposones, siendo rara la aparición de resistencia por mutaciones cromosómicas. A diferencia de otros grupos de antibióticos, la resistencia a tetraciclinas secundaria a inactivación enzimática del fármaco es muy poco frecuente.

Las *bombas de eflujo activo* son el principal mecanismo de resistencia a tetraciclinas; disminuyen la concentración intracelular del antibiótico, impidiendo así que se alcance una concentración mínima eficaz. Algunos genes *tet* codifican las proteínas de membrana (proteína Tet) que actúan como transportadores activos, de forma que expulsan al exterior celular complejos tetraciclina-catión a cambio de introducir protones (H⁺). El proceso está regulado por dos genes: uno codifica la bomba de

expulsión activa, y el otro una proteína represora, por lo que éste es un mecanismo de resistencia que depende de la presencia de la tetraciclina.

Las *proteínas de protección ribosomales* son unas proteínas citoplasmáticas que se unen a la subunidad 30S del ribosoma en el sitio de unión de las tetraciclinas, de forma que impiden la acción de las mismas, y así permiten que se lleve a cabo la síntesis proteica a pesar de la presencia del antibiótico.⁴⁶

La resistencia a tetraciclinas se debe en la mayor parte de los microorganismos resistentes a la adquisición de genes *tet*, aunque también se han visto formas de resistencia asociadas a genes *otr* (resistencia a oxitetraciclina) y *tcr*. Hasta el momento se han descrito más de cuarenta determinantes de resistencia diferentes, de los cuales la gran mayoría son genes *tet* codificantes de bombas de expulsión.

En general, la presencia de resistencia a una tetraciclina implica resistencia al resto de agentes del grupo, sin embargo, la actividad de la tigeciclina no se ve afectada por los dos mecanismos de resistencia principales, por lo que se puede utilizar en el tratamiento de infecciones causadas por organismos resistentes a tetraciclinas.²⁰

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V. Antimicrobial Resistance: A Global Emerging Threat to Public Health Systems. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;8398 (November):00–00.
2. Sabín R. Los antibióticos [Internet]. [cited 2017 Feb 24]. Available from: <http://www.monografias.com/trabajos10/antibi/antibi.shtml>
3. Gómez-Esteban P. La teoría microbiana de las enfermedades (I) [Internet]. 2013. Available from: <http://eltamiz.com/2013/12/19/teoria-microbiana-enfermedad/>
4. Bushak L. A brief history of antibiotic resistance [Internet]. 2017. Available from: <http://www.medicaldaily.com/antibiotic-resistance-history-373773>
5. Song YG. The History of Antimicrobial Drug Development and the Current Situation. *Infect Chemother*. 2012;44(4):263.
6. (Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos (RAM) [Internet]. 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
7. Organización Mundial de la Salud (OMS). Proyecto de plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos . [Internet]. Oficina de prensa. 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/%5Cn>
8. Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Vol. 2. 2001.
9. World Health Organization - WHO. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria To Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics [Internet]. 2017. Available from: <http://www.who.int/medicines/publications/>
10. Llor C, Bjerrum L. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Ther Adv Drug Saf* [Internet]. 2014;5(6):229–41. Available from: <http://taw.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/2042098614554919>
11. Vignoli R, Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. En: *Temas de bacteriología y virología médica*. 1st ed. Montevideo: Oficina del libro FEFMUR; 2000. p. 649–662.
12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 12th ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2009. p 178-186.
13. Arber W. Horizontal Gene Transfer among Bacteria and its Role in Biological Evolution. *Life*. 2014;4(2):217–224.

14. Cabello RR. Microbiología y Parasitología humanas. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3rd ed. Editorial Médica Panamericana; 2007. p 659-667.
15. Lorenz MG, Wackernagel W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol Rev.* 1994;58(3):563–602.
16. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT et al. Bacterial conjugation. In: *An Introduction to Genetic Analysis* [Internet]. 7th ed. New York: W. H. Freeman; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21942/>
17. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT et al. Transduction. In: *An Introduction to Genetic Analysis* [Internet]. 7th ed. New York: W. H. Freeman; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21760/>
18. Da Silva G, Domingues S. Insights on the Horizontal Gene Transfer of Carbapenemase Determinants in the Opportunistic Pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.* 2016;4(3):29.
19. Morgan K. Plasmids: origin of replication [Internet]. Addgeneblog. 2014 [cited 2017 Apr 20]. Available from: <http://blog.addgene.org/plasmid-101-origin-of-replication>
20. Van Hoek AHAM, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJM. Acquired antibiotic resistance genes: An overview. *Front Microbiol.* 2011;2:1–27.
21. Clowes, Royston C. Molecular structure of bacterial plasmids. *Bacteriol Rev* [Internet]. 1972;36(3):361–405. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/329601>
22. Mayer G. Bacteriology. Exchange of genetic information. [Internet]. Microbiology and Immunology online. [cited 2017 Apr 20]. Available from: http://www.microbiologybook.org/mayer/genetic_ex.htm
23. Génétique. Plasmides. [Internet]. [cited 2017 May 9]. Available from: http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/genes_et_genomes/vecteurs.html
24. Anne O. Summers. Genetic Linkage and Horizontal Gene Transfer, the Roots of the Antibiotic Multi-Resistance Problem. *Anim Biotechnol.* 2006;17(2):125–135.
25. Pray LA. Transposons: The Jumping Genes. *Nature Education* [Internet]. 2008;1(1):204. Available from: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/transposons-the-jumping-genes-518>
26. Transposones en bacterias [Internet]. La mutación. [cited 2017 May 9]. Available from: <https://sites.google.com/site/lamutacion2/transposones-en-bacterias>
27. Gillings MR. Integrins: Past, Present, and Future. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(2):257–277.
28. Peleg AY et al. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N*

- Engl J Med. 2010;362:1804–1813.
29. Marín M, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2003;21(1):42–54.
 30. Suárez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009;116–129.
 31. Calderwood SB. Beta-lactam antibiotics: Mechanisms of action and resistance and adverse effects. *UptoDate*. 2016.
 32. Clavo Martín S, Martín Cillero T, Liso Rubio FJ. Tratamiento de las infecciones producidas por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) [Internet]. Formación continuada para farmaceúticos de hospital. 2012. Available from: <https://microred.files.wordpress.com/2012/08/beta-lactamasas-para-leer-e-interpretar.pdf>
 33. Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: Activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(4):727–737.
 34. Palomino J, Pachón J. Aminoglucósidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21(2):105–115.
 35. Richard H Drew. Aminoglycosides [Internet]. *UptoDate*. 2016 [cited 2017 Apr 24]. Available from: <http://www.uptodate.com/>
 36. Pigrau C. Oxazolidinonas y glucopéptidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2003;513:1818–1819.
 37. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009;27(1):44–52.
 38. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(10):1221–1236.
 39. Cobos-Trigueros N, Ateka O, Pitart C, Vila J. Macrólidos y cetólidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009;27(7):412–418.
 40. Alós J-I. Quinolonas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2003;21(5):261–268.
 41. Mella S, Acuña G, Muñoz M, Perez C. Quinolonas : Aspectos generales sobre su estructura y clasificación. *Revista Chilena de Infectología*. 2000;17:53–66.
 42. Álvarez-Hernández Diego-Abelardo, Garza-Mayén Gilda-Sofía V-LR. Quinolones. Nowadays perspectives and mechanisms of resistance. *Revista Chilena de Infectología*. 2015;32(5):499–504.
 43. Kwiatkowska B, Maslinska M, Przygodzka M, Dmowska-Chalaba J, Dabrowska J, Sikorska-Siudek K. Immune system as a new therapeutic target for antibiotics. *Adv Biosci Biotechnol*. 2013;4(4):91–101.

44. Vicente D, Pérez-Trallero E. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28(2):122–130.
45. May B. Tetracyclines [Internet]. UptoDate. 2016 [cited 2017 May 17]. Available from: <http://www.uptodate.com/>
46. Martí S, Fernández-Cuenca F, Pascual Á, Ribera A, Rodríguez-Baño J, Bou G, et al. Prevalencia de los genes tetA y tetB como mecanismo de resistencia a tetraciclina y minociclina en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2006;24(2):77–80.