



ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA

Discurso de ingreso como Académico de Número

**LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN BACILOS GRAM-NEGATIVOS.
UN FENÓMENO QUE AMENAZA
LA MEDICINA A CORTO PLAZO**

Ilmo. Sr. Dr. Germán Bou Arévalo

Discurso de contestación

Ilma. Sra. Dra. Alicia Estévez Toranzo

Académica de Número



Santiago de Compostela
19 de diciembre de 2018

© Germán Bou Arévalo y Academia de Farmacia de Galicia.

Imprime y edita: NINO-Centro de Impresión Digital.
Rosalía de Castro, 58.
Santiago de Compostela.

Maquetación: Miguel A. Suárez.

ISBN: 978-84-948717-8-8.

Depósito Legal: C 2316-2018.

A mi familia

A mis padres:

In memoriam

TABLA DE CONTENIDOS

Prólogo	7
1. Problemática general	11
2. Mecanismos de resistencia emergentes y vías de diseminación	17
3. Amenazas globales en bacilos Gram-negativos. Aspectos clínicos	27
4. Epidemiología nacional e internacional.....	41
5. La imperiosa necesidad de nuevo antibióticos en clínica: ¿Qué hay de nuevo?	45
6. Nuevos abordajes terapéuticos y/o biotecnológicos para luchar contra las bacterias resistentes a los antibióticos	55
Referencias.....	65
Contestación.....	75

PRÓLOGO

Excelentísimo Sr. Presidente de la Academia de Farmacia de Galicia

Excelentísimas Autoridades

Ilustrísimos Sres. Académicos

Señoras, y Señores, compañeros

En primer lugar quisiera agradecer a la Academia de Farmacia de Galicia, el haberme elegido como nuevo Académico Numerario. En especial a los Profesores Dres. José Miñones Trillo, Dr. Jesús Gestal Otero y Dr. Ángel Carracedo Álvarez por haber avalado institucionalmente mi candidatura, y a todos los Académicos por el apoyo unánime recibido. En concreto quisiera agradecer a la Profesora Alicia Estévez Toranzo, por haber redactado el Discurso de Contestación y también al Profesor Alejandro Pazos Sierra.

También a los aquí presentes, familiares, amigos, compañeros, colaboradores, por compartir este día conmigo hoy, juntos en un acto que mantiene la solemnidad y la belleza de las antiguas tradiciones académicas, pero que vive en el presente y mira hacia el futuro. Esa mirada al futuro desea una mejor sociedad para todos, y por ello, el acto de hoy, como el de todos los Académicos que me han precedido es un motivo de esperanza, esperanza en el propio desempeño profesional así como en la mejora de la sociedad en conjunto, y por tanto de la propia condición humana.

Tengo también el honor de suceder, en la medalla número 14 de la Academia de Farmacia de Galicia, al Académico Profesor Jesús Angel Simal Lozano, Catedrático de Bromatología. Toxicología, y Análisis Químico Aplicado en la Facultad de Farmacia de la USC, con una extensa y brillante trayectoria investigadora y poseedor de la insignia de oro de la propia Universidad. Es un gran honor para mí, suceder al Prof. Simal.

El tema central de mi Discurso de Ingreso en la Academia, se centra en la resistencia a los antimicrobianos en las bacterias Gram-negativas. Todos aquellos que trabajamos en un hospital, o estamos relacionados de manera cercana con el sector salud, entendemos esta problemática. Por determinadas razones, el desarrollo de nuevos fármacos contra los microorganismos causantes de infecciones humanas, no ha caminado de manera simultánea a la propia evolución bacteriana y por tanto al fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos. Así, en la actualidad, y en algunos casos, las tasas de resistencia a los antibióticos “clásicos” han alcanzado niveles muy alarmantes. Ya no hablamos únicamente de microorganismos multirresistentes (MDR), sino que también hemos introducido los términos, extremadamente resistentes (XDR), o incluso panresistentes (PDR). Si bien, y de manera reciente, la industria farmacéutica ha empezado a realizar un esfuerzo considerable, en la búsqueda de nuevas moléculas, la previsión a medio plazo no es muy esperanzadora. Así, algunos informes vaticinan, que el número de personas fallecidas por infecciones causadas por bacterias resistentes superará en 30 años al de decesos por accidente de tráfico o al propio cáncer. Como detalla la Organización Mundial de la Salud, en su primera página del “Informe sobre la Resistencia a los Antimicrobianos” del año 2014: “ Una era post-antibiótica, en la cual, infecciones comunes y

lesiones leves puedan matar, lejos de ser una fantasía apocalíptica, va ser en cambio una posibilidad muy real para el siglo XXI”.

Ante ello, se necesitan de manera urgente soluciones reales y globales, y que impliquen a todos los actores de la propia sociedad. Parte de esta problemática es discutida durante mi discurso de ingreso en la Academia.

No quisiera terminar este prólogo sin agradecer a los Profesores Fernando Baquero Mochales y Jesús Martínez-Beltrán por haberme iniciado hace ya más de 20 años, durante mi etapa de formación clínica como residente en Microbiología en el Hospital Ramón y Cajal de Madrid, en el apasionante mundo de los antibióticos y en el estudio de sus mecanismos de resistencia.

También agradecer a mis colaboradores asistenciales, quienes gracias a su trabajo diario, permiten mejorar la vida de nuestros pacientes en nuestra Área asistencial. Por supuesto, a mi equipo de investigación, por su trabajo duro y perseverante durante años, y porque gracias a ellos, el día a día es más ilusionante.

Por último, y no por menos, a mi familia; a mi mujer Reyes, a mis hijas Victoria e Irene, y a mi madre, porque gracias a ellas, todas las cosas SON.

A todos, GRACIAS.

1. PROBLEMÁTICA GENERAL

La resistencia a antibióticos (RA), sobre todo la resistencia combinada a múltiples familias de fármacos, es una prioridad de primer orden para los enfermos, la comunidad, los profesionales sanitarios y la salud pública. En los últimos años la RA ha aumentado manifiestamente hasta convertirse en una emergencia sanitaria según todas las agencias internacionales de salud.

La RA pone en peligro o en riesgo, grandes logros históricos. En el siglo XX, las muertes por enfermedades infecciosas descendieron debido a la combinación de una mejora en el desarrollo y en los sistemas de salud, a la mejora en los estándares de vida, al saneamiento y mejoras en la higiene de la sociedad, al uso de agua potable, a la implementación de vacunas en la población y de manera importante al uso de medicamentos más efectivos como fueron los antibióticos. En esta línea, usando el ejemplo de Estados Unidos, la tasa de mortalidad por enfermedades infecciosas disminuyó desde 1.000/100.000 habitantes por año a principios del siglo XX a menos de 50 habitantes/100.000 habitantes y año en la década de los 80 (ONU, 2016) (**Figura 1**). Dentro de este incremento en la mejora de la supervivencia a las enfermedades infecciosas, es absolutamente cierto que los antibióticos tuvieron un alto impacto. En este sentido, es notable como la penicilina cambió el pronóstico en la supervivencia de los pacientes con neumonía y bacteriemia desde un 10% al 90% tras el uso clínico de la misma (Austrian y col., 1964) (**Figura 2**). Esto generó sin duda, un ambiente de optimismo exacerbado respecto a las propiedades “casi” milagrosas de estos fármacos. No obstante, en aquel momento muy posiblemente no se

tuvo en cuenta la capacidad de adaptación y evolución de los propios microorganismos, y en especial las bacterias. Cabe destacar, la personalidad visionaria del propio Alexander Fleming quien en su discurso de recepción del Premio Nobel en 1945 (Fleming A, 1945), mencionó el peligro de usar la penicilina a dosis bajas o inapropiadas favoreciendo así pues la aparición de bacterias resistentes al antibiótico.

Fig. 1. Tasas de mortalidad por enfermedades infecciosas (patrón USA) a lo largo del siglo XX. Adaptado de la ref. ONU, 2016.

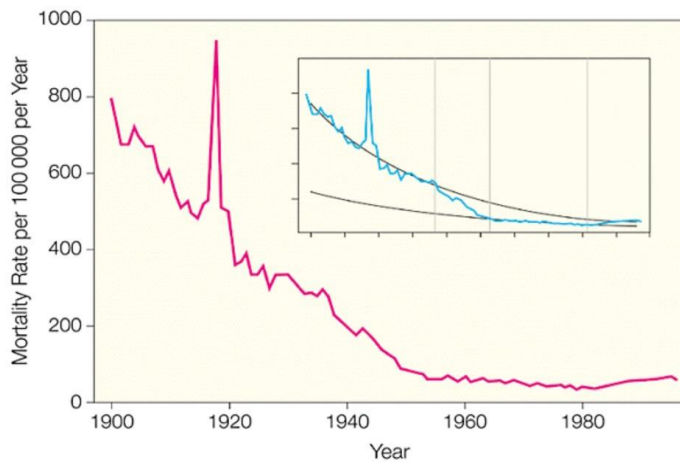
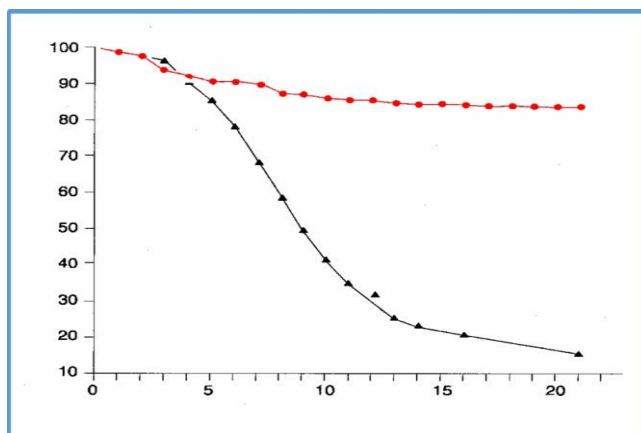
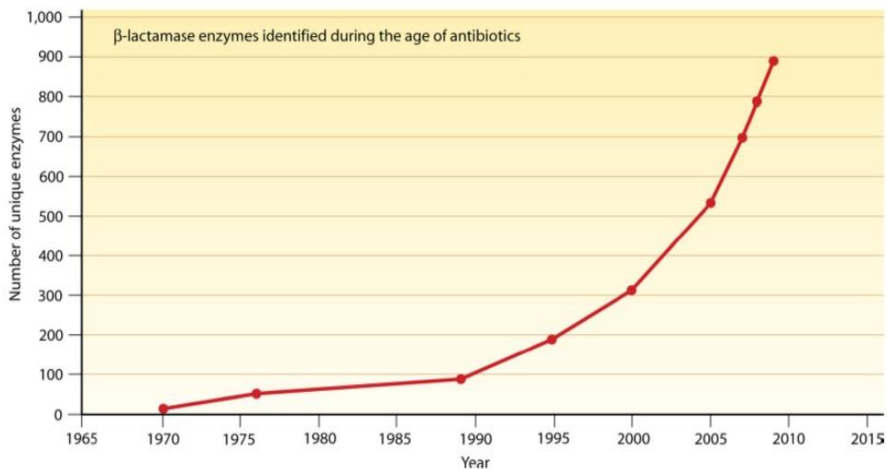


Fig. 2. Porcentajes de supervivencia en pacientes con neumonía y bacteriemia tratados (rojo) o no (negro) con penicilina al inicio de su uso clínico. Adaptado de la ref. Austrian y col., 1964.



De esta manera, la aparición de resistencias y su incremento ha sido paralelo al uso de los antibióticos y su uso en clínica. En la actualidad no solo el uso de antimicrobianos en clínica humana, sino también en salud animal, son responsables en gran parte del fenómeno de la RA. En definitiva el uso de los mismos, independientemente de la causa, razón o ecosistema implicado es sin duda un elemento favorecedor de la génesis, persistencia e incremento de bacterias resistentes a los antibióticos. Valga como ejemplo la **Figura 3**. El número de β -lactamasas identificadas tras la introducción de los primeros β -lactámicos se incrementa de manera notable y simultánea con el uso masivo de estos antibióticos (Davies J, Davies D, 2010). Es este un claro ejemplo de evolución bacteriana en respuesta a un factor desencadenante. Una especie de fenómeno causa-efecto.

Fig. 3. Identificación de nuevas β -lactamasas tras la introducción de los β -lactámicos. Adaptado de la ref. Davies J, Davies D, 2010.



La cuestión es: ¿Por qué la crisis de la resistencia a los antibióticos: Ahora?

Distintas causas podrían ser atribuidas:

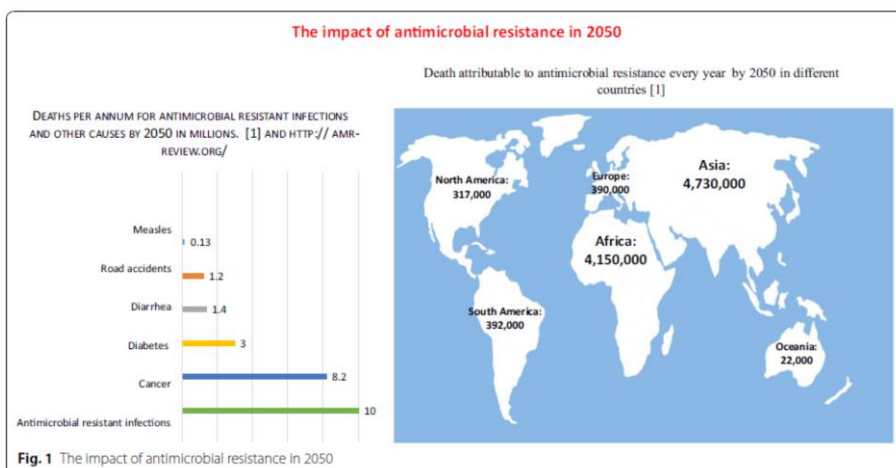
- Causas relativas a los microorganismos: rápida evolución como ya se ha comentado antes.
- Causas humanas: población humana y sobre uso de antibióticos
- Uso clínico de los antibióticos: sobre prescripción y cursos de tratamientos extensos.
- Percepción y comportamiento humano: almacenamiento de los mismos y adquisición sin prescripción
- Aplicaciones excesivas en la agricultura y ganadería, más del 50% del uso mundial de antimicrobianos es para uso animal, y se estima que solo un 20% con fines terapéuticos, siendo el 80% restante como profiláctico de infecciones.
- Presiones comerciales por parte de las compañías.
- Reticencia a la vacunación

Este es, pues, un tema con un gran impacto en la salud de la población. Como ha establecido recientemente el informe O'Neill (O'Neill J, 2016) (**Figura 4**), se estima en 10 millones de muertes a lo largo del mundo atribuibles a la RA en 2050. Este impacto poblacional tendrá sin duda un gran impacto económico, y se cree, según datos del Banco Mundial (Septiembre del 2016) que la pérdida en el PIB puede oscilar entre el 1,1 y el 3,8%, siendo mayor del 5% en países con bajos ingresos, pudiendo llevar a la pobreza a 28 millones de personas.

Es importante el cambio conceptual en la RA a partir de los conocimientos generados, y en la actualidad el tema de la resistencia a los antibióticos ha evolucionado a un punto de vista más holístico, integrado, multisectorial, con un enfoque “Una Salud”. De hecho organizaciones internacionales con distintos

objetivos, tal y como la FAO, la OIE y la OMS, han aunado esfuerzos y han firmado un acuerdo tripartito para establecer prioridades incluyendo entre los objetivos prioritarios, el tema de la resistencia a los antimicrobianos.

Fig. 4. Muertes estimadas a consecuencia de la resistencia a los antimicrobianos en 2050. Comparativo con otras causas o enfermedades. Adaptado de la ref. O'Neill J, 2016.



Otro dato que demuestra la honda preocupación que genera este problema es la declaración del 21 de septiembre de 2016 de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), que insta a los 193 países alineados en este organismo a una lucha común, global y coordinada frente a este grave problema (ONU-Asamblea general-, 2016). La declaración de la ONU ha estado precedida por numerosas iniciativas, tanto de organismos internacionales públicos como privados, y de planes estratégicos, entre los que ha destacado recientemente el de los gobiernos de Estados Unidos y de Reino Unido .

Destacar también el pasado 3 de mayo del 2017 en Nueva York, la primera reunión interagencial del grupo de coordinación en RA, que englobó a 27 organizaciones y expertos. Algunas de las conclusiones que se obtuvieron se detallan a continuación:

- Reconocimiento de que la RA es compleja y exige un enfoque multisectorial, y un Marco para las intervenciones
- El vínculo entre la RA y el Plan de Acción Mundial con los objetivos de desarrollo sostenible.
- La necesidad de mejores datos, pero también actuar sobre lo que ya se conoce.
- El papel del medio ambiente en la aparición y propagación de la RA.
- La necesidad de investigación y desarrollo relacionada con la RA.
- Educación para profesionales relevantes y público en general.
- Participación de la comunidad.

En España, la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) ha desarrollado un “Plan Estratégico y de Acción para Reducir el Riesgo de Selección y Diseminación de Resistencia a los Antibióticos”, que plantea numerosas acciones multidisciplinarios con una visión global que atiende tanto la salud humana como animal. En todos estos planes y recomendaciones, y como una de las primeras acciones para posteriormente establecer medidas de actuación, se destaca la necesidad de realizar estudios de vigilancia epidemiológica que analicen y sigan la evolución de las tasas de resistencia ante problemas ya establecidos y que permitan detectar la emergencia de nuevos mecanismos que puedan agravar más la situación actual.

Ante este panorama, es evidente que se necesitan soluciones para la implementación e integración de medidas coordinadas que impliquen a todos los profesionales claves de la sanidad tal y como infectólogos, intensivistas, especialistas en medicina de urgencias, farmacéuticos, y por supuesto microbiólogos clínicos entre otros.

2. MECANISMOS DE RESISTENCIA EMERGENTES Y VÍAS DE DISEMINACIÓN

Existe un amplio número de mecanismos de resistencia a antimicrobianos, cuyo análisis detallado excede sin duda el objetivo del presente discurso de ingreso, por lo que a continuación solo se expondrán aquellos que han adquirido una importancia capital en los últimos años y que se están incrementando paulatinamente:

- (i) Enterobacterias y la resistencia a los antibióticos β -lactámicos carbapenémicos debido a la producción de enzimas β -lactamasas del tipo carbapenemasas (EPC-Enterobacterias Productoras Carbapenemasas). El principal mecanismo de resistencia a los antibióticos β -lactámicos en enterobacterias es el enzimático, debido a la producción de β -lactamasas. Las β -lactamasas que por su perfil hidrolítico y prevalencia han tenido una mayor relevancia clínica en la primera década del siglo XXI son las que generan resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima), a los antibióticos monobactámicos (aztreonam), y a las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima), como las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y las β -lactamasas del tipo AmpC; en ambos casos los antibióticos carbapenémicos, como son el imipenem, el meropenem, el doripenem y el ertapenem, mantienen su actividad (Queenan AM and Bush K, 2007).

Sin embargo, durante los últimos años se ha producido la aparición y dispersión de enterobacterias productoras de enzimas que

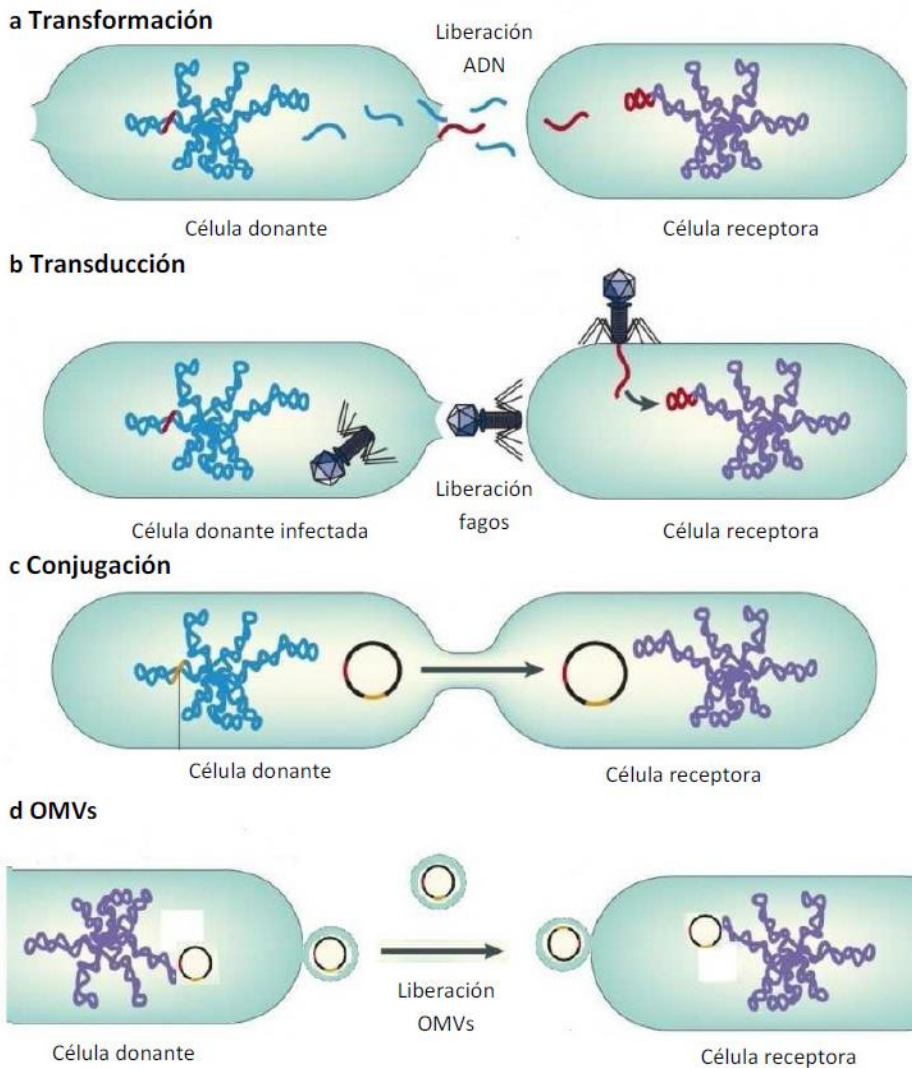
confieren resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, incluyendo los antibióticos carbapenémicos, lo cual limita de manera importante el arsenal terapéutico frente a estas bacterias. Estas enzimas, denominadas genéricamente carbapenemasas, pertenecen en su mayoría a 3 clases diferentes, según la clasificación molecular de Ambler (Ambler RP,1980):

- a) Clase A, principalmente enzimas del tipo KPC (Klebsiella-producing carbapenemase).
- b) Clase B o metalo- β -lactamasas (MBL) dependientes de zinc, principalmente enzimas del tipo VIM, IMP y NDM.
- c) Clase D o serín-carbapenemasas (principalmente OXA-48 y sus variantes).

En 2005, Walsh et al. (Walsh T, 2005) publicaron una revisión titulada Metallo- β -lactamasas: The quiet before the storm?, alertando del grave problema de salud pública que se generaría si las carbapenemasas, muy infrecuentes en aquel momento, se diseminaran. Desde entonces, las enterobacterias productoras de estas enzimas se han convertido en un problema clínico y de salud pública emergente, en continua evolución y con una alta velocidad de diseminación intra e interhospitalaria, de difícil control y tratamiento.

Este incremento se debe principalmente a 2 mecanismos de dispersión, en muchas ocasiones coexistentes: la adquisición horizontal de genes que codifican las carbapenemasas y la diseminación clonal de clones productores de estas enzimas especialmente exitosos (Diene SM, and Rolain JM, 2014).

Fig. 5. Mecanismos de transferencia genética horizontal. Adaptado de la ref. Rumbo C et al, 2011.



Respecto a la adquisición horizontal de genes que codifican a las carbapenemasas y en general, a los ya conocidos mecanismos de conjugación, transducción o transformación, se añade un nuevo mecanismo descrito por nuestro grupo por primera vez en *A.*

baumannii, que supone la dispersión de estos genes asociados a vesículas de membrana externa (OMVs) (Rumbo C et al, 2011) (**Figura 5**). Este mecanismo novedoso se ha visto implicado en la diseminación de genes del tipo carbapenemasa en brotes hospitalarios muy severos en nuestro país que han afectado a un amplio número de pacientes y con una importante mortalidad asociada (Acosta J et al, 2011). Estos resultados ponen de manifiesto la relevancia clínica de este mecanismo asociado a brotes nosocomiales con alta morbi-mortalidad entre los pacientes así como la plasticidad y versatilidad del mundo microbiano para adaptarse y persistir en nichos ecológicos dispares.

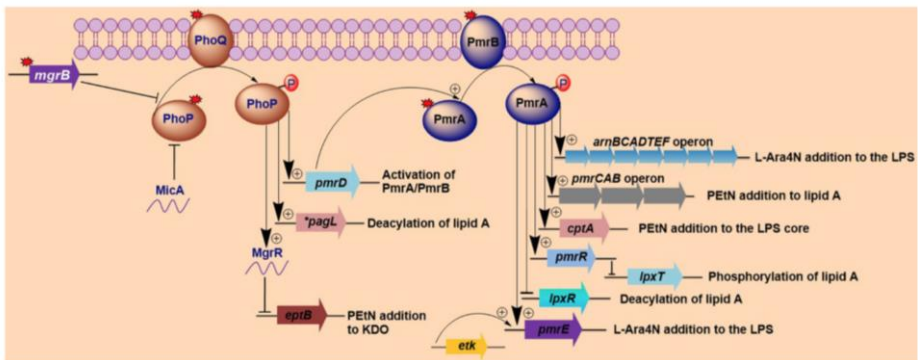
-(II) Bacilos Gram-negativos y resistencia a la colistina

La colistina fue introducida en terapéutica antimicrobiana en los años 50 del siglo pasado. Su uso inicial fue muy moderado debido a su nefrotoxicidad; recientemente se ha recuperado su utilización con el aumento de la resistencia a los carbapenémicos, sobre todo en *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, por producción de carbapenemasas (Falagas ME et al, 2005). Sin embargo, su empleo ha sido muy amplio en veterinaria, situación que podría haber jugado un papel importante en la selección y diseminación de la resistencia mediada por el gen *mcr-1* en plásmidos que confieren resistencia a la colistina en *Enterobacteriaceae* (Schawarz S, Johnson AP, 2016) y que está empezando a considerarse como un problema de salud pública mundial.

Resistencia cromosómica a la colistina. Con anterioridad a la publicación de la descripción del gen *mcr-1* en 2016, la resistencia conocida a la colistina era de naturaleza cromosómica. Esta se produce por la modificación del lipido A del LPS bacteriano regulado a través de un sistema de 2 componentes (Olaitan AO et al, 2014). Están implicadas mutaciones o deleciones en diferentes

genes, cuyo resultado da lugar a variantes del LPS que dificultan el efecto bactericida que ejerce la colistina por disrupción de la membrana externa (Beceiro A , 2011). Entre ellos destacan los genes *mgrB* y *pmrB*, que participan en el sistema PhoPQ-PmrAB (Figura 6). En *Enterobacteriaceae*, la mayoría de los aislados resistentes a colistina con mutaciones en al menos uno de estos dos genes se han descrito en *K. pneumoniae* y, en menor medida, en *E. coli*. Otro mecanismo de resistencia de naturaleza cromosómica descrito en *K. pneumoniae* y menos estudiado que los anteriores son los cambios en la capsula. Estos determinan un atrapamiento de la colistina, lo que da lugar a un incremento en los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) (Olaitan AO et al, 2014). Por el contrario, algunas de las mutaciones que afectan a las bombas de expulsión pueden generar aislados mas sensibles a la colistina y, por tanto, con valores de CMI de colistina inferiores a los habituales (Srinivasan VB, 2014).

Fig. 6. Mecanismos cromosómicos implicados en resistencia a colistina. Adaptado de la ref. Olaitan AO et al, 2014.



La mayor presencia de diferentes mecanismos de resistencia a colistina en *K. pneumoniae* que en *E. coli* refleja la situación epidemiológica descrita en Europa a través del sistema de vigilancia EARS-net del ECDC. En 2013, entre los países que notificaron los

valores de sensibilidad a colistina, el 8,8% de los aislados de *K. pneumoniae* eran resistentes a este antibiótico. Los países mas afectados eran Grecia, Italia, Rumania y Hungría, que concentran la resistencia a la colistina en los aislados productores de carbapenemasas. En *E. coli* esta cifra era < 1% (ECDC, 2014).

El problema de la resistencia a la colistina en *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas ha quedado particularmente documentado en Italia, con la dispersión de clones de alto riesgo asociados a la producción de KPC (Monaco M, 2014). Su incidencia es tal que supera el 40% de los aislados. Estos mismos aislados podrían haberse diseminado en España, en particular en Andalucía, asociados al movimiento de pacientes desde Italia a nuestro país (López-Cerero L, 2014).

En *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, los mecanismos de resistencia a la colistina son muy similares a los que acontecen en *Enterobacteriaceae* e implican mutaciones en genes del sistema de dos componentes PmrA/PmrB que afectan la estructura del LPS. De forma adicional, en *P. aeruginosa* se produciría por mutaciones que afectan al sistema de dos componentes PhoP/PhoQ. En ambos casos se han descrito mutaciones compensatorias que hacen que la resistencia a la colistina pueda revertir (Olaitan AO et al, 2014). También se han descrito aislados de *A. baumannii* con pérdida completa del LPS debida a la insercion de IS*Aba11* en genes que participan en la síntesis del LPS (Moffatt JH, 2011). La incidencia de resistencia a la colistina en ambas especies es variable, pero inferior a la que se produce en *K. pneumoniae*. Se ha descrito en mayor medida en aislados MDR y XDR; en el caso de *P. aeruginosa*, en aislados de pacientes con fibrosis quística y en *A. baumannii*, ligados a brotes nosocomiales (Mustafa MH, 2016).

En ambos casos, también en clones ligados a la producción de carbapenemasas.

En España, la resistencia a la colistina en *P. aeruginosa* y *A. baumannii* ha sido bien documentada en estudios multicéntricos, y es < 2 y 3%, respectivamente (Fernandez-Cuenca F et al, 2013).

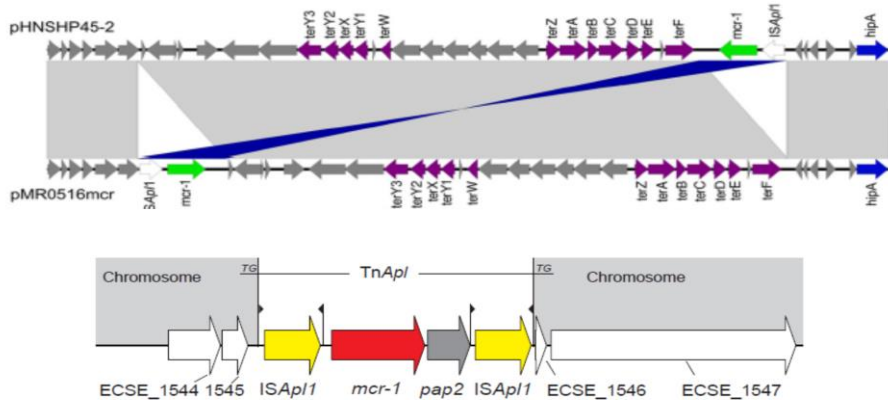
Resistencia plasmídica a la colistina mediada por el gen mcr-1.

La visión que se tenía de la escasa incidencia e importancia de los aislados con resistencia a la colistina, salvo excepciones como en *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa, cambio radicalmente con la descripción del gen *mcr-1*. Su hallazgo inicial en *E. coli* y posteriormente en *K. pneumoniae* y otras enterobacterias en China y después en numerosos países, tanto en aislados de origen humano como animal, alertó del problema que podría derivarse de su dispersión. Su asociación en plásmidos (IncI2, IncHI2, IncP, IncFIB e IncX4) (**Figura 7**), que habitualmente pueden contener genes de BLEE y de carbapenemasas. (esencialmente NDM), aumentó aún más la preocupación generada tras su descripción inicial. También se ha encontrado ocasionalmente integrado en el cromosoma bacteriano (McGann P et al, 2016). Se ha comunicado el posible origen de MCR-1 en bacterias productoras de colistina. MCR-1 es una fosfoetanolamina transferasa que cataliza la modificación del lípido A del LPS afectando la actividad de la colistina. Presenta una elevada homología de su secuencia aminoacídica con su enzima homóloga 4'-fosfoetanolamina transferasa del lípido A de *Paenibacillus*, microorganismo productor de polimixina (Gao R et al, 2016).

La importancia clínica del gen *mcr-1*, por el momento, no se ha estudiado. El incremento en los valores de CMI de colistina en los microorganismos que contienen el gen *mcr-1* (2-8 mg/l) no suele ser tan elevado como el que se produce en los microorganismos que presentan una alteración del LPS por mutaciones en genes cromosómicos (2 a > 256 mg/l). Se ha especulado que el amplio uso de la colistina en el ámbito veterinario podría jugar un papel

importante en su selección y dispersión. También se ha observado que el gen *mcr-1* puede estar presente en aislados que no tendrían el calificativo de MDR e incluso en cepas sensibles a la colistina (< 2 mg/l) (Fernandes MR et al, 2016).

Fig. 7. Estructura del plásmido que contiene el gen de resistencia a colistina *mcr-1*. Adaptado de la ref. McGann P et al, 2016.



En España, el gen *mcr-1* se ha descrito en aislados de *E. coli* de origen humano y animal, así como en *Salmonella enterica* de origen animal (Prim N et al, 2016). Es de resaltar el trabajo retrospectivo de búsqueda del gen *mcr-1* de Prim et al en un hospital de Barcelona. Encontró *mcr-1* en el 0,5% de los aislados de *E. coli* estudiados, siendo los primeros con esta característica del año 2012. Sin embargo, más sorprendente ha resultado su hallazgo en aislados de los años ochenta del siglo pasado en colecciones conservadas en China procedentes del ámbito veterinario (Shen Z et al, 2016). El incremento en el uso de la colistina en animales y la integración del gen *mcr-1* en plásmidos transferibles en bacterias MDR habría facilitado su dispersión. El gen *mcr-1* se ha encontrado en varios géneros de *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Cronobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, y *Kluyvera*) aislados tanto del medio

ambiente, como de alimentos vegetales y cárnicos, animales, y de los seres humanos.

Destacar que los aislamientos de enterobacterias productores de MCR-1 se han identificado a menudo como colonizadores en ya sea humanos o animales. Sin embargo, hay algunos casos descritos de infecciones, incluídos dos pacientes con bacteriemia/infección del tracto urinario en Suiza y USA (McGann P et al, 2016).

-(III) Mecanismos de resistencia a la fosfomicina. La fosfomicina tiene *in vitro* una tasa de mutación elevada (aproximadamente 10^{-6} células por generación), si bien sigue siendo motivo de controversia la falta de correlación *in vitro-in vivo* de este fenómeno. La resistencia a la fosfomicina se produce esencialmente por modificaciones que afectan a su permeabilidad y por modificación enzimática de la molécula. En mucha menor medida se producen alteraciones de la diana de actuación (MurA) que participa en la síntesis del peptidoglicano (Falagas ME et al, 2016).

En *E. coli*, las mutaciones en los genes cromosómicos *glpT* y *uhpT* afectan al transporte de la fosfomicina, del glicerol y de determinados carbohidratos. También se han descrito mutaciones en los genes *cyoA* y *ptsI*, que limitan el AMPc y afectan al transporte de la fosfomicina.

Sin embargo, el mayor interés en relación con los mecanismos que conducen a la resistencia a la fosfomicina se ha producido con la descripción de las enzimas modificantes de este antimicrobiano. La primera de ellas, FosA, es una metaloproteína (glutathione S-transferasa), cuyo gen codificante (*fosA*) se encuentra en un transposón (Tn2912). Se describió en la década de los ochenta del siglo pasado y está ligada a plásmidos. Desde entonces se han descrito numerosas variantes de *fosA* en plásmidos, que a su vez contienen genes que confieren resistencia a los β -lactámicos (genes

responsables de la codificación de AmpC, BLEE y carbapenemasas), quinolonas (*qnr*), aminoglucósidos (*rtmB*), sulfonamidas (*sul*) y tetraciclinas (*tet*) (Alrowais H et al, 2015).

En *P. aeruginosa*, la resistencia a la fosfomicina es debida a FosA o a la inactivación del transportador GlpT. Aunque *A. baumannii* se considera intrínsecamente resistente a la fosfomicina, se han implicado sistemas de transporte en el aumento de los valores de CMI de fosfomicina (Sharma A et al, 2017).

3. AMENAZAS GLOBALES EN BACILOS GRAM-NEGATIVOS. ASPECTOS CLÍNICOS

El fenómeno de la RA engloba a prácticamente cualquier microorganismo, incluyendo los hongos tanto levaduriformes como filamentosos, pero si hay algún grupo donde la situación es alarmante, son los bacilos Gram-negativos, entre los que se encuentran miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y los bacilos Gram-negativos no fermentadores como son *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* entre algunos significativos.

Las enterobacterias son una de las familias bacterianas que presentan con mayor frecuencia resistencia a múltiples antibióticos. A ellas se añaden los dos microorganismos Gram-negativos multirresistentes citados arriba. Todos ellos han sido considerados por el CDC como alertas de primera magnitud.

Resistencias en *Enterobacteriaceae* mediada por carbapenemasas

Las carbapenemasas son una familia de enzimas capaces de hidrolizar los carbapenémicos, una familia de antibióticos que pertenecen a los β -lactámicos y que se caracterizan por presentar una gran actividad frente a los bacilos Gram-negativos. De hecho se suelen usar como fármacos prioritarios en infecciones graves causadas por estos microorganismos. De manera genérica, y muchas veces puesto de manifiesto, a nivel hospitalario, estos microorganismos con estas enzimas suelen manifestar resistencias

cruzadas a la mayoría de los antibióticos de uso clínico. Una enterobacteria resistente a los carbapenémicos se suele representar como ERC, mientras que si dicha resistencia es causada por producción de una carbapenemasa se suele referir como EPC, tal y como se ha citado anteriormente.

Desde un punto de vista clínico, los principales factores de riesgo para la colonización e infección por estas cepas son la estancia en la UCI, la administración de antibioterapia de amplio espectro de forma prolongada, la cirugía, los procedimientos instrumentales invasivos y la inmunosupresión (Paño-Pardo JR et al, 2013). Las tasas de mortalidad son altas, oscilando entre el 18 y el 60% en casos de infección por *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas, siendo las tasas más altas entre pacientes con una infección del torrente sanguíneo o bacteriemia. El tratamiento antibiótico empírico inadecuado incrementa la probabilidad de una peor evolución clínica, mientras que las terapias con una combinación de antibióticos y la retirada o control del foco de infección se asocian con mejor supervivencia de los pacientes (Tzouveleki LS et al, 2012).

Como se ha comentado antes, con frecuencia las cepas productoras de carbapenemasas presentan corresistencias a otras familias de antibióticos no β -lactámicos, por lo que es habitual la existencia de casos de resistencia extensa o panresistencia (Magiorakos AP et al, 2012), frente a los cuales no hay una alternativa óptima de tratamiento antibiótico. Muchas de las EPC solo se muestran sensibles *in vitro* a antibióticos como la colistina, la tigeciclina, la fosfomicina o la amicacina (Tzouveleki LS et al, 2012).

La primera descripción de carbapenemasas en enterobacterias en España fue una MBL del tipo VIM-1 en 2005 (Tortola MT et al, 2005). En los años posteriores se detectaron casos esporádicos y algún brote aislado de enterobacterias productoras de MBL,

principalmente VIM e IMP. Sin embargo, durante los 2-3 últimos años la situación ha cambiado drásticamente, con un aumento global de los casos detectados, principalmente en *K. pneumoniae*, seguida de *Enterobacter* spp., con un incremento del tipo de carbapenemasas y con un número mayor de hospitales afectados por grandes brotes a lo largo de la geografía española (Pitart C et al, 2011).

En esta línea y considerando la gravedad de este tema, es importante poner de manifiesto una serie de hitos epidemiológicos trascendentes que han sucedido en España en los últimos 3-5 años y que marcan las tendencias evolutivas de esta problemática. De manera resumida son:

a) Desde su emergencia en España en 2005 las enterobacterias productoras de VIM han experimentado un progresivo aumento, originando importantes brotes hospitalarios.

b) La aparición de la carbapenemasa KPC en 2010 aunque se mantiene en una prevalencia globalmente baja. Sin embargo, algunos centros están sufriendo importantes brotes.

c) La aparición y diseminación explosiva de la carbapenemasa OXA-48. Hasta abril de 2009 no se describió el primer caso en España; desde entonces se han descrito varios grandes

brotes y casos aislados de enterobacterias, fundamentalmente *K. pneumoniae*, productores de OXA-48 a lo largo de la geografía española. Según datos del Programa de Vigilancia de la RA del Centro Nacional de Microbiología (PVRA-CNM) se ha pasado de ningún caso registrado en el año 2010, a 163 casos en 2012. En un trabajo reciente se ha detectado la diseminación interhospitalaria de unos pocos clones de *K. pneumoniae* productores de OXA-48.

d) La detección de cepas aisladas productoras de NDM-1, todas ellas en relación con una estancia previa de los pacientes en la India.

e) El aumento significativo de hospitales que comunican casos de enterobacterias productoras de carbapenemasas.

f) Paralelamente al incremento de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el medio hospitalario, se está produciendo un aumento de su detección en pacientes extrahospitalarios, lo que aumenta el riesgo de una rápida diseminación en la comunidad.

g) Los genes que codifican la mayoría de las carbapenemasas están en plásmidos y otros elementos genéticos móviles que facilitan su diseminación. Además, se han encontrado algunos clones especialmente prevalentes en los aislamientos productores de estas enzimas. (Oteo J et al, 2014)

-Retos

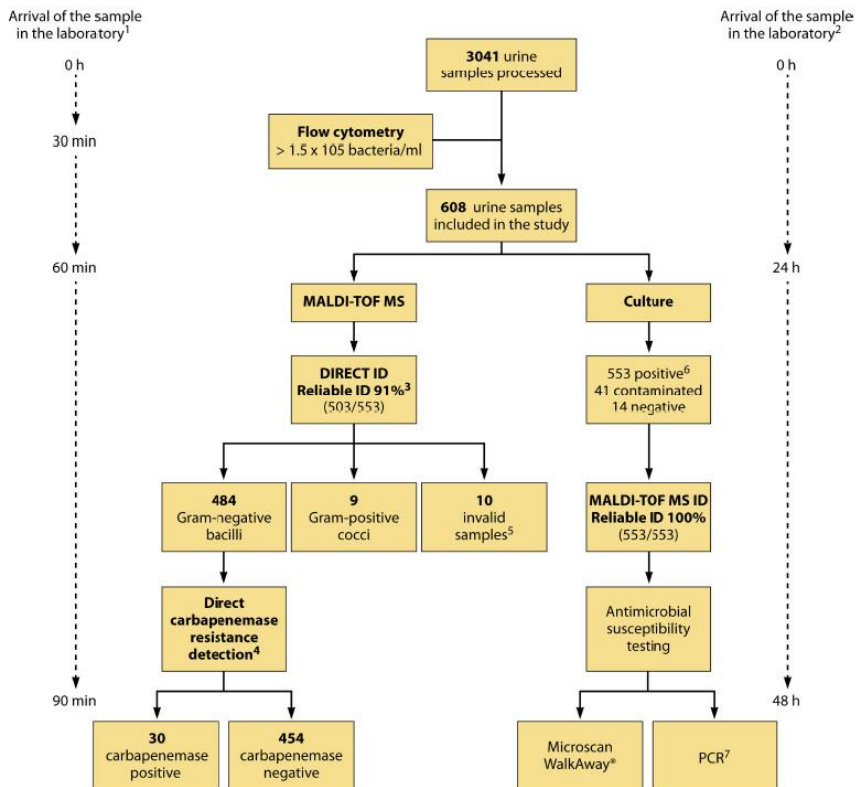
Todas estas evidencias llevan a varios miembros de los Grupos de Estudio de la Infección Hospitalaria y de los Mecanismos de Acción y de la Resistencia a Antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (GEIH/GEMARA-SEIMC) a posicionarse ante tal amenaza, exponiendo la existencia de 4 grandes retos que dicha problemática plantea a los sistemas sanitarios de salud:

Reto diagnóstico

La detección de las EPC supone un reto en el diagnóstico microbiológico. El diferente y variable grado de expresión *in vitro* de estas enzimas, que en ocasiones generan concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) consideradas sensibles a algunos antibióticos carbapenémicos, dificulta su detección, especialmente cuando se emplean sistemas automáticos. El CDC (USA) ha destacado también como una prioridad el desarrollo de métodos diagnósticos rápidos que permitan detectar de manera precoz

aquellas bacterias resistentes o multirresistentes a los antibióticos causantes de infecciones. En esta línea, al margen de los métodos fenotípicos ya implementados en la totalidad de los laboratorios de microbiología hospitalarios de nuestro país, se están desarrollando métodos basados en proteómica o moleculares que permiten lograr esta finalidad. Desde el servicio de microbiología del CHUAC en A Coruña hemos desarrollado protocolos basados en proteómica (MALDI-TOF) que permiten identificar una bacteria multirresistente en menos de 30 minutos, así como diagnosticar una infección urinaria causada por una EPC en 90 minutos (Oviaño et al, 2017) (**Figura 8**).

Fig. 8. Algoritmo diagnóstico rápido para infecciones del tracto urinario y detección de EPC en 90 minutos. Adaptado de la ref. Oviaño et al, 2017.



La SEIMC (Sociedad Española Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) ha elaborado a tal efecto, unos Procedimientos de Microbiología Clínica para la detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram-negativas, incluida la producción de carbapenemasas (Oteo J et al, 2016).

Reto del control de la infección

La aplicación de medidas de control de la infección es clave para minimizar la diseminación intrahospitalaria de las EPC. Este control requiere de un abordaje multidisciplinar que incluya aspectos relacionados con la vigilancia (detección precoz del caso índice y detección activa de la colonización en pacientes), la implementación de precauciones estándar y de contacto, llegando incluso a medidas de cohorting si fuera necesario, además de la limpieza y desinfección ambiental. Recientemente, la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) ha publicado una guía para el manejo de las medidas del control de la infección nosocomial por bacterias Gram-negativas (Tacconelli et al, 2014).

En un estudio reciente realizado en Nueva York en el que se comparaban las prácticas de control de infección entre 9 hospitales vecinos se evidenció que los hospitales que llevaban a cabo cultivos de vigilancia activa tuvieron más éxito en la disminución de la tasa de adquisición de bacilos Gram-negativos productores de KPC (Landman D et al, 2012).

La implantación de los programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA) es otra de las medidas que puede ayudar a limitar la selección de cepas productoras de carbapenemasas.

Reto terapéutico

Las opciones terapéuticas frente a las infecciones producidas por EPC son muy limitadas y no siempre óptimas. Como consecuencia, el abordaje terapéutico es complejo y todavía hay pocas evidencias científicas de su eficacia.

No obstante, parece que la terapia combinada, con 2 o más antibióticos que hayan demostrado su actividad *in vitro* (principalmente con amicacina, colistina, fosfomicina y tigeciclina, entre otros), tiene un menor riesgo de fracaso terapéutico que la monoterapia (Tzouvelekis LS et al, 2012).. Las combinaciones de antibióticos que se han mostrado más eficaces son las que incluyen un antibiótico carbapenémico, en los casos en los que uno de estos antibióticos sea aún sensible o con actividad intermedia *in vitro*. La monoterapia que ha mostrado un menor fracaso terapéutico es la realizada con aminoglucósidos (principalmente amicacina), y la que ha presentado un mayor fracaso es la realizada con colistina (Tzouvelekis LS et al, 2012). Hay en la actualidad antibióticos novedosos muy activos frente a las EPC que se discuten más adelante en el apartado correspondiente.

Reto del control de la diseminación

La capacidad de extenderse de forma rápida y eficaz entre diferentes centros sanitarios y entre diferentes regiones geográficas hace necesaria la existencia de sistemas de alerta precoz que estén interconectados, más allá de fronteras geográficas y administrativo-políticas, que nos permitan un conocimiento actualizado de la epidemiología y de las vías de expansión de las cepas productoras de carbapenemasas (ECDC-b, 2014).

Para un adecuado control de esta diseminación es importante la sospecha y el cribado de la colonización intestinal en los pacientes procedentes de determinados países especialmente afectados por

esta problemática, o en pacientes provenientes de otros hospitales o centros de enfermos crónicos, así como establecer un sistema de información para el traslado entre distintos centros hospitalarios de pacientes colonizados por estas bacterias (ECDC-b, 2014).

La diseminación de cepas de enterobacterias con resistencia extensa o panresistencia debida a la producción de carbapenemasas es una de las mayores amenazas actuales para la salud de los

pacientes en particular y para la salud pública en general, por lo que debe ser una prioridad de los profesionales y de las autoridades sanitarias. El conocimiento de los casos existentes y de su

distribución geográfica es un paso necesario para su control. Un importante avance en este sentido sería considerar como casos de declaración obligatoria (EDO) todas las infecciones/colonizaciones producidas por bacterias productoras de carbapenemasas (EPC).

En esta línea acaba de firmarse un acuerdo entre la SEIMC, Roche, CNAG (Centro Nacional Análisis Genómico) y nuestro grupo para crear una base de datos de genomas de enterobacterias multirresistentes (EPC) a nivel nacional que se pondrá a disposición de los microbiólogos españoles de manera gratuita y libre con la finalidad de poder identificar y seguir de manera epidemiológica a las EPC causantes de infección en nuestro país. Nuestro ámbito es de momento nacional, pero no se descarta ir más allá de nuestras fronteras en un paso posterior.

Resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*

La resistencia en *P. aeruginosa* se ha incrementado de manera notoria en las últimas décadas. Conocer la base molecular de esta resistencia, así como su prevalencia, es importante para optimizar el tratamiento de las infecciones causadas por este patógeno. De

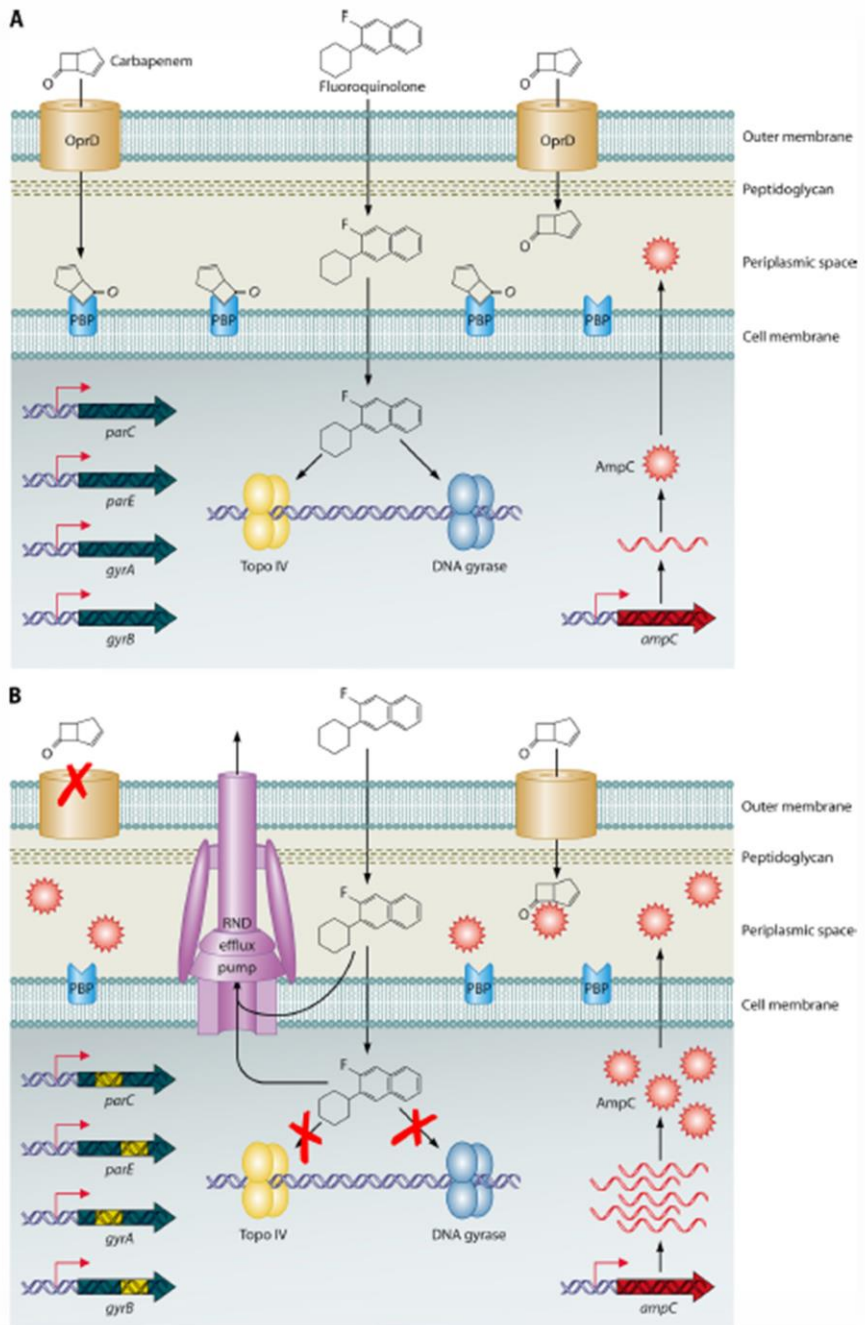
naturaleza ubicua y oportunista, es capaz de generar infecciones graves, que llegan a comprometer la vida de los pacientes, especialmente los inmunocomprometidos (Savoia D et al, 2014). Debido a su diversidad ecológica es capaz de aislarse en diversos ambientes, como el medio ambiente (suelo, materia orgánica, agua, plantas, etc.), muestras clínicas, así como en equipos médicos. Su peligrosidad radica en el gran número de factores de virulencia que, junto con su resistencia intrínseca o adquirida a los antimicrobianos, contribuyen de manera sinérgica a su patogénesis.

La resistencia en *P. aeruginosa* se produce por la combinación de diferentes factores que actúan de manera sinérgica, entre los cuales destaca la baja permeabilidad de su envoltura celular, la expresión de una amplia gama de mecanismos de resistencia intrínsecos a partir de mutaciones cromosómicas (hiperexpresión de la cefalosporinasa cromosómica, expresión de bombas de extrusión multifarmaco o la pérdida en la expresión de OprD), así como la adquisición de genes de resistencia por transferencia génica horizontal vía plásmidos, transposones o bacteriófagos (Lister PD et al, 2009), **Figura 9.**

La resistencia a los antimicrobianos es pues una característica notable de *P. aeruginosa*.

Los agentes antipseudomónicos aceptados y utilizados para tratar las infecciones causadas por esta bacteria son los β -lactámicos, los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas. Su uso inadecuado ha contribuido al desarrollo de cepas MDR. Recientemente, se han comercializado dos nuevas combinaciones de antibióticos muy eficaces frente a este patógeno, el ceftolozano-tazobactam, y la ceftazidima-avibactam, que se discutirán posteriormente en la sección correspondiente.

Fig. 9. Mecanismos de resistencia cromosómicos en *P. aeruginosa*. A: cepa sensible; B: cepa resistente. Adaptado de la ref. Lister PD et al, 2009.



Para ceftazidima y cefepima, las tasas de resistencia se encuentran en distintos países entre el 10 y el 50% de los aislados, con una tendencia creciente (Rhomberg PR et al, 2007). Este hecho es también claro en relación a los carbapenémicos, posiblemente debido a su amplio uso. Respecto a los aminoglucósidos, la resistencia es bastante frecuente. Para tobramicina y ampicacina varía en función del estudio y puede oscilar entre un 2 y un 50%. En el caso de gentamicina puede ser incluso > 50% (Falagas ME et al, 2005).

De igual manera, la resistencia a las quinolonas antipseudomonas (especialmente ciprofloxacino) se ha incrementado. Con esta situación, el uso de polimixinas (polimixina B y colistina) ha emergido como opción en el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*, antibióticos que tampoco están escapando, aunque en mucha menor medida, al desarrollo de resistencias paralelamente a su uso continuado (Landman D et al, 2012).

Uno de los mayores problemas en *P. aeruginosa* es la aparición de cepas MDR, XDR o PDR, que limitan de manera preocupante las opciones terapéuticas. Este problema se incrementa cuando se añaden características especiales de virulencia y/o persistencia, situación que acontece con los clones de alto riesgo. Algunos ejemplos serían los genotipos ST111, ST175 o ST235, responsables de epidemias nosocomiales causadas por cepas MDR o XDR a lo largo del mundo (Viedma E et al, 2012).

Resistencia en *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii es un patógeno oportunista, normalmente hospitalario, implicado entre otras en infecciones de piel y partes blandas, urinarias, neumonía asociada a ventilación mecánica y endocarditis.

Estas infecciones se producen en pacientes con cierto grado de inmunosupresión y/o sometidos a procesos invasivos y, sobre todo, en aquellos ingresados en las unidades de cuidados intensivos (UCI).

Mecanismos de resistencia en *Acinetobacter* spp.

El genero *Acinetobacter* se compone de 30 especies con un nombre asociado y 9 especies genómicas definidas a través de estudios de hibridación ADN/ADN.

Entre todas las especies sobresale con gran diferencia *A. baumannii*, debido a su resistencia intrínseca a diferentes antimicrobianos y a su extraordinaria capacidad para adquirir mecanismos de resistencia a la práctica totalidad de los antimicrobianos a los que inicialmente es sensible. Entre los mecanismos intrínsecos destacan la cefalosporinasa AmpC cromosómica, la β -lactamasa OXA-51, la reducida permeabilidad de la membrana externa al compararlo con otros patógenos, así como la presencia de bombas de expulsión, principalmente de la familia RND, como AdeABC, AdeIJK y AdeFGH, que contribuyen en mayor o menor grado a su resistencia intrínseca, especialmente cuando se hiperexpresan (notable este hecho para conferir resistencia a tigeciclina) (Peleg AY et al, 2008).

Dentro de los mecanismos de resistencia adquiridos, los más importantes por su diseminación, prevalencia e impacto clínico son las carbapenemasas de clase D (OXA-23, -24, -58, -143 y -235) (Potron A et al, 2015). La presencia de estas enzimas, junto a algunos de los mecanismos intrínsecos detallados, contribuye en gran medida a su resistencia a los carbapenémicos (Bou G et al, 2000). Las β -lactamasas de clase B o MBL, aunque también se han descrito en *Acinetobacter*, no constituyen, por el momento, un

problema clínico o epidemiológico, pues su presencia es muy minoritaria respecto a las β -lactamasas de clase D u oxacilinasas.

También es destacable en *A. baumannii* la producción de enzimas modificantes de aminoglucósidos y cloranfenicol, metilasas y las modificaciones del sitio de interacción de la diana, como es el caso de las fluoroquinolonas (Peleg AY et al, 2008; Beceiro A, 2018) (**Figura 10**).

Fig. 10. Principales mecanismos de resistencia a antimicrobianos en *A. baumannii*. Adaptado de la ref. Beceiro A, 2018.

Antibiotic	Resistance mechanism	Key examples
β -lactams	Enzymatic inactivation	Penicillinases
		Extended spectrum β -lactamases (AmpC, TEM, VEB, PER, CTX-M, SHV)
	Loss, down-regulation, or alteration of porins	Carbapenemases (OXA, VIM, IMP, NDM-1)
		CarO, Omp 33-36, OprD-like
Aminoglycosides	Alteration of PBP expression	PBP2
	Efflux systems	AdeABC
	AMEs	AAC, ANT, APH
	Efflux systems	AdeABC, AdeM
Tetracyclines and tigecycline	Ribosomal methylation	ArmA
	Efflux systems	AdeABC, TetA, TetB
Polymyxin E (Colistin)	Ribosomal protection	TetM
	Lipid A modification	PmrCAB
	Loss of lipopolysaccharide	LpxABC

Respecto a las polimixinas (colistina), es notable el hecho del incremento en su uso debido a la escasez de opciones terapéuticas disponibles. Aunque no es muy habitual, se están detectando cada vez con mayor frecuencia aislados de *A. baumannii* resistentes a colistina. La resistencia se produce por la modificación del lípido A del lipopolisacárido (LPS) bacteriano a través de un sistema regulatorio de dos componentes (Beceiro A et al, 2011). Otro

mecanismo, que se asocia con altos niveles de resistencia a colistina, esta producido por la pérdida del LPS, aunque debido al amplio coste biológico asociado, su emergencia en cepas clínicas es prácticamente anecdótica y de menor relevancia.

4. EPIDEMIOLOGÍA NACIONAL E INTERNACIONAL

Situación de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España.

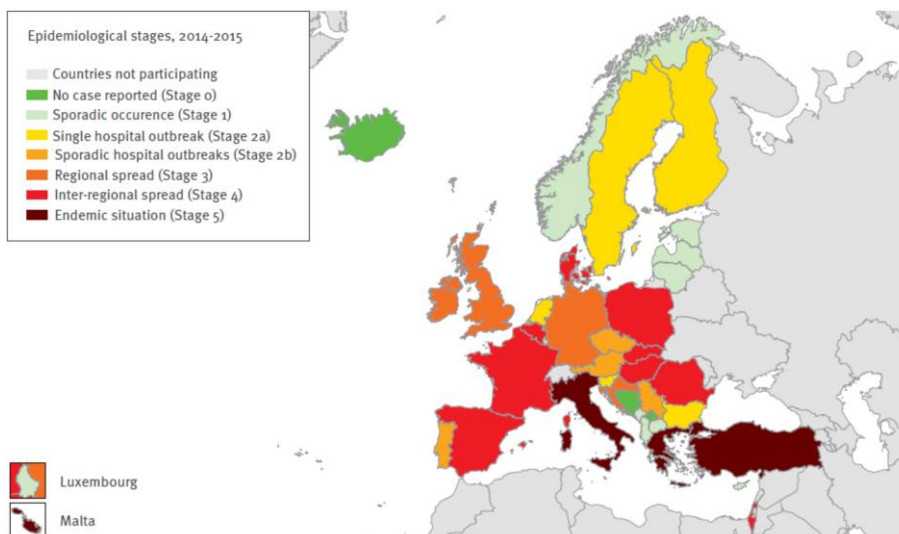
En España, como en la mayoría de los países, la prevalencia de EPC ha experimentado un enorme aumento. En 2009, en el seno de un estudio multicéntrico que englobó a 35 hospitales españoles, se analizaron 100.132 aislamientos de *Enterobacteriaceae*. Solo se detectaron las carbapenemasas VIM-1, IMP-22 e IMP-28, y no se detectó OXA-48 o KPC (Miro E et al, 2012). Tan solo 3 años después, en 2012, y dentro del programa de vigilancia de la resistencia a los antibióticos en nuestro país, se detectó un incremento importante de las EPC, siendo OXA-48 la carbapenemasa emergente (Oteo J et al, 2013).

En 2013, en el seno de otro estudio multicéntrico con 83 hospitales (cerca de 40.000 camas), se detectaron 379 EPC, y las carbapenemasas más frecuentes fueron OXA-48 (71,5%) y VIM-1 (25,3%). *K. pneumoniae* (74,4%), *Enterobacter cloacae* (10,3%) y *Escherichia coli* (8,4%) fueron las especies más afectadas.

Respecto a los tipos de secuencia (ST) más prevalentes, estos fueron ST11/OXA-48, ST15/OXA-48, ST405/OXA-48 y ST11/VIM-1, y se observó una amplia diseminación interregional de EPC en nuestro país. Actualmente, la diseminación de OXA-48 en *E. coli* de naturaleza policlonal es un nuevo motivo de preocupación de salud pública en España (Oteo J et al, 2015).

Respecto al resto de Europa, un estudio reciente ha puesto de manifiesto la amplia dispersión de las EPC, ya que en 2015 13 de 38 países describieron diseminación interregional o una situación endémica de EPC. Esa cifra contrasta con la de 2013, cuando solo 6 de 38 países tenían esa situación. En 2015, las enzimas más prevalentes fueron OXA-48 y NDM. Es de resaltar que en 2015 solo 3 países no notificaron casos de EPC (Albiger B et al, 2015) (Figura 11).

Fig. 11. Situación epidemiológica en Europa respecto a *Enterobacteriaceae* productora de carbapenemasas (EPC) en el año 2015. Adaptado de la ref. Albiger B et al, 2015.



Situación de la resistencia a los antimicrobianos de *Pseudomonas aeruginosa* en España.

Según el ECDC, las tasas de resistencia a ceftazidima, carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas en *P. aeruginosa* procedentes de infecciones invasivas, se sitúan en un 10, 20, 20 y 25%, respectivamente (ECDC-b, 2013).

Los estudios nacionales, con colecciones de cepas recogidas de bacteriemias en 10 hospitales, muestran tasas de resistencia similares a las descritas por el ECDC. Cuando se analizan los mecanismos moleculares subyacentes, se pone de manifiesto que la resistencia mediada por mutaciones es frecuente en estos aislados. El principal mecanismo de resistencia a las penicilinas o cefalosporinas es la selección de mutantes con hiperproducción constitutiva (desrepresión) de la cefalosporinasa cromosómica inducible AmpC. Entre los mecanismos de resistencia mutacionales destaca también la inactivación de la porina OprD, que confiere resistencia a imipenem y sensibilidad disminuída a meropenem. Finalmente, la hiperexpresión de alguna de las múltiples bombas de expulsión, principalmente MexAB-OprM y MexXY-OprM, contribuye de forma notable a los fenotipos de resistencia (Lister PD et al, 2009). Aunque proporcionalmente es mucho menos común que la resistencia mutacional, cada vez es más frecuente la presencia de genes adquiridos por transferencia genética horizontal a través de plásmidos, transposones o integrones que confiere resistencia a distintos β -lactámicos (García-Castillo M et al, 2011).

Situación de la resistencia de *Acinetobacter baumannii* en España y resto del mundo.

En España, como en el resto del mundo, se está produciendo un incremento de la resistencia a los antimicrobianos en *A. baumannii*.

A nivel internacional, destaca el estudio de Mera et al (Mera RM et al, 2010), que describe un incremento en la resistencia a los carbapenémicos en *A. baumannii* en 6 años en Estados Unidos (2002-2008), desde un 22 hasta un 52%, tras un análisis de mas de 22.000 cepas.

En España, en el último estudio multicéntrico nacional (proyecto GEIH-GEMARA-REIPI-Ab2010) (Fernández-Cuenca F et al, 2013), donde se incluyeron 446 aislados de *A. baumannii* procedentes de 43 hospitales, se detectó una alta prevalencia de la pérdida de la sensibilidad a la mayoría de los antimicrobianos: > 94% en ceftazidima, piperacilina y ciprofloxacino; 82-86% en carbapenémicos y tetraciclina, y 60- 70% en tobramicina, sulbactam, gentamicina y doxiciclina. En comparación con los datos obtenidos en un estudio previo realizado en 2000 (Fernández-Cuenca F et al, 2004), estos aislados fueron más resistentes a ceftazidima, carbapenémicos, doxiciclina, sulbactam y colistina; la mayoría fueron MDR o XDR.

Este proyecto puso también de manifiesto que la tasa de incidencia de colonización o infección por *A. baumannii* se incrementó significativamente desde el 0,14 en 2000 al 0,52 en 2010 ($p < 0,001$). Además, el estudio epidemiológico a través de MLST (tipificación multilocus de secuencias) puso de manifiesto un incremento del grupo clonal ST2 en 2010, el cual mostró mayor resistencia a imipenem y se asoció a un mayor riesgo de sepsis (Villar M et al, 2014).

Los factores epidemiológicos implicados en la adquisición hospitalaria de *Acinetobacter* spp. son bien conocidos. Su implicación en brotes hospitalarios se ve favorecida por su capacidad de resistir a la desecación, transmitirse de paciente a paciente a través de las manos del personal y contaminación del ambiente hospitalario. En España se han descrito brotes por *A. baumannii* portadores de las carbapenemasas OXA-23, OXA-24 y OXA-58. (Bou G et al, 2000).

5. LA IMPERIOSA NECESIDAD DE NUEVO ANTIBIÓTICOS EN CLÍNICA: ¿QUÉ HAY DE NUEVO?

La resistencia a los antibióticos en Gram-negativos se ha desarrollado sin una respuesta compensada en relación al desarrollo de agentes antibióticos exitosos, aunque es notorio un cambio de tendencia recientemente. Como se ha comentado anteriormente, infecciones graves causadas por bacterias Gram-negativas están empezando a ser consideradas como un reto muy importante. La emergencia de microorganismos que producen β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) es un problema de salud pública global. La resistencia a estos antibióticos de amplio espectro tal y como cefalosporinas de tercera generación (por ejemplo ceftazidima y ceftriaxona) en *E. coli* y *K. pneumoniae* es un fenómeno muy generalizado. Como consecuencia, se ha producido un incremento concomitante en el uso de antibióticos carbapenémicos que ha generado a su vez, un incremento en la presión selectiva para la resistencia a los propios antibióticos. Un incremento en las tasas de resistencia a los carbapenémicos en *Enterobacteriaceae* (CRE) se está detectando en el entorno hospitalario lo que conlleva mayor número de infecciones invasivas que se traducen en alta mortalidad. A su vez, cepas multirresistentes (MDR) de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, incluso extremadamente resistentes (XDR) o panresistentes (PDR) con múltiples mecanismos de resistencia se están empezando a detectar en los hospitales a lo largo del mundo. La amenaza de microorganismos resistentes a todas las familias de

antibióticos ya es un hecho y se está empezando a observar, con el potencial de generar brotes hospitalarios. Considerando la escasez de nuevos antibióticos en los últimos años, hemos asistido a una re-emergencia de antibióticos viejos y abandonados. Las polimixinas, descartadas en principio por problemas de toxicidad se presentan en la actualidad como una línea última de defensa contra los Gram-negativos, siendo reclasificados por la OMS como de importancia crítica para la medicina humana. En este sentido, el uso de las polimixinas en hospitales con prevalencia de infecciones causadas por CRE, a menudo en terapia combinada, es algo muy frecuente en la práctica clínica y actualmente tema de importancia en ensayos clínicos. Se están realizando esfuerzos para ajustar la dosificación y optimizar los parámetros farmacocinéticos (PK) con la finalidad de reducir la toxicidad maximizando la eficacia. Otro caso, sería el de la fosfomicina trometamol, cuyo uso mayoritario es el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas, siendo su uso iv para infecciones de mayor gravedad. Este antibiótico es en la actualidad tema de debate científico, siendo el principal problema de este antibiótico la capacidad de generar resistencias con cierta facilidad, especialmente cuando es usado en monoterapia.

Ante este problema de tremendas dimensiones se han generado iniciativas, a distinto nivel para favorecer la investigación en nuevos antimicrobianos. En USA, está la iniciativa GAIN (Generating Antibiotic Incentives Now) la cual proporciona incentivos económicos y un proceso de revisión simplificado para el desarrollo de nuevos antimicrobianos. En Europa, el programa IMI (Innovative Medicines Initiative) ND4BB (New Drugs for Bad Bugs) por la Unión Europea proporciona financiación para combatir la resistencia a los antimicrobianos, incluyendo la formación de partenariazgo público-privado para desarrollar nuevos antimicrobianos. Se ha realizado un progreso significativo

con dos agentes, el ceftolozano-tazobactam y la ceftazidima-avibactam, siendo ambos aprobados por la FDA y la EMA, en 2015, así como con unas 30 moléculas en desarrollo clínico. La mayoría de estas combinaciones pertenecen a clases ya existentes de antibióticos, con nuevos inhibidores de β -lactamasas combinados con β -lactámicos ya establecidos, y nuevas moléculas de las familias tetraciclinas y aminoglucósidos. (Wright et al, 2017).

β -lactámicos existentes combinados con nuevos inhibidores de β -lactamasas

En los últimos años se ha producido un progreso significativo en el desarrollo de nuevos inhibidores de β -lactamasas activos frente a β -lactamasas de clase A y C, incluyendo una buena actividad frente a las carbapenemasas del tipo KPC. Algunos de estos nuevos inhibidores de β -lactamasas incluyen avibactam, relebactam, vaborbactam y AAI101. Las β -lactamasas de clase B son más refractarias a su inhibición enzimática aunque ya hay estudios que muestran que un nuevo inhibidor de β -lactamasas, el zidebactam con alta afinidad sobre la PBP-2, en combinación con cefepima, puede ser activo contra bacterias que producen β -lactamasas de clase B. De igual manera la asociación aztreonam y avibactam muestra actividad contra microorganismos que producen estas enzimas. Una tabla resumen de estas combinaciones a fecha de hoy así como su actividad relativa respecto a especies bacterianas concretas y sus mecanismos de resistencia se muestra en la **Figura 12** (Wright et al, 2017).

Fig. 12. Nuevos antimicrobianos frente a Gram-negativos. BLEE: beta-lactamasas de espectro extendido; Carba: carbapenemasa; BGNNF: bacilos Gram-negativos no fermentadores. +: actividad; ++: actividad excelente; -/+ : actividad en función del tipo enzimático; -: no actividad; (-): actividad en algunas situaciones. Figura cedida por la Dra. Emilia Cercenado.

Actividad de nuevos antimicrobianos: Gram-negativos

Beta-lactámicos/inhibidores de beta-lactamasas

	Enterobacterias					BGNNF	
	BLEE	AmpC	Carba KPC	Carba OXA-48	Carba MBL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Ceftolozano/tazobactam	+	-/+	-	-	-	++	-
Ceftazidima/avibactam	++	++	++	+	-	++	-
Aztreonam/avibactam	++	++	++	+	++	+	-
Imipenem/relebactam	++	++	++	(-)	-	+	-
Meropenem/vaborbactam	++	++	++	(-)	-	+	-
Cefepima/zidebactam	++	++	++	++	++	++	-
Cefiderocol	++	++	++	++	++	++	+

-Ceftazidima-avibactam: combinación de un antibiótico tradicional, ceftazidima, con un nuevo inhibidor de β -lactamasas, el diazobiciclo-octano o avibactam. Este compuesto es un inhibidor de muchas β -lactamasas permitiendo de esta manera proteger a la ceftazidima de la hidrólisis enzimática por parte de las β -lactamasas de clase A y C que producen muchos organismos Gram-negativos y algunas β -lactamasas de clase D. La actividad inhibitoria del avibactam es causada por un mecanismo reversible y covalente que permite liberar al compuesto intacto para la mayoría de las seríen β -lactamasas excepto las del tipo KPC. Como resultado, las β -lactamasas pueden reciclar el inhibidor aunque

haya varias enzimas presentes, permitiendo así una mayor eficacia en términos de inhibición. Sin embargo, avibactam no puede inhibir β -lactamasas de clase B o metaloenzimas, unas de las enzimas de mayor prevalencia en *Enterobacteriaceae*. A pesar de esta limitación, estudios con gran cantidad de aislados bacterianos en múltiples regiones globalmente han demostrado altas tasas de susceptibilidad de *Enterobacteriaceae* a la combinación ceftazidima-avibactam, especialmente cuando el microorganismo expresa las β -lactamasas del tipo KPC y OXA-48. De igual manera, la susceptibilidad de *P. aeruginosa* a ceftazidima/avibactam es netamente mejor respecto a ceftazidima sola. Destacar no obstante, la escasa actividad de esta combinación frente a *Acinetobacter* spp. A nivel clínico esta combinación está aprobada para el tratamiento de infecciones intraabdominales (cIAI) y urinarias complicadas (cITU), neumonía nosocomial (incluyendo neumonía asociada a ventilación mecánica-NAV-) e infecciones causadas por microorganismos aerobios Gram-negativos en pacientes con opciones terapéuticas limitadas. (Wagenlehner FM et al, 2013).

-Imipenem/relebactam: relebactam (MK7655) es un análogo de piperidina diazobicyclo-octano diseñado para inhibir β -lactamasas de clase A y C. En combinación con imipenem hay que destacar su actividad frente patógenos Gram-negativos, con énfasis en *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Enterobacter* spp. productores de carbapenemasas, con especial relevancia en aquellos que producen la carbapenemasa de tipo KPC. Destacar la escasa actividad frente a carbapenemasas tipo OXA-48. Clínicamente se espera en breve, su aprobación para el tratamiento de infecciones intraabdominales complicadas y neumonías nosocomiales (Livermore D et al, 2013).

-Meropenem/vaborbactam: vaborbactam (previamente conocido como RPX7009) es un nuevo compuesto borónico

cíclico capaz de inhibir β -lactamasas de clase A y C y algunas de clase D. Vaborbactam es un inhibidor reversible que fue diseñado para interactuar con serín β -lactamasas, y KPC en particular. Su mecanismo de acción es a través de la creación de una unión covalente entre el átomo de boro y la serín β -lactamasa. La adición de vaborbactam a una concentración de 8 mg/L al meropenem genera una reducción de ≥ 16 veces en la CMI de aislados clínicos de *E.coli*, *K.pneumoniae* y *Enterobacter* spp. productores de KPC. Prácticamente no muestra actividad sobre *A. baumannii* con β -lactamasas de tipo OXA o *P. aeruginosa*. Se espera en breve su uso clínico, una vez hayan finalizado distintos ensayos clínicos donde se muestra la superioridad de esta combinación para cITU, neumonía nosocomial y bacteriemia con aislados CRE (ClinicalTrials, 2017).

-Aztreonam-avibactam: aztreonam es el único monobactam de uso clínico siendo un antibiótico β -lactámico aprobado desde 1986 para el tratamiento de infecciones causadas por Gram-negativos. Su interés en estos momentos radica en que no es un antibiótico hidrolizado por las MBLs y permite en combinación, ser usado para el tratamiento, donde pocas opciones son disponibles. Aztreonam solo es rápidamente hidrolizado por la mayoría de BLEEs y carbapenemasas del tipo KPC. La combinación con avibactam por tanto incrementa la actividad frente patógenos MDR, incluyendo estabilidad contra serín carbapenemasas, MBLs, y algunas β -lactamasas de clase D. De esta manera aztreonam/avibactam ha mostrado una actividad *in vitro* superior comparado con aztreonam solo frente a BLEE, β -lactamasas de clase C, MBLs, y enterobacterias productoras de KPC. La combinación aztreonam/avibactam es menos efectiva frente a *P. aeruginosa* con unas CMI₉₀ de entre 32-64 mg/L. También y como

una limitación no muestra actividad *in vitro* contra aislados de *A. baumannii*. Hay algunas observaciones clínicas publicadas evaluando aztreonam combinado con ceftazidima/avibactam que muestran la eficacia de esta combinación frente a pacientes con infecciones causadas por *Enterobacteriaceae* con NDM, *P. aeruginosa* con resistencia a carbapenémicos o frente a *Stenotrophomonas maltophilia*. Sin embargo, a fecha de hoy se necesitan más ensayos clínicos randomizados que apoyen más su uso clínico (Yoshizumi A et al, 2015).

Nuevos β -lactámicos combinados con inhibidores de β -lactamasas ya existentes

-Ceftolozano-tazobactam: es una combinación de una nueva oxyminoaminotiazolyl cefalosporina con un bien conocido inhibidor de β -lactamasas, el tazobactam. Ceftolozano se caracteriza por su gran actividad frente a *P. aeruginosa*, con una alta afinidad por las PBP1b, PBP1c, y PBP3, así como su estabilidad en presencia de β -lactamasas tipo AmpC. Su actividad no se afecta por expresión de bombas de extrusión (efflux pumps) ni por alteraciones en la permeabilidad mediada por OprD en *P. aeruginosa*. La resistencia de alto nivel a ceftolozano/tazobactam requiere múltiples mutaciones que permiten una sobreexpresión de la β -lactamasa AmpC a la par que modificaciones estructurales en la misma. Destacar que la tasa de resistencia es menor que frente a ceftazidima, meropenem o ciprofloxacino. El ceftolozano/tazobactam ha demostrado potente actividad *in vitro* contra *P. aeruginosa*, con estudios que muestran una CMI₉₀ \leq 4 mg/L, incluyendo aislados MDR. También es activo *in vitro* frente *Enterobacteriaceae*, incluyendo aquellos resistentes a ceftazidima. En estos casos, la adición de tazobactam al ceftalozano extiende la

actividad del ceftolozano solo para incluir muchos productores de BLEE, mientras que patógenos que portan carbapenemasas, tal y como KPCs y MBLs, permanecen resistentes al mismo.

Clínicamente ha mostrado su eficacia a través de ensayos clínicos para el tratamiento de cIAI y cITU. En este momento hay un ensayo clínico en fase III randomizado donde se compara ceftolozano/tazobactam con meropenem en el tratamiento de pacientes adultos con NAV o neumonía bacteriana nosocomial, Se espera esta indicación clínica en breve (Hungtinton JA et al, 2016).

Cefalosporinas sideróforos (también conocidas como catecol cepems)

Estas cefalosporinas aparecen de entre los más antibióticos prometedores a corto plazo, ya que muestran como característica el mayor espectro de actividad de entre todos los nuevos antibióticos contra los bacilos Gram-negativos. Su actividad incluye los productores de β -lactamasas de clase A,B, C, y D, así como *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. maltophilia* resistentes a los antibióticos carbapenémicos.

-Cefiderocol: previamente conocido como S-649266 es un nuevo antibiótico tipo cefalosporina siderófora con un catecol en la posición-3 de la cadena. La cadena lateral de catecol permite su unión al ión férrico, y el complejo cefiderocol e ión hierro es transportado activamente al interior de la bacteria a través de los sistemas de transporte vía ión férrico con posterior destrucción de la síntesis de la pared celular. Como se ha comentado, este antibiótico muestra una extraordinaria actividad frente a microorganismos Gram-negativos incluyendo ERC (e incluyendo las MBLs) así como MDR *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. A su peculiar manera de entrar en la célula se une la alta estabilidad del

cefiderocol contra la hidrólisis por carbapenemasas. Varios ensayos clínicos están en marcha para demostrar su eficacia frente a una gran variedad de infecciones e incluyendo los patógenos arriba mencionados.(ClinicalTrials.gov-b, 2017)

Nuevos aminoglucósidos

-Plazomicina: es un aminoglucósido derivado de sisomicina que inhibe la síntesis de proteínas a través de la unión con la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. La resistencia principal a los aminoglucósidos en Gram-negativos se debe a la modificación enzimática e inactivación posterior de los mismos. Plazomicina ha sido sintetizado para ser activo contra la mayoría de las bacterias que expresan estas enzimas modificantes de aminoglucósidos. De esta manera muestra una gran actividad frente a *Enterobacteriaceae* incluyendo las resistentes a carbapenémicos e incluso más actividad comparada con amicacina, gentamicina y tobramicina. La resistencia se produce a través de 16S rRNA metiltransferasas que modifican el sitio de unión al ribosoma. Destacar que es menos activo frente Gram-negativos no fermentadores respecto a *Enterobacteriaceae*, mostrando en *P. aeruginosa* una actividad similar a otros aminoglucósidos aunque una mejor actividad que los aminoglucósidos tradicionales frente a *A. baumannii*. Ensayos clínicos en fase III en el tratamiento de cITU muestran no inferioridad estadísticamente significativa de plazomicina respecto al meropenem. Otros estudios clínicos, donde comparan plazomicina respecto a colistina en pacientes con infecciones del torrente sanguíneo, neumonía hospitalaria o NAV, o cITU causadas por CRE mostraron mayor tolerabilidad y mayor supervivencia en el brazo de plazomicina (García-Salguero C et al, 2015).

Derivados de tetraciclinas

-Eravaciclina: esta es una nueva fluorociclina tetraciclina sintética. Su mecanismo de acción es a través de su unión al ribosoma y posterior inhibición de la síntesis de proteínas bacteriana. Su estructura química es similar a tigeciclina, lo cual le permite evadir mecanismos de resistencia presentes para otras tetraciclinas, como son las proteínas de protección ribosómicas y la mayoría de los mecanismos tipo efflux específicos para tetraciclinas.

Esto se debe a modificaciones químicas en C-7 y C-9 del núcleo de la tetraciclina lo que permite ampliar el espectro de actividad y así mantener la actividad frente a patógenos MDR. Se puede administrar por vía oral o vía parenteral. Destaca su actividad frente a *Enterobacteriaceae* con carbapenemasas del tipo KPC, OXA-48 y NDM. Presenta actividad frente a *A. baumannii* pero no frente a *P. aeruginosa*.

Su eficacia clínica se ha estudiado en ensayos clínicos en fase III en el contexto de cIAI y cITU. En muchos de ellos se ha observado no inferioridad respecto a terapias estándar (Falagas ME, Mavroudis AD et al, 2016).

Conclusiones

Se han realizado progresos notables recientemente en el desarrollo de antibióticos para su uso contra organismos Gram-negativos MDR, lo cual provoca esperanza para el tratamiento futuro de estas infecciones tan problemáticas. Así, el desarrollo de nuevos antibióticos, relativamente “dormido” en relación a la lucha contra la resistencia antibiótica, ahora mantiene una tendencia muy prometedora en el lanzamiento de moléculas muy útiles en el armamentario antibiótico.

6. NUEVOS ABORDAJES TERAPÉUTICOS Y/O BIOTECNOLÓGICOS PARA LUCHAR CONTRA LAS BACTERIAS RESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS

Atendiendo a la situación actual en términos de incidencia y prevalencia de bacterias resistentes o multirresistentes, y al hecho de que los antibióticos acaban tarde o temprano seleccionando resistencias a los mismos de manera directa o cruzada, como parte del proceso evolutivo natural, es necesario y casi “ético” plantear nuestras estrategias que permitan luchar contra este terrible problema médico y humano. Con esta idea hay una serie de estrategias que permiten abordar la lucha contra la resistencia microbiana de otro modo.

Se muestra a modo de resumen en la **Figura 13** (Trastoy R et al, 2018).

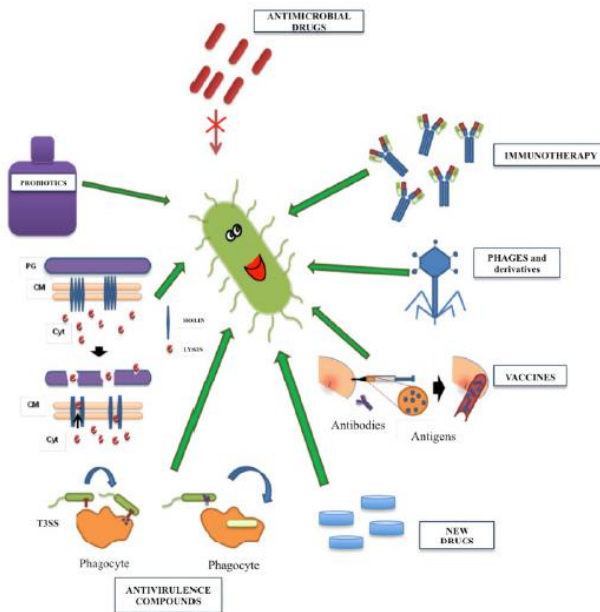


Fig. 13. Nuevas estrategias anti-infecciosas para combatir contra las bacterias resistentes a los antimicrobianos: inmunoterapia, bacteriófagos, vacunas, compuestos antivirulentos, probióticos, nanotecnología. Adaptado de la ref. Trastoy R et al, 2018.

-Terapia fágica: los bacteriófagos o virus bacterianos fueron descubiertos y potencialmente usados como agentes antimicrobianos en la década de 1920. Sin embargo, fueron reemplazados de este propósito con el descubrimiento de los antibióticos. En la antigua Unión Soviética se siguieron usando durante años. Por ello, la literatura ha descrito el uso de bacteriófagos vivos como una forma de tratamiento para curar infecciones letales causadas tanto por Gram-positivos como por bacterias Gram-negativas. Estos bacteriófagos “curativos” pueden ser salvajes o modificados genéticamente con la finalidad de mejorar este propósito. Pueden también ser usados en monoterapia o bien combinados con antibióticos, como adyuvantes. Una de las propiedades antibacterianas de los bacteriófagos, se debe a la presencia de lisinas que actúan a nivel de la pared celular bacteriana, con poca capacidad de generar resistencias debido a que se dirigen a componentes del péptido glicano altamente conservados (Pastagia M et al, 2013).

-Terapias antivirulentas: los objetivos de las terapias antivirulentas es reducir el uso de antibióticos, minimizando así la generación de resistencias a los mismos y ejerciendo un efecto protector sobre la microbiota del huésped. Los agentes antivirulentos no ejercen una presión selectiva sobre las bacterias propias, como por ejemplo sucede con los propios antimicrobianos, y así no alteran la microbiota beneficiosa. Considerando el grupo de patógenos de alto impacto clínico, ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) las terapias antivirulentas a la fecha, tienden a dirigirse para bloquear o neutralizar: i- factores de virulencia específicos, por ejemplo, sistemas de secreción tipo 3 (T3SS) y enterotoxinas; ii- reguladores generales de virulencia y señaladores, por ejemplo los sistemas de dos-componentes y

quorum sensing (QS), como acetilasas y lactonasas; iii- proteínas implicadas en sistemas de defensa frente al huésped y antibióticos, por ejemplo cápsulas, y biofilms. El bloqueo de estas dianas tiene pues como objetivo prevenir y erradicar la infección tanto *in vitro* como *in vivo*. (Benjamin R, 2018). Es pues una estrategia a considerar en el futuro, aunque a la fecha tiene escaso desarrollo clínico.

-Anticuerpos: históricamente esta estrategia tiene su origen en los trabajos de Von Behring y Kitasato en el siglo XIX usando sangre de conejos para neutralizar toxinas. Posteriormente la terapia con suero fue usada para tratar diversas enfermedades infecciosas. En la actualidad, y con el desarrollo de la inmunología y la biología molecular esta opción ha sido sustituida por el uso de anticuerpos específicos contra patógenos concretos, o algunos de sus componentes. Hay ensayos clínicos en marcha evaluando el uso de los mismos frente a infecciones severas causadas por *S. aureus* o *P. aeruginosa*. Recientemente, y dentro de la 11th convocatoria del IMI (Innovative Medicines Initiative) en 2013, el subtopic 6A está orientado a la investigación epidemiológica y al desarrollo clínico de un nuevo anticuerpo IgG biespecífico, BiS4aPa ,orientado a la prevención de infecciones serias causadas por *P. aeruginosa*. Este anticuerpo reconocería dos diferentes dianas, PsI (exopolisacárido) y PcrV (sistema de secreción tipo 3-T3SS) y el proyecto pretendería evaluar en una prueba de concepto en fase 2 la seguridad, eficacia y farmacocinética del mismo. Sería pues un ejemplo de un abordaje inmunológico para el tratamiento/prevenición de infecciones por *P. aeruginosa*.

-Probióticos: son microorganismos vivos que proporcionan beneficios para la salud del huésped si se administran en cantidades adecuadas. Los más comunes suelen ser cepas bacterianas

(*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) o cepas fúngicas de la microbiota normal (*Saccharomyces boulardii*). Ejercen un efecto beneficioso a través de varios mecanismos, como su actividad propia antimicrobiana evitando el crecimiento de microbios patógenos, disminuyendo el pH en su ambiente local, o a través de la secreción de componentes específicos entre otros factores (Mo R et al, 2018).

-Estimulación del sistema inmune a través de vacunas: el uso de vacunas para hacer frente a las bacterias resistentes a los antibióticos es una opción a contemplar en el momento actual. Obviamente, las infecciones pueden ser evitadas con el uso preventivo de vacunas bacterianas. Es razonable, pensar que esto evitaría el uso de antimicrobianos, y por tanto impactaría en la aparición y diseminación de bacterias resistentes y sobre todo evitaría infecciones difícilmente curables de cara al futuro. Las vacunas bacterianas se usan como medida preventiva en nuestra sociedad desde hace mucho tiempo y han demostrado su incuestionable eficacia en la prevención de infecciones letales, considerándose por tanto como uno de los mayores logros en la medicina. Sería muy interesante su aplicación en los patógenos del grupo ESKAPE, entendiéndose por ello, patógenos muy problemáticos sobre todo a nivel hospitalario y con dificultades para encontrar opciones terapéuticas.

Como ejemplo, las infecciones causadas por *P. aeruginosa*. Previamente ya se ha comentado la importancia de este patógeno como un problema de salud en pacientes inmunocomprometidos y en individuos con fibrosis quística. Se está trabajando intensamente desde hace años, en el desarrollo de una vacuna contra *P. aeruginosa*, aunque a la fecha no se ha conseguido. Algunos candidatos vacunales han sido ensayados en modelos experimentales animales y humanos, entre los que se encuentran fracciones subcelulares,

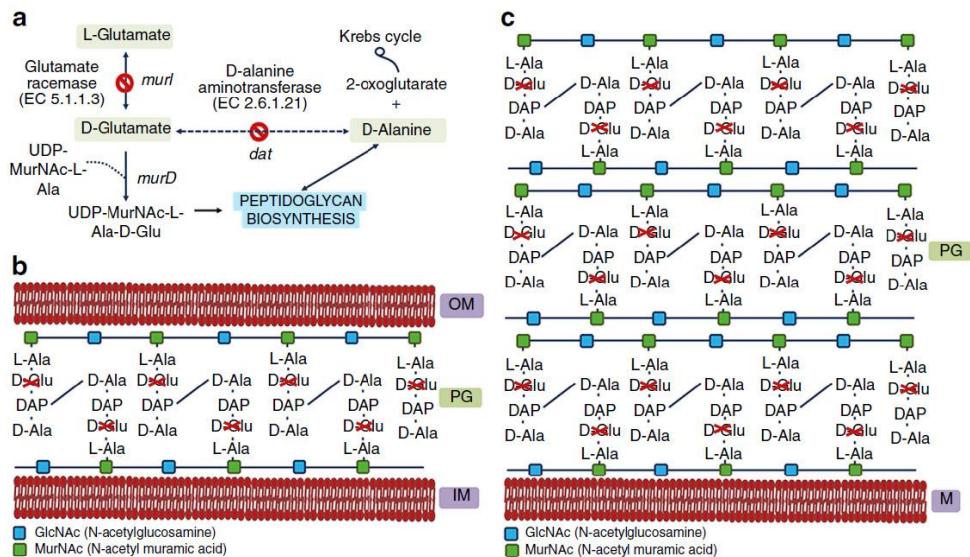
componentes capsulares, y proteínas recombinantes purificadas. Sin embargo, características propias tanto del huésped como del patógeno han complicado el desarrollo de estas potenciales vacunas (Sharma A et al, 2011).

Potenciales antígenos para el desarrollo de una vacuna para *P. aeruginosa* han incluido: LPS y polisacáridos de tipo O, el exopolisacárido mucoide (MEP), distintas proteínas de membrana externa, flagelos, pilis, factores de virulencia diversos (PcrV, exotoxina A, y proteasas), células muertas, bacterias vivas atenuadas (Δ aroA), células atenuadas de *Salmonella enterica* que expresan el antígeno O u OprF-OprI, o adenovirus como vectores que transportan OprF. Como cualquier otro antígeno, existen ventajas y limitaciones en su uso encontrándose en la actualidad, cada uno de ellos en distintas fases de desarrollo preclínico o clínico (fases I-III). Como norma general, las vacunas basadas en bacterias (células) enteras atenuadas muestran como limitaciones una virulencia residual atribuida a una posible replicación basal, mientras aquellas basadas en antígenos diversos (LPS, OMPs, proteínas de distinta naturaleza) suelen mostrar menor eficacia inmunológica. A pesar de las ventajas atribuibles a cada una de ellas: altos niveles de anticuerpos opsonizantes (LPS y poli-O), reactividad homogénea (MEP), inhibición del quorum sensing (OMPs), alta inmunogenicidad (pilis), neutralización de efectos citotóxicos (PcrV, exotoxina A, proteasas), presentación de múltiples antígenos (células muertas o atenuadas) o alta inmunogenicidad y propiedades de adyuvantes (adenovirus que expresan OprF) ninguna de ellas está comercializada o en fase de comercialización a fecha de hoy (Campodonico VL et al, 2011).

Al margen de las estrategias descritas antes en el desarrollo de una vacuna frente a *P. aeruginosa*, destacar que nuestro grupo de investigación ha desarrollado un nuevo diseño para elaboración

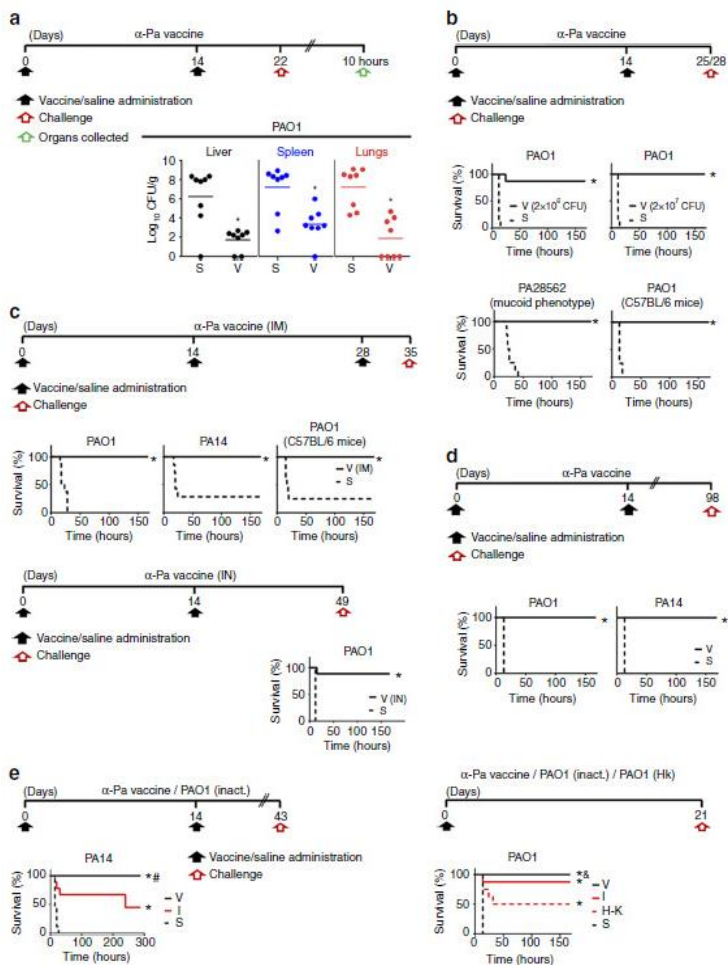
de vacunas bacterianas que se sustenta en el concepto "auxotrofia para D-Glutamato" (**Figura 14**). Para ello se eliminan de forma irreversible los genes que codifican para las isomerasas y transferasas de D-aminoácidos (genes *murI*), enzimas esenciales para la síntesis de compuestos de pared que se encuentran exclusivamente en los organismos bacterianos (Cabral MP et al, 2017). Se obtienen así cepas vivas atenuadas con crecimiento auto-limitado *in vivo*, evitando de esta manera la replicación celular descontrolada en el huésped y la consecuente enfermedad. Nuestra estrategia mantiene las ventajas de algunas de las aproximaciones anteriores (vacunas vivas atenuadas o muertas inactivadas) y elimina algunos de sus inconvenientes. Por ejemplo, el n° de dosis es menor que en una inactivada al igual que en las vivas atenuadas, así como con las dosis de recuerdo. De igual manera, la reactogenicidad es similar a las inactivadas al contrario que las vivas atenuadas que suelen mostrar alta reactogenicidad; el crecimiento bacteriano está controlado por la propia auxotrofia, al contrario de las atenuadas donde hay crecimiento microbiano. Esta última característica la que confiere sus ventajas sobre el resto de aproximaciones vacunales como son la ausencia de riesgo de enfermedad y/o transmisión, a la par que la capacidad de generar una amplia y robusta respuesta inmune humoral y celular . Esta es una ventaja importante sobre las vacunas muertas o inactivadas que se caracterizan por una pobre respuesta inmune celular.

Fig. 14. Estrategia para el desarrollo de vacunas bacterianas basadas en la auxotrofia al D-glutamato (D-Glu) (a). En b, pared celular de un Gram-negativo. En c, pared celular de un Gram-positivo. Adaptado de la ref. Cabral MP et al, 2017.



Esta estrategia, que puede catalogarse como “universal” ha sido probada también con éxito en modelos murinos preclínicos en los patógenos *A. baumannii*, *S. aureus*, y *K. pneumoniae*. En la **Figura 15** se muestra como ejemplo la eficacia de la vacuna para *P. aeruginosa* protegiendo frente a distintas cepas clínicas (MDR, hipervirulentas..) de esta especie y ensayando distintas composiciones y vías de administración. (Cabral MP et al, 2017). Esta estrategia ha sido también verificada por nuestro grupo con otros D-aminoácidos de pared celular bacteriana, revelándose también exitoso el desarrollo de vacunas bacterianas basadas en la auxotrofia para D-alanina (Moscoso D et al, 2018).

Fig. 15. Aplicación del concepto auxotrofia para D-Glu para el desarrollo de una vacuna frente a *P. aeruginosa*. Se muestra en la siguiente figura el calendario vacunal, la eficacia frente a distintas cepas con distintas vías de administración (a-d). También la eficacia comparativa respecto a formulaciones de la misma cepa inactivada (e). Adaptado de la ref. Cabral MP et al, 2017.



-Nanotecnología: el rápido desarrollo de la resistencia farmacológica a las terapias antimicrobianas actualmente disponibles a la par que los efectos secundarios adversos debidos a un uso prolongado es un grave problema de salud pública en el tratamiento de las infecciones. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de nuevas

estrategias de tratamiento. La interacción de nanoestructuras con microorganismos causantes de una infección está revolucionando rápidamente el campo biomédico al ofrecer ventajas tanto en aplicaciones diagnósticas como terapéuticas. Las nanopartículas ofrecen propiedades físicas únicas que tienen beneficios asociados para la administración de medicamentos y antibióticos, en concreto. Estos se deben principalmente al tamaño de partícula (que afecta a la biodisponibilidad y al tiempo de circulación), a una gran relación superficie/volumen (solubilidad mejorada en comparación con partículas más grandes), a la carga de superficie ajustable de la partícula con la posibilidad de encapsulación, y a una gran carga útil del fármaco que puede ser acomodado.

Estas propiedades, que son diferentes de los materiales por separado de las mismas composiciones, hacen que los sistemas de administración de fármacos en nanopartículas sean candidatos ideales para explorar, con el fin de lograr y/o mejorar los efectos terapéuticos. Esta es una opción que está barajando cada vez más para el tratamiento de las infecciones complicadas o aquellas causadas por bacterias multirresistentes (Singh L et al, 2017).

Conclusiones

A lo largo del presente discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia de Galicia, he intentado transmitir de la manera más sencilla posible la problemática actual del fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos, centrandolo en los bacilos Gram-negativos, ya que son en la actualidad los principales patógenos humanos, o al menos, los más problemáticos, sobre todo a nivel hospitalario pero también en la propia comunidad.

He revisado la situación epidemiológica, microbiológica y clínica, intentado resumir las opciones a corto y medio plazo que dispone la medicina para luchar contra esta tremenda amenaza.

REFERENCIAS

- Acosta J, Merino M, Viedma E, Poza M, Sanz F, Otero JR, Chaves F, Bou G. Multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* harboring OXA-24 carbapenemase, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17: 1064-7.
- Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL; European Survey of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill*. 2015;20.
- Alrowais H, McElheny CL, Spychala CN, Sastry S, Guo Q, Butt AA, Doi Y. Fosfomycin resistance in *Escherichia coli*, Pennsylvania, USA. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21: 2045-7.
- Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci*. 1980; 289: 321-31.
- Austrian R and Gold J. Pneumococcal bacteremia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med*. 1964; 60: 759-76.
- Beceiro A. The impressive adaptability of *Acinetobacter baumannii*: the paradigm of antimicrobial resistance. *Fighting Antimicrobial Resistance*. 2018; 19-34. Edited by Ana Budimir. IAPC Publishing.
- Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornssey M, et al. Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob Agent Chemother*. 2011;55:3370-9.

- Benjamin R. Interference in Bacterial Quorum Sensing: A Biopharmaceutical Perspective. in: M. Sonia (Ed.), 2018, pp. 203.
- Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenemase-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. J Clin Microbiol. 2000;38:3299-305.
- Cabral MP, Garcia P, Beceiro A, Rumbo C, Perez A, Moscoso M, Bou G. Design of live attenuated bacterial vaccines based on D-glutamate auxotrophy. Nature Com. 2017; 8: 15480.
- Campodonico VL, Llosa NJ, Bentancor LV, Maira-Litran T, Pier GB. Efficacy of a conjugate vaccine containing polymannuronic acid and flagellin against experimental *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. Infect Immun. 2011; 79: 3455-64.
- ClinicalTrials.gov. Efficacy, Safety, Tolerability of Carbavance. Compared to Best Available Therapy in Serious Infections Due to Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*, in Adults. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02168946>; accessed February 2017.
- ClinicalTrials.gov-b. Study of S-649266 or best available therapy for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative pathogens (CREDIBLE-CR). Available at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02714595?term%4649266&rank%42>; accessed February 2017.
- Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev. 2010; 74: 417-33.
- Diene SM, and Rolain JM. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin Microb Infect. 2014; 20: 831-8.

- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2014.
- European Centre for Disease Prevention and Control-b-. Risk assessment on the spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) through patient transfer between healthcare facilities. ECDC, 2011 [consultado 5 Feb 2014]. Disponible en: <http://www.ecdc.europa>.
- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005; 40: 1333-41.
- Falagas ME, Mavroudis AD, Kardakas KZ. *The antibiotic pipeline for multi-drug resistant Gram negative bacteria: what can we expect?* *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016; 14: 747-63
- Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomicin. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29:321-47.
- Fernandes MR, Moura Q, Sartori L, Silva KC, Cunha MP, Esposito F, et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. *Euro Surveill*. 2016;21.
- Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Vila J, Bou G, Cisneros JM, et al. Clonal diversity and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated in Spain. A nationwide multicenter study: GEIH-Ab project (2000). *Enferm Infecc Microb Clin*. 2004;22:267-71.
- Fernandez-Cuenca F, Tomas M, Caballeo F, Bou G, Martinez L, Vila J, et al. Actividad de 18 agentes antimicrobianos frente a aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii*: segundo estudio nacional multicéntrico (proyecto GEIH-REIPIAb2010). *Enferm Infecc Microb Clin*. 2013;31:4-9.

- Fleming A. 1945. Discurso Recepción Premio Nobel. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/fleming/speech>.
- Gao R, Hu Y, Li Z, Sun J, Wang Q, Lin J, et al. Dissemination and mechanism for the MCR-1 colistin resistance. *PLoS Pathog.* 2016;12:e1005957.
- García-Castillo M, Del Campo R, Morosini M, Riera E, Cabot G, Willems R, et al. Wide dispersion of ST 175 clone despite high genetic diversity of carbapenem nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains in 16 spanish hospitals. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2905-10.
- García-Salguero C, Rodríguez-Avial I, Picazo JJ, Culebras E. Can Plazomicin Alone or in Combination Be a Therapeutic Option against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*? *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59: 5959-66.
- Hungtinton JA, Sakoulas G, Umeh O, et al. Efficacy of ceftolozane/tazobactam versus levofloxacin in the treatment of complicated urinary tract infections (cUTIs) caused by levofloxacin-resistant pathogens: results from the ASPECT-cUTI trial. *J Antimicrob Chemother.* 2016. 71: 2014-21.
- Landman D, Babu E, Shah N, Kelly P, Olawole O, Bäcker M, et al. Transmission of carbapenem-resistant pathogens in New York City hospitals: Progress and frustration. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1427–31.
- Lister PD et al. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 22: 582-610.
- Livermore D, Warner M, Mushtaq S. Activity of MK-7655 combined with imipenem against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68: 2286-90.
- Lopez-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, Gonzalez-Padilla M, Rodriguez-Lopez F, Rodriguez-Bano J, et al. Characterisation of the

- first ongoing outbreak due to KPC- 3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44:538-40.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:268–81.
- McGann P, Snesrud E, Maybank R, Corey B, Ong AC, Clifford R et al. *Escherichia coli* harboring mcr-1 and blaCTX-M on a novel IncF plasmid: first report of mcr-1 in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60: 4420-1.
- Mera RM, Miller RA, Amrine-Madsen H, Sahm DF. *Acinetobacter baumannii* 2002-2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. *Microb Drug Res*. 2010. 16: 209-15.
- Miro E, Agüero J, Larrosa MN, Fernández A, Conejo MC, Bou G, et al. Prevalence and molecular epidemiology of acquired AmpC beta-lactamases and carbapenemases in *Enterobacteriaceae* isolates from 35 hospitals in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32:253-9.
- Mo R, Zhang X, Yang Y. Effect of probiotics on lipid profiles in hypercholesterolaemic adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Clin (Barc)*. 2018;pii: S0025-7753
- Moffatt JH, Harper M, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Insertion sequence ISAb11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3022-4.
- Monaco M, Giani T, Raffone M, Arena F, Garcia-Fernandez A, Pollini S, et al. Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Euro Surveill*. 2014;19.

- Moscoso M, Garcia P, Cabral MP, Rumbo C, Bou G. A D-Alanine auxotrophic live vaccine is effective against lethal infection caused by *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2018; 9: 604-20.
- Mustafa MH, Chalhoub H, Denis O, Deplano A, Vergison A, Rodriguez-Villalobos H, et al. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients through Northern Europe. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60: 6735-41.
- Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 2014; doi: 10.3389/fmiccb.2014.00643
- O'Neill J. Tackling Drug-resistant infections globally. 2016. <http://amr-review.org>.
- Organización Naciones Unidas. Tripartito Contra la Resistencia Antimicrobiana-Presentación a los Estados Miembro de las Naciones Unidas-8 Julio 2016.
- Organización Naciones Unidas. Asamblea General de Naciones Unidas, sesión especial-21 septiembre 2016. <http://www.un.org/es/comun/docs/?symbol=A/RES/71/3>.
- Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernandez-Romero S, Hernandez-Molina JM, Perez-
- Vazquez M, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:6344-7.
- Oteo J, Calbo E, Rodriguez-baño J, Oliver A, Hornero A, Ruiz-Garbajosa P, Horcajada JP, Del Pozo JL, Riera M, Sierra R, Bou G, Salavert M. La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España: documento de posicionamiento de los grupos de estudio GEIH y GEMARA de la SEIMC. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32: 666-70.

- Oteo J, Ortega A, Bartolome R, Bou G, Conejo C, Fernandez-Martinez M, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from 83 hospitals in Spain reveals high *in vitro* susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:3406-12.
- Oteo J, Bou G, Chaves F, Oliver A. Metodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017. 35: 667-675
- Oviaño M, Ramírez CL, Barbeyto LP, Bou G. Rapid direct detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in clinical urine samples by MALDI-TOF MS analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2017;7 :1350-1354
- Paño-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, Gómez-Gil R, Mora- Rillo M, Romero-Gómez MP, et al. Infections caused by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Spain in the setting of a prolonged, hospital-wide outbreak. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:89–96.
- Pastagia M, Schuch R, Fischetti VA, Huang DB. Lysins: the arrival of pathogen-directed anti-infectives. *J. Med. Microbiol.* 2013; 62: 1506–16.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:538-82.
- Pitart C, Solé M, Roca I, Fàbrega A, Vila J, Marco F. First outbreak of a plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing OXA-48 β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55: 4398–401.
- Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45:568-85.
- Prim N, Rivera A, Rodriguez-Navarro J, Espanol M, Turbau M, Coll P, et al. Detection of *mcr -1* colistin resistance gene in polyclonal

- Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. Euro Surveill. 2016;21.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007; 20: 440-58.
- Rhomberg PR, Jones RN. Contemporary activity of meropenem and comparator broad spectrum agents: MYSTIC program report from the United States component. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;57:207-15.
- Rumbo C, Fernandez-Moreira E, Merino M, Poza M, Mendez JA, Soares NC, Mosquera A, Chaves F, Bou G. Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: a new mechanism of dissemination of carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55: 3084-90.
- Savoia D. New perspectives in the management of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Future Microbiol. 2014;11:1298-306.
- Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. J Antimicrob Chemother. 2016; 71: 2066-70.
- Sharma A , Krause A, Worgall S. Recent developments for *Pseudomonas* vaccines. Hum Vaccin. 2011; 7: 999-1011.
- Sharma A, Sharma R, Bhattacharyya T, Bhandu T, Pathania R. Fosfomycin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by efflux through a major facilitator superfamily (MFS) transporter-AbaF. J Antimicrob Chemother. 2017;72:68-74.
- Shen Z, Wang Y, Shen Y, Shen J, Wu C. Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing animals. Lancet Infect Dis. 2016;16:293.
- Singh L, Kruger HG, Maguire GME, Govender T, Parboosing R. The role of nanotechnology in the treatment of viral infections. Ther Adv Infectious Dis. 2017; 4: 105–31

- Srinivasan VB, Singh BB, Priyadarshi N, Chauhan NK, Rajamohan G. Role of novel multidrug efflux pump involved in drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. PloS One. 2014;9:e96288.
- Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, de Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. Clin Microbiol Infect. 2014; Suppl 1:1–55.
- Tórtola MT, Lavilla S, Miró E, González JJ, Larrosa N, Sabaté M, et al. First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in two *Enterobacteriaceae* isolates in Spain. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:3492–4.
- Trastoy R, Blasco L, Bou G, Tomas M. Fighting antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. Fighting Antimicrobial Resistance. 2018; 1-14. Edited by Ana Budimir. IAPC Publishing.
- Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: An evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev. 2012;25:682–707.
- Viedma E, Juan C, Villa J, Barrado L, Orellana MA, Sanz F, et al. VIM-2 producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST175 clone, Spain. Emerging Infect Dis. 2012;18:1235-41.
- Villar M, Cano ME, Gato E, Garnacho J, Cisneros JM, Ruiz de Alegria C, et al. Epidemiological and clinical impact of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: A reappraisal. Medicine (Baltimore). 2014;93:202-10.
- Wagenlehner FM, Sobel JD, Newell P et al. Ceftazidime-avibactam Versus Doripenem for the Treatment of Complicated Urinary Tract

Infections, Including Acute Pyelonephritis: RECAPTURE, a Phase 3 Randomized Trial Program. *Clin Infect Dis.* 2013; 63:754-62

Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18: 306-25

Wright H, Bonomo RA, Paterson DL. New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn?. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23: 704-12.

Yoshizumi A, Ishii Y, Aoki K, et al. In vitro susceptibility of characterized β -lactamase producing Gram-negative bacteria isolated in Japan to ceftazidime-, ceftaroline-, and aztreonam-avibactam combinations. *J Infect Chemother.* 2015; 21: 148-51

CONTESTACIÓN

AL DISCURSO DE INGRESO EN LA ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA COMO ACADÉMICO DE NÚMERO DEL

Ilmo. Sr. Dr. Germán Bou Arévalo

POR LA ACADÉMICA DE NÚMERO

Ilma. Sra. Dra. Alicia Estévez Toranzo

Ilmo. Sr. Presidente de la Academia de Farmacia de Galicia

Illmos. Académicos/as

Autoridades, señores y señoras

Quiero agradecer en primer lugar a la Academia de Farmacia de Galicia por haberme encargado la contestación del discurso de toma de posesión del microbiólogo Germán Bou Arévalo como Académico Numerario ocupando la medalla No. 14.

Me gustaría comenzar haciendo un breve resumen del excelente *Curriculum Vitae* del nuevo académico Germán Bou. Natural de Alcoy (Alicante), se licencia en Farmacia por la Universidad de Valencia en 1989, obteniendo el título de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad Autónoma de Madrid en

1997. En 1998 termina la residencia de formación clínica en el Hospital Ramón y Cajal en Madrid, obteniendo de esta manera el título de Especialista en Microbiología y Parasitología. Después de realizar una estancia posdoctoral de 2 años en la Clínica Mayo (Rochester, Minesota, USA) se incorpora en 2001 al Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC) mediante un contrato de investigación Miguel Servet, en donde llega a ser Jefe de Servicio de Microbiología en 2010, cargo que desempeña en la actualidad.

Desde 2009 compagina su intensa actividad Investigadora y asistencial con la docente como Profesor Asociado de Ciencias de la salud de la Facultad de Medicina de la Universidade de Santiago de Compostela (USC), entrando a formar parte del Departamento de Microbiología e Parasitología de esta Universidad. Fue precisamente en esa época cuando empecé a conocer personalmente al nuevo Académico así como su trayectoria científica, ya que por aquel entonces desempeñaba el cargo de directora de dicho Departamento.

Desde el 2002 el Dr. Germán Bou coordina en el Instituto de Investigaciones Biomédicas (INIBIC) del CHUAC, un grupo multidisciplinar de Investigación en Microbiología formado por unas 20 personas (IPs, postdocs, predocs y técnicos) que se articula alrededor de diferentes líneas de investigación:

- Estudio de los mecanismos de resistencia a antibióticos
- Epidemiología de enfermedades infecciosas hospitalarias
- Estudio de los mecanismos de patogenicidad microbiana.
- Diagnóstico rápido de microorganismos multirresistentes
- Diseño y desarrollo de vacunas bacterianas

El Grupo de Investigación que dirige Germán Bou ha sido reconocido desde el 2016 como Grupo de Referencia Competitiva de la Xunta de Galicia.

El nuevo Académico es autor de más de 200 artículos en revistas de elevado índice de impacto que han recibido 16.529 citas, lo que se refleja en un índice h de 55. Ha sido inventor o co-inventor de 8 patentes en relación a técnicas rápidas de diagnóstico en Microbiología y desarrollo de vacunas bacterianas y ha dirigido más de 30 proyectos científicos a nivel autonómico, nacional o europeo. Posee también numerosos contratos con empresas privadas del sector como Pfizer, MSD, Roche, Soria-Melguizo, Biofabri, etc. Ha dirigido 13 Tesis Doctorales y diversos trabajos de investigación tutelados, ha sido invitado a impartir numerosas ponencias en centros de investigación nacionales e internacionales, es miembro del comité editorial de diversas revistas de prestigio (i.e., *Journal of Clinical Microbiology*) y ha formado parte de numerosos comités de evaluación de programas. Fue seleccionado en 2016 como investigador principal dentro de un programa de investigación traslacional financiado por la Obra Social la Caixa, conducente a la creación de una spin-off. En la actualidad es el coordinador del programa de Resistencias a Antimicrobianos dentro de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa.

Entre los muchos reconocimientos conseguidos por el Dr. Bou se puede destacar:

El Premio del comité organizador de la Conferencia Interciencia en el área de la resistencia a quimioterápicos (“*ICAAC, Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Program Committee Award*”) concedido en 2010 por la Sociedad Americana de Microbiología.

El título Honorífico en el 2017 concedido por la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID) por su excelente carrera profesional y su gran servicio a la sociedad.

En el excelente Discurso del nuevo Académico, se ha presentado una revisión de los abordajes terapéuticos y biotecnológicos para luchar contra las principales bacterias multirresistentes a los antibióticos, como son diferentes miembros de Enterobacterias (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*.), *Pseudomonas aeruginosa* y *Acineobacter baumannii*, las cuales pertenecen a las denominadas “superbacterias”. Asimismo, se ha expuesto cuales son los mecanismos emergentes de resistencia que utilizan estas bacterias frente a los quimioterápicos más empleados en la actualidad.

Queda claro por todo lo expuesto que una de las amenazas más grandes para la humanidad es la creciente incapacidad de los antibióticos para combatir con éxito las infecciones bacterianas. La necesidad de abordar este problema de forma multidisciplinar se basa no sólo en el número elevado de muertes anuales sino también en los costes económicos estimados que pueden llegar a ser tan altos como 100 billones de dólares.

Hay que tener en cuenta que los antibióticos se emplean no sólo en clínica humana sino también en animales y agricultura. Concretamente el 70% del volumen total de antibióticos están siendo usados en ganadería. Por tanto, es evidente que el problema de la resistencia a antibióticos es un fenómeno global ya que las relaciones entre las personas, animales y medio ambiente terrestre y acuático, facilitan la propagación de las bacterias resistentes de un hospedador a otro.

Además, una gran parte de los antimicrobianos permanecen activos en el medio ambiente durante prolongados periodos de tiempo, que en algunos casos puede exceder el año. Es conocido que la presencia de residuos antimicrobianos activos a baja concentración durante prolongados periodos de tiempo en el ambiente es una de las principales presiones selectivas para el desarrollo de resistencias antimicrobianas en las bacterias que residen en el suelo, sedimentos y agua. Por todo ello, es importante identificar los llamados “*hot-spots*” o puntos donde tiene lugar el mayor intercambio de genes de resistencia en bacterias en el ambiente. Precisamente, el estudio del resistoma, es decir el conjunto de genes de resistencia en las poblaciones microbianas, mediante metagenómica funcional, está facilitando estos estudios y demostrando claramente el flujo bidireccional de genes de resistencia desde animales de granja a humanos y viceversa, a través de bacterias del suelo y del agua.

Como ya se ha recordado en el discurso, es conocido que las bacterias pueden adquirir resistencias por mutación o por transferencia horizontal de genes mediante los procesos clásicos de transformación, transducción y conjugación. En dicha transferencia horizontal, los genes se insertan en elementos genéticos móviles (ie., plásmidos, transposones) que la célula bacteriana replica con su genoma principal. Quiero destacar que a estos procesos de transferencia horizontal, que constituyen el principal motor de la difusión de resistencias a antibióticos, hay que añadirle el nuevo mecanismo descrito en el patógeno *Acinetobacter baumannii* por el Grupo del nuevo Académico, el cual supone la dispersión de genes asociados a vesículas de membrana externa de pared (OMVs) .

Entre las necesidades urgentes de investigación para abordar esta problemática se encuentran: el descubrimiento y diseño de nuevos antibióticos, la búsqueda de nuevas alternativas de terapias

un poco olvidadas desde la “era milagrosa de los antibióticos”, como es el caso de la terapia fágica y, desde luego, el desarrollo de nuevas medidas de prevención eficaces ya que como dijo Hipócrates “prevenir es preferible a curar”.

Como ha comentado el Dr. Germán Bou, entre las estrategias para el diseño de nuevos compuestos antimicrobianos, se encuentran las denominadas “terapias antivirulentas”, muchas de las cuales, según los biólogos evolutivos, estarían orientadas a intentar desbaratar la vida social de las bacterias (“sociomicrobiología”).

Según la sociomicrobiología, los microorganismos viven hacinados en comunidades donde la comunicación y la cooperación abundan. Si tomamos como ejemplo la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, causante de graves infecciones pulmonares, cuando una de ellas penetra en un hospedador, lanza moléculas señalizadoras que otros miembros de su especie captan por medio de receptores especiales. Cuando las bacterias perciben la presencia de un número suficiente de células comienzan a segregar moléculas que acaban formando una biopelícula adherida al epitelio pulmonar en el que quedan inmersas estas bacterias, protegidas así del ataque de los antibióticos y de las células inmunitarias. Este fenómeno de comunicación es el denominado en Microbiología como “*Quorum Sensing*”. Pero *Pseudomonas* también coopera para obtener nutrientes esenciales para su crecimiento, como es el caso del hierro que se encuentra atrapado en la hemoglobina y otras moléculas. Para ello, las células de esta bacteria liberan sideróforos que son capaces de secuestrar el hierro de dichas moléculas. Pero este esfuerzo es cooperativo ya que los sideróforos que este patógeno capta es fabricado por los millones de células vecinas. Por tanto, la sociomicrobiología pone de relieve que en lugar de combatir células bacterianas de forma individual, hay que combatir sus bienes

comunes, ya que según la teoría de la evolución, las bacterias serán menos proclives a generar resistencia contra los llamados fármacos antisociales.

Dada la extraordinaria capacidad de los microorganismos para generar tarde o temprano resistencias a las nuevas terapias que se vayan diseñando, el desarrollo de nuevas vacunas para hacer frente a las bacterias resistentes es uno de los retos actuales más importantes que es necesario potenciar. Puesto que las nuevas vacunas han de estimular el sistema inmune a largo plazo, con una buena relación coste/beneficio, las vacunas vivas atenuadas con crecimiento auto-limitado “*in vivo*”, tales como los mutantes auxotrofos obtenidos por intercambio alélico, son candidatas valiosas para este fin. Espero que esta estrategia desarrollada por el grupo de Germán Bou para la prevención de las infecciones por *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *K. pneumoniae* pueda llegar pronto al uso clínico.

Por todo lo expuesto, es un placer recibir a Germán Bou Arévalo como nuevo Académico Numerario de la Academia de Farmacia de Galicia, a la que también felicito por tan excelente incorporación. Estoy segura, Germán, que contribuirás con tu dedicación y conocimiento, a que la Academia de Farmacia de Galicia cumpla la misión principal que se le encomienda, de servicio a la ciencia y a la sociedad contribuyendo a su progreso.

Muchas gracias