

ELS β -LACTÀMICS

ELISENDA MIRÓ, ALBA RIVERA I RAÚL-JESÚS MESA

Servei de Microbiologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Adreça per a la correspondència: Elisenda Miró. Servei de Microbiologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Sant Antoni M. Claret, 167. 08025 Barcelona.

Adreça electrònica: *emiro@santpau.es*.

RESUM

Els β -lactàmics són la família més àmplia dins l'arsenal terapèutic i la més usada tant per l'ampli espectre d'acció com per les seves bones propietats farmacocinètiques. La seva acció és relativament independent de la concentració plasmàtica, tenen una baixa toxicitat i un ampli marge terapèutic. Es classifiquen en penicil·lines, cefalosporines, monobactams i carbapenems, però tots tenen en comú l'anell β -lactàmic, essencial per a l'acció. Són agents bactericides que actuen unint-se covalentment amb les PBP, enzims implicats en la síntesi de la paret bacteriana. El seu espectre d'activitat inclou els bacteris grampositius i gramnegatius, però no rickettsies, micoplasmes ni micobacteris. Com a mecanismes de resistència s'han descrit alteracions en les PBP que disminueixen l'afinitat de la PBP per l'antibiòtic, alteracions en la permeabilitat celular, els sistemes d'expulsió activa i la producció de β -lactamases. La resistència als β -lactàmics ha esdevingut un problema d'ençà que es van introduir en la pràctica clínica. El seu espectre d'activitat ha anat incrementant al llarg dels anys amb la incorporació de noves molècules, les quals superaven els mecanismes de resistència ja existents. Tanmateix, la progressiva adquisició de nous mecanismes ha limitat l'ús empíric dels β -lactàmics i la seva eficàcia en certes situacions.

Paraules clau: β -lactàmics, mode d'acció, mecanismes de resistència.

SUMMARY

β -lactam antibiotics are among the most commonly used antimicrobial agents. These agents have very favourable pharmacokinetic properties. Their action is relatively independent of plasma concentration, little toxicity and a broad therapeutic margin. They include penicillins, cephalosporins, monobactams, and carbapenems. All of them have a β -lactam ring, which is essential for antibacterial activity. β -lactam antibiotics are bactericidal because they act on PBPs, which are involved in bacterial cell-wall synthesis. Their spectrum of activity included Gram-positive and Gram-negative bacteria, but not mycoplasmae, rickettsiae and mycobacteria. The mechanism of resistance to β -lactams involved mutations in PBPs resulting in reduced affinity for β -lactam antibiotics, reduced uptake due to changes in the cell wall, active efflux, and

β -lactamase production. Resistance to β -lactam antibiotics has been a problem for as long as these drugs have been used in clinical practice. Their spectrum has increased over the years with the incorporation of new molecules having greater activity against gram-negative bacilli. Nevertheless, the progressive emergence of acquired resistance has limited the empirical use of β -lactams and their efficacy in certain situations.

Keywords: β -lactams, action, resistance mechanisms.

INTRODUCCIÓ

La història dels β -lactàmics comença l'any 1928 quan Fleming va descobrir la penicillina G a partir d'una soca de *Penicillium notatum*. No és, però, fins el 1941 quan es comença a comercialitzar la penicillina i a desenvolupar-se la recerca per a la síntesi de noves molècules que n'ampliessin l'espectre antibacterià i en milloressin les propietats farmacocinètiques. Actualment, la família dels β -lactàmics és la més nombrosa dins l'arsenal terapèutic, ja que inclou les penicil·lines, les cefalosporines, els monobactams i els carbapenems, i es caracteritza per un ampli espectre antibacterià (Sahm *et al.*, 1985; Donowitz i Mandell, 1988; Livermore, 1996; Marín i Gudiol, 2003).

ESTRUCTURA I CLASSIFICACIÓ DELS ANTIBIÒTICS β -LACTÀMICS

El nom de la família dels β -lactàmics s'explica per la presència de l'anell β -lactàmic en la seva estructura química (vegeu la figura 1). La unió d'aquest anell a un de secundari origina els diferents grups descrits dins la família (vegeu la taula 1), i condiciona el seu espectre d'acció i les seves propietats farmacocinètiques.

Les *penicil·lines* són un grup d'antibiòtics naturals i semisintètics, derivats de l'àcid 6-aminopenicil·lànic, constituït per un anell β -lactàmic i tiazolidina, a més d'una cadena lateral en posició 6 que defineix l'espectre antimicrobià i les propietats farmacològiques de cada un dels components d'aquest grup.

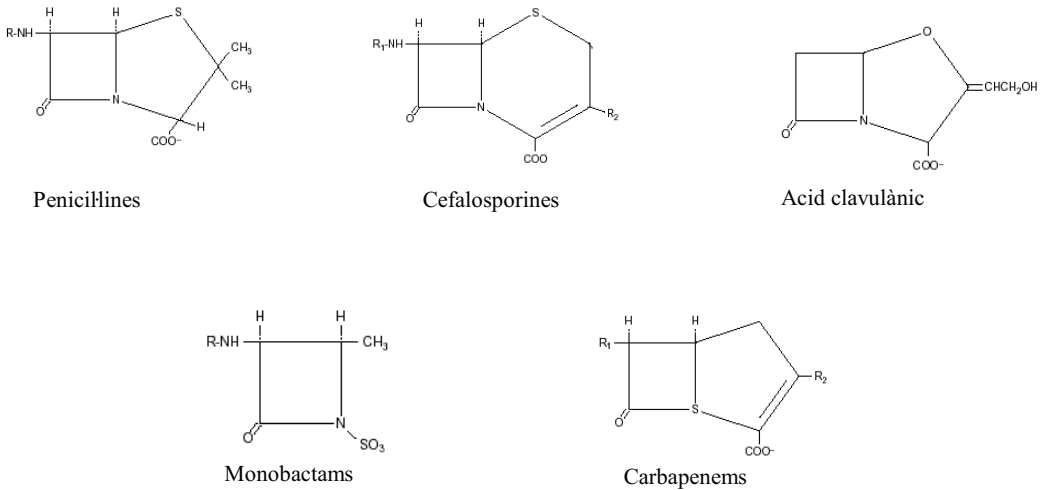
El grup dels *inhibidors de β -lactamases* amb

ús clínic el componen l'àcid clavulànic, el sulbactam i el tazobactam. En l'àcid clavulànic, l'àtom de sulfur de l'anell tiazolidínic és substituït per un oxigen, i el sulbactam i tazobactam presenten una oxidació del sulfur present a l'anell β -lactàmic.

Les *cefalosporines* es classifiquen en generacions d'acord amb el desenvolupament històric i l'espectre antimicrobià. A més, s'inclouen altres grups de compostos químicament diferents, com les cefamicines, els carbacefems i els oxacefems. El nucli de les cefalosporines és l'àcid 7-aminocefalosporànic, format per la fusió dels anells β -lactàmic i dihidrotiazínic. Les diferències en l'espectre d'activitat i propietats farmacològiques dels membres d'aquest grup resulten de les substitucions de les cadenes laterals situades en les posicions 3 i 7. Les *cefamicines* comparteixen el mateix nucli però presenten un radical metoxi en posició 7. En els *carbacefems*, l'àtom de sulfur de l'anell dihidrotiazínic és substituït per un carboni d'un grup metilè, i en els *oxacefems* l'àtom de sulfur és substituït per un oxigen.

Els *monobactams* són compostos monocíclics, derivats de l'àcid 3-aminomonobactàmic, en què el nitrogen de l'anell β -lactàmic es troba unit a un radical sulfònic que activa el nucli.

Finalment, els *carbapenems* presenten la fusió de l'anell β -lactàmic, en què el sulfur és substituït per un grup metilè, i l'anell pirrolínic. Les substitucions químiques de les cadenes laterals i la disposició espacial d'aquestes condiciona una gran afinitat per les proteïnes fixadores de penicillina (PBP) d'un ampli rang de bacteris, i la resistència a la major part de β -lactamases.

FIGURA 1. Estructura química dels β -lactàmics.

MECANISME D'ACCIÓ

Els antibiòtics β -lactàmics són agents bactericides que inhibeixen la síntesi del peptidoglicà, principal component estructural de la paret bacteriana; per això la seva acció bactericida només es produeix quan les cèl·lules estan en fase de creixement.

El peptidoglicà és constituït per cadenes llargues i paral·leles d'oligosacàrids que alternen residus d'àcid N-acetilglucosamínic (GlcNAc) amb residus d'àcid N-acetilmuràmic (MurNAc), ambdós units per enllaços β -(1-4). A cada unitat de MurNAc es troba unida la cadena lateral d'un tetrapèptid. Les cadenes paral·leles d'oligosacàrids es troben unides transversalment per cadenes polipeptídiques curtes diferents segons l'espècie (Lorian, 1991).

La síntesi del peptidoglicà es podria dividir en tres fases. En la primera es produeix la síntesi dels precursors de la paret i té lloc al citoplasma. En la segona, els precursors del peptidoglicà, en forma de GlcNAc-MurNAc-pentapèptid-fosfolípid, surten cap a l'exterior de la membrana citoplasmàtica mitjançant la intervenció d'un fosfolípid transportador. I, en la tercera fase, que té lloc a

la paret, es produeix l'acoblament i creixement del peptidoglicà. En aquesta darrera fase intervien tres enzims: les transglicosilases, encarregades de la unió del GlcNAc-MurNAc-pentapèptid al peptidoglicà mitjançant enllaços β (1-4), les transpeptidases, que formen els ponts interpeptídics que estableixen la unió entre les cadenes d'oligosacàrids i les D,D-carboxipeptidases, que regulen la síntesi del peptidoglicà i impedeixen la transpeptidació. Alguns d'aquests enzims que catalitzen les reaccions d'unió entre els diferents polímers que constitueixen el peptidoglicà són anomenats genèricament *PBP* (*penicillin-binding proteins*), per la capacitat d'unir-se covalentment a l'anell β -lactàmic (Lorian, 1991).

La majoria de bacteris produeixen diferents PBP, que difereixen pel seu pes molecular, per l'afinitat als β -lactàmics o per la seva funció fisiològica com a transpeptidases, carboxipeptidases o endopeptidases.

El mecanisme pel qual els β -lactàmics lisen el bacteri és complex i no està del tot elucidat. S'ha proposat que el grup $-\text{CO}-\text{N}$ de l'anell β -lactàmic funciona com un anàleg estructural del substrat de les PBP implicades en la reac-

TAULA 1. Classificació dels β -lactàmics

Classe	Grup	β -lactàmic i via d'administració
<i>Penicil·lines</i>	Penicil·lines naturals	Penicil·lina G, ^{im, iv} penicil·lina V ^o
	Aminopenicil·lines	Ampicil·lina, ^{iv} amoxicil·lina ^o
	Ureidopenicil·lines	Mezlocil·lina, ^{im, iv} piperacil·lina ^{iv}
	Carboxipenicil·lines	Carbenicil·lina, ^{im, iv} ticarcil·lina ^{im, iv}
	Penicil·lines isoxazòliques	Oxacil·lina, ^{iv, o} cloxacil·lina, ^o dicloxacil·lina ^o
<i>Inhibidors de β-lactamases</i>	Àcid clavulànic	Amoxicil·lina-àcid clavulànic, ^{iv, o} ticarcil·lina-àcid clavulànic ^{iv}
	Sulbactam	Ampicil·lina-sulbactam ^{iv, o}
	Tazobactam	Piperacil·lina-tazobactam ^{iv}
<i>Cefalosporines</i>	Cefalosporines 1a generació	Cefazolina, ^{im, iv} cefalotina, ^{iv} cefradina, ^{im, iv, o} cefalexina, ^o cefradoxil ^o
	Cefalosporines 2a generació	Cefuroxima, ^{im, iv} cefamandole, ^{im, iv} cefaclor, ^o cefuroxima axetil ^o
	Cefalosporines 3a generació	Cefotaxima, ^{im, iv} ceftriaxona, ^{im, iv} ceftazidima, ^{im, iv} cefoperazona ^{im, iv}
		Cefibutè, ^o cefixima, ^o cefpodoxima, ^o cefdinir ^o
	Cefalosporines 4a generació	Cefepima, ^{im, iv}
	Cefamicines	Cefoxitina, ^{im, iv} cefotetan ^{im, iv}
	Oxacefems	Moxalactam ^{im, iv}
	Carbacefems	Loracarbef ^o
<i>Monobactams</i>		Aztreonam ^{im, iv}
<i>Carbapenems</i>		Imipenem, ^{iv} meropenem, ^{iv} ertapenem ^{iv}

Im: intramuscular; iv: parenteral; o: oral.

ció d'entrecruament (transpeptidació entre el pèptid del peptidoglicà naixent i el del peptidoglicà acceptor). El β -lactàmic es combina al centre actiu de la transpeptidasa i dona lloc a un complex enzim- β -lactàmic inactiu i força estable.

La inhibició o disminució de la síntesi de la capa de peptidoglicà juntament amb reaccions que desencadenen l'alliberament d'autolisines (amidases i glucosidases) encarregades de degradar la capa del peptidoglicà fa que el bacteri acabi lisant-se per l'acció de tots aquests factors. No obstant això, el mecanisme precís pel qual aquests agents lisen els bacteris sensibles continua sent poc clar (Tomasz, 1979; Spratt, 1983).

L'activitat antibacteriana dels β -lactàmics seria, doncs, fruit de la unió covalent de l'antibiòtic amb el centre actiu de la PBP, i s'establiria una competència que interferiria amb el procés normal de transpeptidació o carboxipeptidació (la transglicosilació no es veu afectada pels β -lactàmics) que es tradueix en

una paret cel·lular defectuosa que pot acabar lisant-se.

ESPECTRE D'ACTIVITAT

L'espectre d'activitat dels β -lactàmics inclou els bacteris gramnegatius, grampositius i espiroquetes. No són actius davant els bacteris intracel·lulars com *Chlamydia* o *Rickettsia*, els micoplasmes o els micobacteris.

De les *penicil·lines naturals* (penicil·lina G, penicil·lina V) cal destacar que han estat àmpliament utilitzades des de la seva introducció però les seves indicacions clíniques són cada vegada més limitades per l'aparició de microorganismes resistents. Són actives davant els estreptococs, especialment els estreptococs beta-hemolítics (*Streptococcus pyogenes* i *S. agalactiae*), pneumococs, encara que actualment existeix un alt percentatge de soques resistents, meningococs, gonococs (excepte les soques productores de β -lactamasa), *Corynebac-*

terium diptheriae, *Bacillus anthracis*, *Pasteurella multocida*, *Treponema pallidum*, *Actinomyces israelii* i bacteris anaerobis amb l'excepció dels productors de β -lactamases. Les aminopenicil·lines (ampicil·lina, amoxicil·lina) incrementen l'espectre en alguns bacils gramnegatius com *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* i *Shigella* i són més actives que les penicil·lines naturals contra els enterococs, listèries i hemòfils. Les carboxipenicil·lines (ticarcil·lina) i ureidopenicil·lines (piperacil·lina) es caracteritzen per la seva activitat davant *Pseudomonas aeruginosa* i alguns enterobacteris resistents a aminopenicil·lines. Les ureidopenicil·lines presenten, a més, una bona activitat davant els bacteris anaerobis. Les penicil·lines isoxazòliques resistents a penicil·linases (cloxacil·lina, oxacil·lina) són els antimicrobians d'elecció en el tractament d'infeccions produïdes per estafilococs productors de penicil·linasa. Els inhibidors de β -lactamases (àcid clavulànic, sulbactam, tazobactam) presenten escassa activitat antibacteriana intrínseca però inhibeixen l'activitat enzimàtica. S'utilitzen en combinació amb penicil·lines, les quals protegeixen de la hidròlisi produïda pels enzims i recuperen d'aquesta manera l'activitat del β -lactàmic perduda per acció de les β -lactamases. Les combinacions més utilitzades en clínica són amoxicil·lina-àcid clavulànic, ampicil·lina-sulbactam, ticarcil·lina-àcid clavulànic i piperacil·lina-tazobactam. Les cefalosporines de primera generació (cefalotina, cefazolina) són actives davant cocs grampositius, incloent-hi estafilococs productors de penicil·linasa, *E. coli*, *Klebsiella* sp. i *P. mirabilis*. Les cefalosporines de segona generació (cefuroxima, cefamandole) constitueixen un grup heterogeni amb espectre d'activitat variable. En general, presenten una major activitat davant els bacils gramnegatius com *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* i alguns enterobacteris, a causa de la resistència davant les β -lactamases dels gramnegatius. Les cefamicines (cefexitina, cefmetazole), presenten un espectre similar al de les de segona generació però tenen una marcada activitat davant els

bacteris anaerobis. De les cefalosporines de tercera generació, cefotaxima, ceftriaxona i cefixima són actives davant els enterobacteris, estreptococs, *H. influenzae* i neissèries, mentre que de ceftazidima i cefoperazona es destaca la seva activitat davant *P. aeruginosa*. Les cefalosporines de quarta generació (cefepima) mostren activitat davant els enterobacteris i *P. aeruginosa* resistents a cefalosporines de tercera generació per hiperproducció de la β -lactamasa cromosòmica. També són actives contra els estreptococs i estafilococs, però en aquests darrers l'activitat és inferior a la de les cefalosporines de primera generació. Totes les cefalosporines són inactives davant els enterococs, listèries i estafilococs resistents a la meticil·lina (MRSA). L'espectre de l'aztreonam, únic monobactam amb ús clínic, es limita a bacils gramnegatius aerobis facultatius. Finalment, els carbapenems són els β -lactàmics de més ampli espectre, que inclou bacteris gramnegatius i grampositius, aerobis i anaerobis. Són actius davant els enterobacteris productors i no productors de β -lactamases, *P. aeruginosa* i d'altres bacils gramnegatius no fermentadors com *Acinetobacter*, hemòfils productors i no productors de β -lactamases, estafilococs excepte els resistents a meticil·lina, estreptococs, pneumococs, enterococs excepte els resistents a ampicil·lina i de bacteris anaerobis com bacteroides, clostridis i fusobacteris.

FARMACOCINÈTICA

Els β -lactàmics assoleixen ràpidament concentracions plasmàtiques elevades per via parenteral, i l'absorció a través del tracte gastrointestinal és variable per als diferents compostos: en general s'obtenen pics sèrics d'una a dues hores després de la ingestió. La unió a proteïnes plasmàtiques presenta valors compresos entre el 10 % per a carbapenems i el 98 % per a cloxacil·lina. La semivida pren valors entre mitja i dues hores, encara que la d'alguns compostos com la ceftriaxo-

na és de 8-9 hores, amb la qual cosa es pot administrar amb intervals de vint-i-quatre hores. Presenten una bona distribució en teixits i fluids corporals; la penetració a través de la barrera hematoencefàlica s'afavoreix quan existeix inflamació meníngia, i s'obtenen concentracions terapèutiques principalment amb cloxacilina i cefalosporines de tercera i quarta generació. La penetració intracel·lular és escassa atès que són substàncies poc lipofíliques. La major part de compostos no es metabolitzen, a excepció de la cefalotina i la cefotaxima, que sofreixen desacetilació, i de l'imipenem, que és desactivat per les hidroxipeptidases renals, raó per la qual s'administra amb cilastatina. L'excreció es produeix majoritàriament per via renal, encara que en alguns preparats com la cefoperazona i la ceftriaxona predomina l'excreció biliar.

MECANISMES DE RESISTÈNCIA

Com en d'altres famílies d'antimicrobians, són diversos els mecanismes de resistència que han desenvolupat els bacteris per fer front als β -lactàmics. Aquests mecanismes poden presentar-se sols, però cada vegada pren més força la hipòtesi que són diversos els mecanismes implicats en una mateixa resistència.

Un dels mecanismes de resistència són les alteracions gèniques en les PBP, que confereixen resistència perquè, per una banda, disminueixen l'afinitat de la PBP per l'antibiòtic i, per l'altra, la PBP pot mantenir, en part, la seva funció fisiològica (Georgopapadaku, 1993). Aquest mecanisme de resistència és més freqüent en grampositius com *Staphylococcus aureus* resistent a la meticilina (Katayama *et al.*, 2004), *Streptococcus pneumoniae* (Pàglieri *et al.*, 2004) o *Enterococcus* (Arbeloa *et al.*, 2004). Però també en gramnegatius com *H. influenzae* (Mendelman *et al.*, 1984), neissèries (Dougherty *et al.*, 1980) o *P. mirabilis* (Neuwirth *et al.*, 1995), quan el mecanisme no és la producció de β -lactamasa.

La presència en els bacteris gramnegatius d'una membrana externa és ja una barrera per a l'actuació de molts antimicrobians. Un exemple són els bacils gramnegatius no fermentadors, com *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas maltophilia* o *Acinetobacter baumannii*, que presenten una resistència intrínseca a la major part de β -lactàmics, atesa la composició de la seva membrana externa (Hancock, 1997).

Els β -lactàmics són majoritàriament molècules hidrofíliques que necessiten un canal proteic per a travessar la membrana externa. Aquests canals proteics, anomenats genèricament OMP (*outer membrane protein*) s'agrupen en diferents famílies (Yen *et al.*, 2002), però a grans trets es classifiquen en funció de l'especificitat que tenen pel substrat. Així, tenim les proteïnes mínimament selectives, les selectives (perquè tenen un lloc específic de reconeixement dins el canal) i les que són altament específiques (Hancock, 1997). Les proteïnes implicades en la resistència als antimicrobians acostumen a pertànyer a les mínimament selectives. Han estat moltes les descripcions d'alteracions en la permeabilitat cel·lular en enterobacteris que, juntament amb d'altres mecanismes de resistència, principalment la producció de β -lactamases, confereixen resistència a la pràctica totalitat de β -lactàmics (Chow i Shlaes, 1991; Raimondi *et al.*, 1991; Miró *et al.*, 1995; Mainardi *et al.*, 1997; Weindorf *et al.*, 1998). També cal citar l'exemple, en *P. aeruginosa*, de l'alteració de la porina OprD, proteïna altament selectiva, que confereix resistència a l'imipenem (carbapenem) (Wolter, 2004).

Tanmateix, les alteracions que disminueixen la permeabilitat de la membrana no confereixen resistència per si mateixes sinó que normalment hi ha altres mecanismes implicats, com l'expressió de β -lactamases o la presència de sistemes d'expulsió activa (Hancock, 1997; Fernández-Cuenca *et al.*, 2003; Miró *et al.*, 2004).

Els sistemes d'expulsió activa són proteïnes de transport implicades en l'expulsió de subs-

tàncies tòxiques. Es troben tant en bacteris grampositius com gramnegatius. Els gens que codifiquen aquestes proteïnes poden formar part d'un operó, amb un sistema de regulació gènica on un increment de l'expressió comporta un increment en la resistència. També s'han descrit en plasmidis, l'expansió dels quals afavoreix l'expansió de la resistència. Aquests sistemes han estat ben estudiats en *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Salmonella enterica*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae* i *S. aureus* i, encara que confereixen principalment resistència a quinolones, també afecten la sensibilitat d'altres famílies d'antimicrobians com els β -lactàmics (Webber i Piddock, 2003; Miró *et al.*, 2004).

El principal mecanisme de resistència a β -lactàmics és, però, la producció de β -lactamases, que es troben en els microorganismes, ja sigui de manera natural o adquirida. La majoria d'enterobacteris, a excepció de *Salmonella* i probablement *P. mirabilis*, codifiquen al seu cromosoma una β -lactamasa, i hi ha una correlació entre el tipus de β -lactamasa i l'espècie bacteriana.

Les β -lactamases són enzims que es postula que deriven de les PBP, amb les quals guarden similitud seqüencial i estructural. La seva funció original podria haver estat participar en la síntesi de la paret bacteriana (Pérez-Llanera, 1997) o fer de protector en aquells microorganismes que produeixen β -lactàmics (Cundliffe, 1989). La desactivació del β -lactàmic per part de la β -lactamasa resulta de la unió no covalent amb l'enzim, el qual hidrolitza l'enllaç amida de l'anell β -lactàmic, i en resulta un derivat àcid inactiu. Els gens que codifiquen β -lactamases poden trobar-se al cromosoma o en plasmidis i, en aquest darrer cas, poden formar part d'estructures mòbils, com els transposons, o d'integrans, estructures amb la capacitat d'integrar nombrosos gens. Tanmateix, s'han descrit enzims de localització plasmídica que en segons quina espècie tenen una localització cromosòmica, com és el cas de la β -lactamasa plasmídica

SHV-1 que es troba al cromosoma de la majoria de les *Klebsiella pneumoniae* o, a l'inrevés, enzims de localització cromosòmica que han passat a formar part d'elements mòbils, com és el cas de les cefamicinases plasmídiques que deriven de les β -lactamases cromosòmiques d'*Enterobacter*, *Citrobacter* i *Morganella morganii*. Així, pot observar-se que en aquest mecanisme de resistència existeix una gran mobilitat entre diferents espècies bacterianes i diferents zones geogràfiques, principalment, a causa de la presència de diferents elements mòbils i a la pressió selectiva que exerceixen els antibiòtics.

D'ençà la seva aparició són múltiples les classificacions de β -lactamases que han sorgit. Actualment se n'usen dues: la classificació d'Ambler (Ambler, 1980), basada en la seqüenciació proteica del gen estructural de la β -lactamasa, i la classificació de Bush, Jacoby i Medeiros, basada en els caràcters funcionals d'aquests enzims, perfil d'hidròlisi de diferents substrats, si són o no inhibits per l'àcid clavulànic, o necessiten ions com el zinc per a ser actius i, per tant, no presenten activitat quan hi ha l'EDTA (quelant de ions) (Bush *et al.*, 1995). Ambdues classificacions estan correlacionades (vegeu la taula 2).

En el grup 1 de Bush, s'inclouen les β -lactamases de classe C d'Ambler caracteritzades per hidrolitzar la majoria de β -lactàmics excepte l'imipenem, i es remarca el fet diferencial que són capaces d'hidrolitzar les cefamicines (cefexitina) i no s'inhibeixen amb l'àcid clavulànic. Inicialment, en aquest grup tots els enzims eren d'origen cromosòmic, però darrerament han aparegut les anomenades cefamicinases plasmídiques, que són enzims que deriven de les primeres i que presenten les mateixes característiques fenotípiques, hidrolitzen la cefexitina (excepte les ACC) i no són inhibides per l'àcid clavulànic (excepte MOX).

El grup 2 és format per sis subgrups (2a, 2b, 2c, 2d, 2e i 2f), tots de la classe A d'Ambler excepte el 2d, que pertany a la classe D. En el subgrup 2a es descriuen les penicil·linases de

TAULA 2. Classificació de les β -lactamases

Classe molecular	Grup funcional	Perfil de substrats preferents	Inhibició		Enzims representatius
			AC	EDTA	
C	1	Penicil·lines; cefalosporines de 1a, 2a, 3a generació; monobactams	-	-	Cromosòmiques dels bacteris gramnegatius com <i>E. coli</i> (constitutiva) o <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (induïble). En plasmidis: FOX-1 a FOX-5, MIR-1, MOX-1, MOX-2, LAT-1 a LAT-4, CMY 1 a CMY-13, BUT-1, BIL-1, ABA-1, DHA-1.
A	2a	Penicil·lines	+	-	Penicil·linases de bacteris grampositius, que poden ser cromosòmiques o plasmídiques.
A	2b	Penicil·lines; cefalosporines de 1a generació	+	-	En plasmidis: TEM-1, TEM-2, SHV-1, OHIO-1 i ROB-1. Al cromosoma: SHV-1 de <i>K. pneumoniae</i> .
A	2be	Penicil·lines; cefalosporines de 1a i 3a generació; monobactams	+	-	En plasmidis: TEM-3 a TEM-29, TEM-42, TEM-43, TEM-46 a TEM-50, TEM-52 a TEM-58, TEM-60 a TEM-64, TEM-66 a TEM-72, TEM-75, TEM-79 a TEM-102, TEM-104 a TEM-132; SHV-2 a SHV-53 (excepte SHV-10); CTX-M-1 a CTX-M-33; TOHO-1, TOHO-2, UOE-1 i UOE-2, SFO-1, FEC-1, VEB-1, PER-1, PER-2, GES-1, IBC-1, IBC-2, TLA-1. Al cromosoma: K _{oxy} de <i>Klebsiella oxytoca</i> , KLUA-1 i KLUA-2 de <i>Kluyvera ascorbata</i> , KLUC-1 de <i>Kluyvera cryocrescens</i> i KLUG-1 de <i>Kluyvera georgiana</i> .
A	2br	Penicil·lines	-	-	En plasmidis: TEM-30 a TEM-41, TEM-44 a TEM-45, TEM-51, TEM-59, TEM-65, TEM-73, TEM-74, TEM-76 a TEM-78, TEM-81 a TEM-84, TEM-103 i SHV-10.
A	2c	Penicil·lines (carbenicil·lines)	+	-	En plasmidis: PSE-1 (CARB-2), PSE-3, PSE-4 (CARB-1), PSE-5 (CARB-7), CARB-3 a CARB-8.
A	2e	Penicil·lines; cefalosporines de 1a generació; cefuroxima	+	-	Cefalosporinasa cromosòmica induïble de <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Citrobacter koseri</i> i <i>Citrobacter sedlakii</i> .
A	2f	Penicil·lines; cefalosporines de 1a, 2a, 3a generació; carbapenems	+	-	NMC-A i IMI-1 d' <i>Enterobacter cloacae</i> , SME-1 a SME-3 de <i>Serratia marcescens</i> i L-2 de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .
B1	3a	Penicil·lines, cefalosporines i carbapenems (excepte els monobactams)	-	+	En plasmidis: IMP-1 a IMP-17, VIM-1 a VIM-10, MET-1 i GES-2, KPC-1 i KPC-2.
B2	3b		-	+	Al cromosoma: CphA i Sfh-1 d' <i>Aeromonas hydrophila</i> .
B3	3a		-	+	Al cromosoma. Induïble. L1 i THIN-B de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> i <i>Janthinobacterium lividum</i> .
B3	3c		-	+	Al cromosoma. FEZ-1 de <i>Legionella gormanii</i> .
D	2d	Penicil·lines (isoxazòliques)	+/-	-	OXA-1 a OXA-40.
?	4	Penicil·lines	-	-	Penicil·linasa cromosòmica o plasmídica de <i>Burkholderia cepacia</i> .

bacteris grampositius. El *subgrup 2b* engloba la majoria de β -lactamases d'ampli espectre capaces d'hidrolitzar les penicil·lines (ampicil·

lina i ticarcil·lina i, en menor grau, la piperacil·lina), i si la seva expressió és elevada poden arribar a conferir resistència a cefalosporines

de primera generació. Són inhibides per l'àcid clavulànic. En aquest grup destaquen les de tipus TEM o SHV, perquè d'aquestes deriven per una part el *subgrup 2be*, les anomenades β -lactamases d'espectre ampliat (BLEA) i, per l'altra, el *subgrup 2br*, les β -lactamases resistents als inhibidors (IRT). Les BLEA són enzims capaços d'hidrolitzar, a més de les penicil·lines i les cefalosporines de primera generació, les cefalosporines de tercera generació i els monobactams (aztreonam), i són més sensibles que les d'ampli espectre pel que fa a la inhibició per àcid clavulànic. En aquest subgrup trobem, a més de les derivades del tipus TEM o SHV, les β -lactamases de la família CTX-M. També, les IRT es caracteritzen per presentar el mateix perfil d'hidròlisi que les β -lactamases plasmídiques d'ampli espectre, però són resistents als inhibidors de β -lactamases com l'àcid clavulànic, el tazobactam i el sulbactam. La majoria deriven del tipus TEM, d'aquí el nom de IRT (*inhibitor resistant TEM-type*), encara que també se n'ha descrit una derivada de SHV, la SHV-10. En el *subgrup 2c* i *subgrup 2d* tenim les anomenades *carbenicillinases* i les *oxacillinases*, respectivament. El seu perfil d'hidròlisi és similar a les β -lactamases d'ampli espectre, però són més resistents a l'acció de l'àcid clavulànic; de fet, fenotípicament poden confondre's amb les IRT. Les mutacions al gen estructural els confereixen activitat davant les cefalosporines de tercera generació, i adquireixen aleshores el fenotipus de BLEA. Algunes oxacillinases, a més, han adquirit la capacitat d'hidrolitzar els carbapenems. En el *subgrup 2e* s'inclouen les cefalosporinases cromosòmiques pròpies de *Proteus vulgaris*, *Citrobacter koseri* i *C. sedlakii*. A diferència de les cefalosporinases del grup 1, aquestes pertanyen a la classe A d'Ambler i són inhibides per l'àcid clavulànic. Finalment, el *subgrup 2f* inclou les noves carbapenemases plasmídiques de classe A d'Ambler, capaces d'hidrolitzar tots els β -lactàmics inclosos els carbapenems.

Dins el *grup 3*, també hi ha tres subgrups, que es poden diferenciar tant pel perfil d'hi-

dròlisi com per la seva estructura molecular. Tots es caracteritzen per pertànyer a la classe B d'Ambler i per necessitar per a la seva acció enzimàtica cations divalents, principalment el zinc (d'aquí que també rebien el nom de *metal·loenzims*). El seu perfil d'hidròlisi inclou tots els β -lactàmics. Inicialment es trobaven al cromosoma de certes espècies com *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus* sp., *Janthinobacterium lividum*, *Legionella gormanii* o *S. maltophilia*, però actualment també se n'han descrit de plasmídiques, com les VIM o IMP en bacils gramnegatius.

Finalment hi ha el *grup 4*, que només inclou la penicillinasa de *Burkholderia cepacia*.

DETECCIÓ I CARACTERITZACIÓ DELS MECANISMES DE RESISTÈNCIA A β -LACTÀMICS

L'increment continuat de la resistència fa que sigui necessari determinar la sensibilitat dels microorganismes amb significació clínica als β -lactàmics (i als antimicrobians en general), no solament per donar un tractament adequat al pacient, sinó també per poder evitar la implantació de soques multiresistents i, per tant, l'aparició de brots nosocomials. Classificar les soques en sensibles o resistents no és suficient, sinó que cal una lectura interpretada dels resultats. Per això, després de realitzar una correcta identificació del bacteri a estudiar, cal conèixer el seu perfil de resistència natural i saber si el patró de resistència que tenim és normal, rar o impossible. Per a determinar aquest patró de resistència cal caracteritzar en molts casos el mecanisme de resistència implicat. Recentment, la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica ha fet una sèrie de revisions sobre la lectura interpretada de l'antibiograma en bacteris grampositius, enterobacteris i bacils gramnegatius no fermentadors (Cantón, 2002; Torres, 2002; Navarro *et al.*, 2002; Vila i Marco, 2002).

Les diferents tècniques per a la detecció de

les resistències als β -lactàmics estan enfocades a la detecció dels dos principals mecanismes de resistència, la presència en bacteris grampositius de PBP amb afinitat disminuïda i l'expressió de les β -lactamases en bacteris gramnegatius. La major part de tècniques fenotípiques estan estandarditzades per diferents societats, com el National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004), el Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2004) o la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (García-Rodríguez *et al.*, 2001).

En general, als laboratoris de microbiologia clínica només s'estudia la presència de mecanismes relacionats amb alteracions de les PBP, bàsicament en els gèneres *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Enterococcus* (Torres, 2002). En els estafilococs la resistència a la meticil·lina es deu a la producció de la PBP 2a codificada pel gen *mecA* (MRSA), a la desactivació de l'antibiòtic per una producció incrementada de la β -lactamasa del grup 2a de Bush (BORSA) i a la producció d'altres PBP modificades (MODSA) amb afinitat disminuïda (Fluit *et al.*, 2001). La producció de la PBP 2a és el tipus de resistència més freqüent i, des de la perspectiva clínica, és important caracteritzar-lo, perquè implica resistència creuada amb la resta de β -lactàmics encara que mostrin activitat *in vitro*. Les soques amb resistència codificada pel gen *mecA* poden expressar la resistència de manera homogènia o heterogènia. L'expressió homogènia és fàcilment detectada, ja que totes les cèl·lules expressen la resistència; en canvi, l'expressió heterogènia pot ser més difícil de detectar, en funció de la proporció de cèl·lules que expressin la resistència. En aquests casos la detecció de la resistència es pot afavorir utilitzant medis suplementats amb clorur sòdic (del 2 % al 4 %) o una temperatura d'incubació menor (30 °C), o bé la incorporació en l'antibiograma d'un disc de cefoxitina (30 μ g) que, segons el diàmetre de l'halo d'inhibició, ens alertarà de la possible resistència a

oxacil·lina (Cauwelier *et al.*, 2004). A més d'aquestes tècniques fenotípiques també s'usen tècniques moleculars com la PCR (Fluit *et al.*, 2001) o el *DNA cycling probe assay* [Velogene (Alexon-Trend)], que detecten la presència del gen *mecA*, o tècniques d'aglutinació, més ràpides i senzilles, basades en la detecció de la proteïna PBP2a, com poden ser *MRSA-screen test* (Denka-Seikin Co., Japó), o *PBP 2' latex agglutination test* (Oxoid Limited, RU). La resistència a oxacil·lina mitjançada per la producció de β -lactamasa és, normalment, de baix nivell i pot ser detectada per tècniques de difusió, per un augment de la sensibilitat a oxacil·lina quan aquesta se situa al costat d'un inhibidor de la β -lactamasa com l'àcid clavulànic.

La resistència a penicil·lina en *S. pneumoniae* s'atribueix a alteracions en les PBP, especialment la PBP2. La complexitat genètica dels gens que codifiquen aquestes PBP (gens mosaic) fa que la detecció de la resistència es faci només per tècniques fenotípiques. En el cas que es faci per mitjà de la tècnica de difusió de disc, s'utilitza un disc d'oxacil·lina d'1 μ g per a predir la resistència a les penicil·lines. Quan l'halo d'inhibició a oxacil·lina és inferior a 19 mm, la soca es considera moderada o altament resistent a les penicil·lines, per la qual cosa s'ha de determinar la concentració inhibidora mínima (CIM) (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004).

El gènere *Enterococcus* és normalment sensible a la penicil·lina i l'ampicil·lina, amb l'excepció d'*Enterococcus faecium*, en el qual amb molta freqüència es poden trobar soques resistents a causa d'una alteració en la PBP5'. La detecció de la resistència a penicil·lina, ampicil·lina i amoxicil·lina-àcid clavulànic es realitza amb tècniques de sensibilitat estàndards (Torres, 2002). La resistència per producció de β -lactamases és extremadament infreqüent i, atès que no es detecta en l'antibiograma convencional, es recomana efectuar alguna tècnica de detecció en aïllaments de mostres sistèmiques (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004).

En la detecció de mecanismes relacionats amb la producció de β -lactamases, cal diferenciar els microorganismes productors de penicil·linases, com *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Neisseria*, estafilococs, enterococs o bacils gramnegatius anaerobis, dels bacils gramnegatius, com enterobacteris o no fermentadors. Per al primer grup s'han desenvolupat diferents mètodes fenotípics per a la detecció precoç: els mètodes cromogènics, els acidimètrics i els iodomètrics (Livermore i Brown, 2001). Cal considerar que un resultat negatiu no descarta completament la resistència: hi poden estar involucrats altres mecanismes, o pot haver-hi una falta d'inducció de l'enzim, com per exemple en els estafilococs, on la producció de β -lactamasa és induïble. En aquests casos es recomana observar el creixement de la perifèria de l'halo d'inhibició del disc d'un β -lactàmic, com la penicil·lina, o bé realitzar una altra tècnica de detecció microbiològica com la de Gots, Hodge o el test tridimensional. En general aquestes tècniques es basen a sembrar en una placa una soca sensible als β -lactàmics i situar al mig un disc carregat amb l'antibiòtic a estudiar (per exemple, penicil·lina), del qual parteix una estria de la soca problema (a vegades es fa un solc on s'aboca un extracte del bacteri). Si la soca problema és productora de β -lactamasa, hidrolitzarà l'antibiòtic del seu entorn i permetrà el creixement de la soca sensible al voltant de l'estria (Livermore i Brown, 2001).

Per al grup dels enterobacteris i bacils gramnegatius no fermentadors s'han estandarditzat tècniques per a la detecció de la β -lactamasa cromosòmica pròpia d'espècie i per a la detecció de BLEA, però resten encara en estudi tècniques per a la detecció de les cefamicinases plasmídiques i per a les carbapenemases.

Dins les β -lactamases cromosòmiques pròpies d'espècie hi ha les del grup 1 de Bush (classe C) constitutives, com la d'*E. coli*, o induïbles, com les d'*Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marces-*

cens, *Providencia*, *Hafnia alvei*, o *P. aeruginosa*, i les del grup 2e de Bush (classe A) de *Proteus vulgaris*, *P. penneri*, *Klebsiella oxytoca* i *Citrobacter koseri*. L'expressió de les β -lactamases cromosòmiques induïbles del grup 1 es posa de manifest en l'antibiograma convencional per difusió de disc per la presència d'una imatge d'antagonisme entre inductors dèbils com la cefotaxima o la ceftazidima i inductors forts com la cefoxitina o l'imipenem. Mutacions als gens reguladors originen la desrepressió de l'enzim i disminueixen la sensibilitat a cefalosporines de tercera generació, aztreonam i, en menor grau, cefepima (cefalosporina de quarta generació). L'expressió de la β -lactamasa cromosòmica constitutiva d'*E. coli* és basal i no confereix resistència, sinó que per mutacions s'hiperexpressa i passa a tenir el mateix fenotipus que les induïbles un cop s'han desreprimat. Finalment hi ha les induïbles del grup 2e, que també s'expressen normalment a nivells basals però que quan s'hiperexpressen el fenotipus que donen és el d'una soca portadora d'una BLEA, perquè la β -lactamasa en aquest cas és sensible a l'acció de l'àcid clavulànic.

Derivades de les β -lactamases cromosòmiques del grup 1 de Bush són les cefamicinases plasmídiques, on el patró fenotípic resulta indistingible de la hiperproducció dels enzims del grup 1. Malgrat que no existeixen tècniques estandarditzades per a la detecció s'han descrit algunes tècniques que poden resultar d'utilitat. Aquestes tècniques es basen en la detecció de la hidròlisi de cefamicines i en els efectes de compostos com Ro 47-8284, Ro 48-1220, Ro 48-1256 o cloxacil·lina, que inhibeixen les β -lactamases de tipus AmpC (Manchanda i Singh, 2003).

La detecció de les β -lactamases d'espectre ampliat (BLEA) es basa en la propietat d'aquests enzims de ser inhibits per l'àcid clavulànic. L'NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004) estableix una sèrie de recomanacions que inclouen mètodes de cribratge, on s'indiquen nous punts

de tall per a cefotaxima, ceftazidima, cefpodoxima, ceftriaxona o aztreonam i proves confirmatòries basades en una reducció en la CIM de tres o més dobles dilucions o un augment de com a mínim 5 mm dels halos d'inhibició de cefotaxima o ceftazidima en presència de 4 µg/ml d'àcid clavulànic respecte de la cefalosporina testejada sola. Aquestes tècniques estan indicades per a soques d'*E. coli*, *K. pneumoniae* i *K. oxytoca*, encara que teòricament poden ser aplicables a altres espècies. Altres mètodes de fàcil aplicació són el test de sinergia amb doble disc i la determinació de la CIM a una cefalosporina de tercera o quarta generació amb i sense àcid clavulànic per mitjà de l'Etest (AB Biodisk, Solna, Suècia). Els tests de sinergia amb doble disc consisteixen en la realització d'un antibiograma convencional situant un disc d'amoxicil·lina-clavulànic a una distància de 2,5-3 cm d'un disc d'una cefalosporina de tercera o quarta generació i aztreonam. La presència de BLEA es posa de manifest per la formació d'una zona expandida dels halos d'inhibició de les cefalosporines o aztreonam situats a la zona pròxima al disc d'amoxicil·lina-clavulànic. Per a la tècnica de l'Etest s'utilitzen tires que contenen en un extrem un gradient de cefotaxima o ceftazidima i a l'altre extrem un gradient de la cefalosporina amb una concentració fixa de 4 µg d'àcid clavulànic, de manera que una disminució de tres o més dilucions de la cefalosporina amb àcid clavulànic indica la presència d'una BLEA (Bradford, 2001). La detecció de BLEA amb la utilització d'aquests procediments en aquells enterobacteris o *P. aeruginosa* que presenten les β-lactamases cromosòmiques és difícil, especialment si estan desreprimits, perquè són enzims resistents a l'àcid clavulànic i, per tant, s'emascara l'efecte sinèrgic. En aquests casos, aquest efecte es pot apreciar millor amb cefepima.

Finalment cal assenyalar les metodologies per a la detecció de les β-lactamases capaces d'hidrolitzar els carbapenems, que en els darrers anys han pres importància pel fet que han

estat descrites en diferents elements mòbils, raó per la qual han pogut trobar-se en espècies fins ara sensibles als carbapenems com les dels enterobacteris. Els mètodes que s'han desenvolupat es basen en la utilització de quelants metàl·lics com EDTA o tiols i, per tant, només són útils per a la detecció de les carbapenemes de la classe B que requereixen cations divalents (Zn^{2+}) com a cofactors per a la seva activitat. La tècnica més emprada és la comparació dels halos d'inhibició d'imipenem respecte els d'imipenem amb EDTA, bé per la tècnica de difusió de disc, bé per la de l'Etest. En aquest darrer cas, una disminució de la CIM de tres o més dobles dilucions en la zona d'imipenem-EDTA respecte de la zona d'imipenem o la presència d'una zona fantasma entre les dues seccions de gradients indica la possible presència d'una metallo-β-lactamasa. També s'ha utilitzat el test de Hodge modificat, que permet detectar la hidròlisi enzimàtica de carbapenems (Walsh *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003).

Les metodologies descrites fins ara només detecten la possible existència del mecanisme de resistència. Per a la caracterització del mecanisme és necessari recórrer a les tècniques moleculars estàndards (isoelectroenfocament, hibridacions, PCR, seqüenciació) que precisen el mecanisme o mecanismes implicats. Caracteritzar els diferents mecanismes de resistència permet confirmar la lectura interpretada de l'antibiograma i conèixer la prevalença de cadascun dels diferents mecanismes implicats.

EPIDEMIOLOGIA DE LA RESISTÈNCIA ALS β-LACTÀMICS

Els β-lactàmics, doncs, són la família més àmplia dins l'arsenal terapèutic i la més usada per les seves bones propietats farmacocinètiques. Tanmateix, però, la mateixa amplitud es pot trobar en els mecanismes de resistència

que els microorganismes han anat adquirint. Només sorgir la penicil·lina aparegueren les penicil·linases; neixen les aminopenicil·lines i les cefalosporines de primera, segona i tercera generació i apareixen les β -lactamases d'ampli espectre, les cefamicinases i les β -lactamases d'espectre ampliat, respectivament. A aquesta evolució estructural de les β -lactamases cal afegir que són enzims que es troben en estructures genètiques que els permeten una ràpida difusió. Per tant, tenim una constant evolució i expansió del principal mecanisme de resistència, unida a la idea que en tota resistència es veuen involucrats diferents mecanismes; d'aquí la importància d'un seguiment epidemiològic.

La resistència a la meticil·lina en els estafilococs, freqüent tant en l'àmbit hospitalari com en la comunitat, és un exemple del desenvolupament i expansió d'una resistència després d'haver-se introduït l'antibiòtic en l'ús clínic (McNeil i Solomon, 1985; Ayliffe, 1997; Trilla i Wenzel, 1991). Tanmateix, estudis primerencs sobre l'expansió de soques MRSA mostren la presència d'aquestes soques en poblacions on la meticil·lina encara no havia estat introduïda (Polònia, Turquia o l'Índia). A partir de 1960, quan foren descrites les primeres soques a Anglaterra i als Estats Units, i també els primers brots nosocomials, el nombre de soques resistents i de brots nosocomials descrits ha anat incrementant considerablement, sobretot al continent europeu i Austràlia. El 1986, un estudi multicèntric realitzat entre setanta-dos hospitals de l'Estat espanyol mostra que la prevalença de soques MRSA fou de l'1,5 % de les soques de *S. aureus* aïllades en un dia concret. Actualment la seva prevalença en hospitals i residències varia entre el 10 % i el 40 %, i són soques emergents de la comunitat (Marín i Gudiol, 2003.)

La resistència a la penicil·lina en *S. pneumoniae* s'inicia el 1967 a Austràlia, on es va descriure la primera soca resistent i, posteriorment, a Nova Guinea i Sud-àfrica. A l'Estat espanyol entre els anys 1979 i 1982 s'observà

que un 8,7 % de les soques eren resistents a la penicil·lina. Actualment, aquest percentatge s'ha vist incrementat de manera significativa fins a arribar al voltant d'un 40 %, i la meitat de les soques presenten una resistència d'alt nivell (Mirelis *et al.*, 2001). De manera paral·lela pot observar-se un increment de la resistència a la resta de β -lactàmics, amb un 10 % de soques resistents a la cefotaxima, però no s'ha aïllat cap soca resistent a l'imipenem (Marín i Gudiol, 2003).

L'aparició de les β -lactamases ha anat lligada a la introducció en clínica dels β -lactàmics. La descripció de la primera β -lactamasa fou a la dècada dels anys cinquanta, poc després d'introduir-se la penicil·lina en clínica (Moellering, 1993). De la mateixa manera, poc després d'introduir-se les aminopenicil·lines i carboxipenicil·lines, es descriu el 1965 la TEM-1 (Mathew, 1979) i el 1972 la SHV-1 (Roupas i Pitton, 1974), de les quals han derivat la quasi totalitat de BLEA. Avui dia, només un percentatge molt reduït d'estafilococs (menys del 10 %) són sensibles a la penicil·lina (Torres, 2002) i les β -lactamases d'ampli espectre TEM-1 o SHV-1 s'han estès de tal manera que es poden descriure tant en enterobacteris com en *Haemophilus* o *Neisseria* (Livermore, 1996). Posteriorment, amb el desenvolupament de nous β -lactàmics aquests enzims ampliaren el seu espectre d'activitat, i sorgiren les primeres BLEA. La primera fou la SHV-2, aïllada l'any 1983 a Alemanya, i de la qual dos anys més tard es descriu el primer brot nosocomial a França (Gniadkowski, 2001). Actualment hi ha més d'un centenar de BLEA descrites (<http://www.lahey.org/studies/webt.htm>), cosa que demostra la ràpida evolució i expansió d'aquests enzims. A més de la TEM o SHV, s'han descrit noves famílies com les OXA, CTX-M, PER, VEB i GES. Les oxacil·linases comencen a descriure's cap als anys vuitanta (Naas i Nordmann, 1999). Les primeres, OXA-1, OXA-2 o OXA-10, es caracteritzen per ser penicil·linases amb una major afinitat per la cloxacil·lina. Posteriorment, aparegueren en-

zims derivats de l'OXA-2 i de l'OXA-10 capaços d'hidrolitzar les cefalosporines de tercera generació, i l'any 1993 es descriu la primera oxacillina amb activitat davant els carbapenems (Paton *et al.*, 1993). Els primers enzims de la família de les CTX-M, tots considerats com a BLEA, es van descriure l'any 1990 de soques d'*E. coli* aïllades a França d'un pacient provinent d'Itàlia. Deu anys després aquests enzims han estat descrits en la pràctica totalitat d'enterobacteris arreu del món (Navarro i Miró, 2002). També són fruit de l'expansió i l'evolució les cefamicinases, que confereixen el mateix problema terapèutic que la desrepressió de la β -lactamasa cromosòmica però amb l'agreujament que aquests enzims es troben situats en plasmidis i, per tant, poden difondre's més ràpidament, amb el risc de conferir brots nosocomials. La majoria d'aquests enzims han estat descrits en *E. coli* i *K. pneumoniae*, encara que s'incrementa el nombre de soques d'altres espècies (Pérez-Pérez i Hanson, 2002). Finalment, també cal citar la resistència adquirida a l'imipenem en enterobacteris, *P. aeruginosa* i *A. baumannii* (Livermore, 1997). Pel que fa a les carbapenemases adquirides de classe A, l'any 1982 es descriu l'enzim SME-1 de dues soques de *S. marcescens* aïllades a Anglaterra. El 1984 l'IMI-1 d'una soca d'*Enterobacter cloacae* al sud de Califòrnia, el 1990 a França l'NMC-A, també d'un *E. cloacae*, i el 2001 el KPC-1 aïllat als Estats Units en *K. pneumoniae*. De moment, aquests enzims es presenten en soques puntuals, i les β -lactamases de tipus SME són les més freqüentment aïllades, principalment als Estats Units. En canvi, la prevalença de les carbapenemases adquirides de classe B pren cada cop més importància, no solament perquè s'incrementa el nombre de soques amb aquests enzims, sinó que, també, ja s'han descrits diferents brots nosocomials. A l'Estat espanyol la primera carbapenemasa adquirida fou la VIM-2 descrita el 1996 en *P. aeruginosa* (Prats *et al.*, 2002) i des d'aleshores la seva prevalença és molt baixa (Miró *et al.*, 2004), i s'ha descrit

també en *E. coli* (Larrosa *et al.*, 2004) i *K. pneumoniae* (Tórtola *et al.*, 2004).

BIBLIOGRAFIA

- AMBLER, R. P. (1980). «The structure of beta-lactamases». *Philos. Trans. R. Soc. Lon. Biol. Sci.*, vol. 289, pàg. 321-331.
- ARBELOA, A.; SEGAL, H.; HUGONNET, J. E.; JOSSEAUME, N.; DUBOST, L.; BROUARD, J. P.; GUTMANN, L.; MENGIN-LECREULX, D.; ARTHUR, M. (2004). «Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5-mediated beta-lactam resistance in *Enterococcus faecalis*». *J. Bacteriol.*, vol. 186, pàg. 1221-1228.
- AYLIFFE, G. A. J. (1997). «The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*». *Clin. Infec. Dis.*, vol. 24 (supl. 1), pàg. S74-S79.
- BRADFORD, P. A. (2001). «Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, pàg. 933-951.
- BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. (1995). «A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structures». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, pàg. 1211-1233.
- CANTÓN, R. (2002). «Lectura interpretada del antibiograma: ¿ejercicio intelectual o necesidad clínica?» *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 20, pàg. 176-186.
- CAUWELIER, B.; GORDTS, B.; DESCHEMAECKER, P.; LANDUYT, H. VAN (2004). «Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 µg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*». *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 23, pàg. 389-392.
- CHOW, J. W.; SHLAES, D. M. (1991). «Imipenem resistance associated with the loss of a 40 kDa outer membrane protein in *Enterobacter aerogenes*». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 28, pàg. 499-504.
- CUNDLIFFE, E. (1989). «How antibiotic-producing organisms avoid suicide». *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 43, pàg. 207-233.
- DONOWITZ, G.; MANDELL, G. L. (1988a). «Beta-lactam antibiotics (First of two parts)». *New England J. Med.*, vol. 25, pàg. 419-426.
- (1988b). «Beta-lactam antibiotics (Second of two parts)». *New England J. Med.*, vol. 25, pàg. 490-500.
- DOUGHERTY, T. J.; KOLLER, A. E.; TOMASZ, A. (1980). «Penicillin-binding proteins of penicillin-susceptible and intrinsically resistant *Neisseria gonorrhoeae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 18, pàg. 730-737.
- FERNÁNDEZ-CUENCA, F.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; CONEJO, M. C.; AYALA, J. A.; PEREA, E. J.; PASCUAL, A. (2003). «Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical iso-

- lates of *Acinetobacter baumannii*». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 51, pàg. 565-574.
- FLUIT, A. D. C.; VISSER, M. R.; SCHMITZ, F. J. (2001). «Molecular detection of antimicrobial resistance». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, pàg. 836-871.
- GARCÍA-RODRÍGUEZ, J. A.; CANTÓN, R.; GARCÍA-SÁNCHEZ, J. E.; GÓMEZ-LUS, M. L.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; RODRÍGUEZ-AVIAL, C. (2001). «Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos». A: PICAZO, J. J. [ed.] *Procedimientos en microbiología clínica*. <http://www.seimc.org>.
- GEORGOPAPADAKOU, N. H. (1993). «Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to beta-lactams». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 37, pàg. 2045-2053.
- GNIADKOWSKI, M. (2001). «Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms». *Clin. Microbiol. Infec. Dis.*, vol. 7, pàg. 597-608.
- HANCOCK, R. (1997). «The bacterial outer membrane as a drug barrier». *Trends Microbiol.*, vol. 5, pàg. 37-42.
- KATAYAMA, Y.; ZHANG, H. Z.; CHAMBERS, H. F. (2004). «BPB 2a mutations producing very-high-level resistance to beta-lactams». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 453-459.
- LARROSA, M. N.; MIRÓ, E.; BARTOLOMÉ, R. M.; PLANEÍS, I.; NAVARRO, F.; TÓRTOLA, T.; LAVILLA, S.; PALOMAR, M.; PRATS, G. (2004). «*Escherichia coli* multiresistente productora de una metalo-beta-lactamasa». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 22 (supl. 1), pàg. 124.
- LEE, K.; LIM, Y. S.; YONG, D.; YUM, J. H.; CHONG, Y. (2003). «Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp.» *J. Clin. Microbiol.*, vol. 41, pàg. 4623-4629.
- LIVERMORE, D. M. (1996). «Beta-lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance». A: LORIAN, V. [ed.] *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 4a ed. Baltimore: Williams and Wilkins, pàg. 505-578.
- (1997). «Acquired carbapenemases». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 39, pàg. 673-676.
- LIVERMORE, D. M.; BROWN, D. F. J. (2001). «Detection of beta-lactamase mediated resistance». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 48, pàg. 59-64.
- LORIAN, V. (1991). *Antibiotics in laboratory medicine*. 3a ed. Londres: Williams and Wilkins, cap. 16, pàg. 599-664.
- MAINARDI, J. L.; MUGNIER, P.; COUTROT, R.; BUU-HOÏ, A.; COLLATZ, E.; GUTMANN, L. (1997). «Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Citrobacter freundii*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 2352-2354.
- MANCHANDA, V.; SINGH, N. P. (2003). «Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Gram-negative clinical isolates using a modified three-dimensional test at Guru Tegh Bahadur Hospital, Delhi, India». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 51, pàg. 415-418.
- MARÍN, M.; GUDIOL, F. (2003). «Antibióticos betalactámicos». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 21, pàg. 42-55.
- MATHEW, M. (1979). «Plasmid mediated beta-lactamases of gram-negative bacteria: properties and distribution». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 5, pàg. 349-358.
- MCNEIL, M. M.; SOLOMON, S. L. (1985). «The epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*». *Antimicrob. Newsletter*, vol. 7, pàg. 49-56.
- MENDELMAN, P. M.; CHAFFIN, D. O.; STULL, T. L.; RUBENS, C. E.; MACK, K. D.; SMITH, A. L. (1984). «Characterization of non-beta-lactamase-mediated ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 26, pàg. 235-244.
- MIRELIS, B.; SÁNCHEZ, F.; PERICAS, R.; MIRÓ, E.; ROIG, C.; COLL, P.; PRATS, G. (2001). «Sensibilidad del neumococo a los antimicrobianos». *Vacunas*, vol. 2, pàg. 32-37.
- MIRÓ, E.; ALONSO, C.; NAVARRO, F.; MIRELIS, B.; PRATS, G. (1995). «Resistencia al imipenem en *Enterobacter aerogenes*». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 13, pàg. 278-282.
- MIRÓ, E.; NAVARRO, F.; GÓMEZ, L.; PERICAS, R.; SÁNCHEZ, F.; MIRELIS, B.; COLL, P. (2004). «Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*: seguimiento epidemiológico desde 1996». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 22 (supl. 1), pàg. 157.
- MIRÓ, E.; VERGÉS, C.; GARCÍA, I.; MIRELIS, B.; NAVARRO, F.; COLL, P.; PRATS, G.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. (2004). «Resistencia a quinolonas y betalactámicos en *Salmonella enterica*, y su relación con mutaciones en las topoisomerasas, alteraciones en la permeabilidad celular y expresión de un mecanismo de expulsión activa». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 22, pàg. 204-211.
- NAAS, T.; NORDMANN, P. (1999). «OXA-type beta-lactamases». *Current Pharmaceutical Design.*, vol. 5, pàg. 865-879.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (2004). «Performance standards for antimicrobial susceptibility testing». *Fourteenth Informational Supplement*. NCCLS document M100-S14. Wayne, Pa: NCCLS.
- NAVARRO F.; MIRÓ, E. (2002). «Update on CTX-M-type beta-lactamases». *Rev. Med. Microbiol.*, vol. 13, pàg. 63-73.
- NAVARRO, F.; MIRÓ, E.; MIRELIS, B. (2002). «Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias». *Enferm. Infecc. Microbiol.*, vol. 20, pàg. 225-34.
- NEUWIRTH, C.; SIÉBOR, E.; DUEZ, J. M.; PÉCHINOT, A.; KAZMIERCZAK, A. (1995). «Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alterations in penicillin-binding proteins». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 36, pàg. 335-342.
- PÀGLIERO, E.; CHESNEL, L.; HOPKINS, J.; CROIZE, J.; DIDEBERG, O.; VERNET, T.; DIGUILMI, A. M. (2004). «Biochemical characterization of *Streptococcus pneumoniae* penicillin-binding protein 2b and its implication in beta-lactam resistance». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 1848-1855.
- PATON, R.; MILES, R. S.; HOOD, J.; AMYES, S. G. B. (1993). «ARI-1: Beta-lactamase mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*». *Int. J. Antimicrob. Agents.*, vol. 2, pàg. 81-88.

- PÉREZ-LLANERA, F.; MARTÍN, J. F.; GALLEN, M.; COQUE, J. J.; FUENTE, J. L.; FRERE, J. M.; LIRAS, P. (1997). «The *bla* gene of the cephamycin cluster of *Streptomyces clavuligerus* encodes a class A beta-lactamase of low enzymatic activity». *J. Bacteriol.*, vol. 179, pàg. 6035-6040.
- PÉREZ-PÉREZ, F. J.; HANDSON, N. D. (2002). «Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR». *J. Clin. Microbiol.*, vol. 40, pàg. 2153-2162.
- PRATS, G.; MIRÓ, E.; MIRELIS, B.; POIREL, L.; BELLAS, S.; NORDMANN, P. (2002). «First isolation of a carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Spain». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, pàg. 932-933.
- RAIMONDI, A.; TRAVERSO, A.; NIKAIKO, H. (1991). «Imipenem- and meropenem-resistant mutants of *Enterobacter cloacae* and *Proteus rettgeri* lack porins». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 35, pàg. 1174-1180.
- ROUPAS, A.; PITTON, J. (1974). «R factor and chromosomal resistance to ampicillin in *Escherichia coli*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 5, pàg. 186-191.
- SAHM, D. F.; THONSBERRY, C.; JONES, R. N. (1985). «Beta-lactam antibiotics: the original and penicillinase-resistant penicillins». *Antimicrob. Newsletter*, vol. 2, pàg. 5-7.
- SPRATT, G. (1983). «Penicilin-binding proteins and the future of beta-lactam antibiotics». *J. Gen. Microbiol.*, vol. 129, pàg. 1247-1250.
- TOMASZ, A. (1979). «The mechanism of the irreversible antimicrobial effects of penicillin: how the beta-lactam antibiotics kill and lyse bacteria». *Ann. Rev. Microbiol.*, vol. 33, pàg. 113-137.
- TORRES, C. (2002). «Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 20, pàg. 354-364.
- TÓRTOLA, M. T.; LAVILLA, S.; MIRÓ, E.; NAVARRO, F.; MIRELIS, B.; PRATS, G. (2004). «Carbapenemasa VIM-1 producida por *Klebsiella pneumoniae*». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 22 (supl. 1), pàg. 107.
- TRILLA, A.; WENZEL, R. P. (1991). «Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina. Un reto para el control de infecciones». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 4, pàg. 193-195.
- VILA, J.; MARCO, F. (2002). «Lectura interpretada del antibiograma de los bacilos gramnegativos no fermentadores». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 20, pàg. 225-234.
- WALSH, T. R.; BOLMSTROM, A.; QWARNSTROM, A.; GALES, A. (2002). «Evaluation of a new E-test for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing». *J. Clin. Microbiol.*, vol. 40, pàg. 2755-2759.
- WEBBER, M. A.; PIDDOCK, L. J. V. (2003). «The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 51, pàg. 9-11.
- WEINDORF, H.; ACHMIDT, H.; MARTIN, H. H. (1998). «Contribution of overproduced chromosomal beta-lactamase and defective outer membrane porins to resistance to extended-spectrum beta-lactam antibiotics in *Serratia marcescens*». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 41, pàg. 189-195.
- WOLTER, D. J.; HANSON, N. D.; LISTER, P. D. (2004). «Insertional inactivation of *oprD* in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* leading to carbapenem resistance». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 236, pàg. 137-143.
- YEN, M. R.; PEABODY, C. R.; PARTOVI, S. M.; ZHAI, Y.; TSENG, Y. H.; SAIER, M. H. JR. (2002). «Protein-translocating outer membrane porins of Gram-negative bacteria». *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1562, pàg. 6-31.