

EL DESAFIO DE LA RESISTENCIA

Dr. Horacio Lopardo¹, Bioqs. Fernando Pasterán², Mirta Litterio¹, Dra. Claudia Sola³

INTRODUCCION

La resistencia a los antimicrobianos, un fenómeno creciente que venía siendo controlado por el descubrimiento de nuevos agentes, en estos últimos años se ha complicado gravemente. Hay microorganismos que resisten a todas las drogas conocidas o a muchas de ellas y otras no se pueden aplicar por toxicidad, por la edad y otras características del paciente o por la localización de la infección. Esto sucede porque la investigación de nuevas drogas requiere de mucho tiempo de búsqueda y de fuertes inversiones que luego pueden no ser recuperadas en el tiempo de vigencia de la patente.

Es así que desde organismos internacionales se ha hecho un llamado para que al menos se pueda contar con 20 nuevos antibióticos en los próximos 10 años.

En esta revisión se presentará información relativa a la resistencia actual, sobre todo focalizada en nuestro medio y en *Staphylococcus aureus*, enterococos, enterobacterias, bacilos gram negativos no fermentadores de glucosa y anaerobios.

ENTEROCOCOS

Los enterococos presentan una resistencia natural a varios de los antibióticos útiles para el tratamiento de infecciones por gram positivos [bajos niveles de aminoglucósidos y lincosamidas, trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) en presencia de folatos y cefalosporinas] (Tabla 1). También hay especies que presentan resistencias naturales propias (p. ej. *E. gallinarum* y *E. casseliflavus* = resistencia a vancomicina)¹. Además, pueden adquirir otros marcadores de resistencia por mutaciones o a través de elementos móviles (plásmidos, transposones, etc.)^{*}.

Resistencia a beta-lactámicos

Resistencia natural

Los enterococos se consideran ya desde los tiempos de Fleming como naturalmente resistentes a la penicilina, en forma relativa, respecto de sus bacterias relacionadas, los estreptococos. Sus proteínas ligadoras de penicilina (PBP) presentan menor afinidad por los antibióticos β -lactámicos, pero normalmente (a excepción de las cefalosporinas) no llegan a presentar valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) superiores al punto de corte farmacológico y por lo tanto no llevarían a compro-

1 Servicio de Microbiología, Hospital de Pediatría Juan P Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

2 Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia a los Antimicrobianos, Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

3 Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI) CONICET y Universidad Nacional de Córdoba; Departamento de Bioquímica Clínica; Facultad de Ciencias Químicas; Haya de La Torre y Medina Allende, Ciudad Universitaria, 5000-Córdoba, Argentina.

* Tanto la resistencia natural como la originada por mutaciones en el cromosoma bacteriano se transmiten en forma vertical a su progenie. La resistencia adquirida a través de elementos móviles puede transmitirse en forma horizontal entre bacterias de la misma especie o incluso entre bacterias poco relacionadas. Igualmente, hay casos en que clones exitosos de bacterias portadoras de plásmidos (con ventajas en la supervivencia y diseminación) perduran y dan cuenta de un aumento en la resistencia por vía vertical.

TABLA 1: RESISTENCIA NATURAL Y RESISTENCIA ADQUIRIDA EN *ENTEROCOCCUS* SPP.

Resistencia natural	Resistencia adquirida
Aminoglucósidos (bajo nivel)	Aminoglucósidos (alto nivel)
Lincosamidas (bajo nivel)	Lincosamidas (alto nivel)
Trimetoprima-sulfametoxazol (in vivo)	Macrólidos
Cefalosporinas	Tetraciclina
Vancomicina (Van C) (<i>E. casseliflavus</i> , <i>E. gallinarum</i>)	Cloranfenicol
Quinupristina/dalfopristina (<i>E. faecalis</i>)	Penicilinas (beta-lactamasa) Penicilinas (modificación de las PBP) Vancomicina (Van A, Van B, Van D, Van E, Van G, Van L). Linezolid (rara) Daptomicina (rara)

meter un tratamiento antimicrobiano in vivo que no requiriera actividad bactericida. En caso de requerirla, es importante saber que los enterococos se comportan como resistentes a la acción bactericida de los β -lactámicos e incluso de los glucopéptidos². Esto conduce a que en pacientes con endocarditis, meningitis u osteomielitis se prefiera el uso de combinaciones con aminoglucósidos, las que frecuentemente presentan actividad bactericida.

Resistencia adquirida

La resistencia adquirida a penicilina y ampicilina puede deberse a alguno de los dos siguientes mecanismos:

(I) Producción de β -lactamasas (poco frecuente)

La resistencia enzimática a la ampicilina o penicilina (por acción de β -lactamasas) fue observada en Texas a principios de los 80^{3,4}. Nuestro país fue uno de los pocos en que aparecieron estas cepas. A lo largo de todo un año, en el Hospital Garrahan detectamos sólo 6 aislamientos pertenecientes al mismo clon^{4,5}. El tratamiento de infecciones producidas por estas bacterias puede encararse reemplazando ampicilina por aminopenicilinas + inhibidores de beta-lactamasas [ampicilina-sulbactama (AMS), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) o piperacilina-tazobactam (PTZ)].

(II) Resistencia por modificación del sitio de acción (PBP)

La resistencia a penicilina o ampicilina fue un evento observado como esporádico a principios de los 80 en *E. faecium* pero que comenzó a adquirir verdadera importancia a partir de los últimos años de esa década. Esta resistencia no enzimática a las penicilinas ocurre por mutaciones específicas en una de las PBP (PBP 5), lo que le confiere una menor afinidad a estos antibióticos. Este fenómeno es frecuente en *E. faecium* y *E. raffinosus* y es excepcional en otras especies⁶.

Esta resistencia fue estudiada en el Hospital Garrahan explicando su posible rol en el fracaso de la acción sinérgica con aminoglucósidos. Se vio que superando o al menos igualando la CIM del β -lactámico, se podía lograr actividad sinérgica con los aminoglucósidos, a menos que la bacteria presentara un nivel de resistencia a los mismos imposible de superar en el suero del paciente⁷. Se han aislado cepas de *E. faecium* con CIM de penicilina extremadamente elevadas (>128 mg/l), cifra inacanzable en líquidos biológicos. Una conducta prudente es la de considerar que la resistencia a penicilina con CIM > 8 mg/l implicaría también resistencia a la actividad sinérgica que se podría obtener combinándola con un aminoglucósido al cual fuera sensible.

Se ha demostrado que esta resistencia, que se creía natural para *E. faecium* y *E. raffinosus*, es adquirida y que hay un porcentaje variable, aunque bajo, de aislamientos de esas especies que presentan sensibilidad a la ampicilina⁸. En nuestro país la resistencia se calcula en alrededor del 95% para *E. faecium*⁹.

Hay antibióticos como la piperacilina y el imipenem que presentan un comportamiento similar al de las aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina) frente a los enterococos.

Resistencia a los aminoglucósidos

Resistencia natural

La resistencia natural a varios antibióticos ha representado siempre un problema para el enfoque terapéutico de infecciones enterocócicas graves. En el caso de los aminoglucósidos ella se manifiesta como una resistencia a bajos niveles (CIM de 4-128 mg/l para gentamicina y de 64-512 mg/L para estreptomicina)¹⁰.

Resistencia adquirida

A estas resistencias naturales se les fueron sumando mecanismos adicionales (resistencia ad-

quirida) que, en algunos casos, anulan todas las alternativas terapéuticas, sobre todo cuando los enterococos están involucrados en endocarditis infecciosa. Para esta afección se había estipulado ya en la década del 50 el uso combinado de penicilina y estreptomycinina, dado que los antibióticos por separado no resultaban bactericidas¹⁰.

Esta combinación tiene la ventaja de producir sinergia bactericida en enterococos. Esta propiedad no se modifica cuando se cambia el beta-lactámico por vancomicina o la estreptomycinina por gentamicina, siempre y cuando los microorganismos presenten la sensibilidad habitual a estas drogas (Tabla 2).

TABLA 2: CONDICIONES PARA LOGRAR ACTIVIDAD SINéRGICA ENTRE BETA-LACTAMICOS Y AMINOGLUCOSIDOS EN ENTEROCOCOS.

Para que exista sinergia:

- El enterococo debe ser sensible a altos niveles de aminoglucósidos
- El nivel de penicilina o ampicilina en el sitio debe ser igual o mayor que la CIM de estos antibióticos para ese microorganismo.
- El enterococo no debe producir beta-lactamasa.

Sin embargo, ya en los comienzos de la década del 70 se observó la resistencia a altos niveles de estreptomycinina (CIM > 2.000 mg/l) en cepas de *E. faecalis*, y, posteriormente, a altos niveles de gentamicina (CIM > 500 mg/l)¹¹. Esta resistencia elevada, de origen enzimático se da frecuentemente por modificación de los aminoglucósidos (fosforilación, adenilación o acetilación). Esta modificación de las moléculas de los aminoglucósidos anula la sinergia entre éstos y los beta-lactámicos o los glucopéptidos¹². En el caso de la estreptomycinina también puede darse una mutación a nivel del ribosoma (sitio de acción).

La resistencia a altos niveles de aminoglucósidos alcanzó niveles elevados en la Argentina en 2006 (40-70% para gentamicina, 25-80% para estreptomycinina). Estas cifras difieren según el antibiótico y según la especie⁹.

Resistencia a glucopéptidos

La aparición, en los años 80, de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA) y el aumento en el número de pacientes susceptibles de presentar infecciones por microorganismos gram positivos, determinó el aumento del uso de la vancomicina. Su mayor utilización en clínica humana y el empleo de glucopéptidos (avoparcina) en el engorde de animales de granja aparentemente llevaron a la aparición de la resistencia a vancomicina en enterococos¹³.

La resistencia a los glucopéptidos en *Enterococcus* ocasiona la pérdida de una importante alternativa terapéutica en un género que de por sí

presenta resistencia intrínseca a muchos antibióticos y que muestra una gran capacidad para adquirir nuevos marcadores de resistencia. Además, no debe olvidarse la posibilidad de que se extienda la transferencia *in vivo* de esta resistencia a microorganismos del género *Staphylococcus*, hecho que ya se ha detectado en unas pocas cepas en los EEUU¹⁴.

La resistencia a vancomicina (VAN) en enterococos apareció en Europa a fines de los 80^{15,16}. Su diseminación en los EEUU en la década siguiente alcanzó niveles alarmantes. Mientras que en Europa la transmisión intrahospitalaria había sido despreciable y se registraba la aparición de múltiples clones de origen animal, en los EEUU se esparció ampliamente en los hospitales. Estas cepas resistentes tardaron casi diez años en aparecer en nuestro país después de su primera descripción en Europa¹⁷ y al poco tiempo llegaron a presentar una prevalencia de colonización de más del 5% en hospitales del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires¹⁸.

Su frecuencia como microorganismos colonizantes intestinales al igual que como infectantes creció en forma sostenida desde entonces (desde un 1% en 1998 hasta un 10,3% en 2007)⁹.

Las especies más comprometidas con esta resistencia son *E. faecalis* y *E. faecium*. Se han reconocido distintos marcadores genéticos determinantes de resistencia a glucopéptidos: *vanA*, que genera resistencia a teicoplanina y a altos niveles de vancomicina y otros (*vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG* y *vanL*) que sólo determinan resistencia a vancomicina (Tabla 3). El gen *vanC* es propio de las especies *E. gallinarum* y *E. casseliflavus* y codifica una resistencia natural a muy bajos niveles de vancomicina (CIM = 8-16 µg/ml).

TABLA 3: RESISTENCIA A LOS GLUCOPEPTIDOS EN ENTEROCOCOS.

Determinante genético ^{20,21}	Resistencia		
	Vancomicina	Teicoplanina	Transferible*
van A	R (alto nivel)	R	Sí
van B	R (bajo nivel)	S	Sí
van C1, vanC2, vanC3	R (bajo nivel)	S	No (natural, en especies móviles)
van D	R (bajo nivel)	S	No
van E	R (bajo nivel)	S	No
vanG	R (bajo nivel)	S	No
vanL	R (bajo nivel)	S	No

* Transferible de bacteria a bacteria a través de elementos móviles como plásmidos, transposones, etc.

R: resistente, S: sensible.

Hasta ahora, *vanA* y *vanB* son los determinantes genéticos de mayor interés epidemiológico. En

la Argentina, desafortunadamente el genotipo más frecuente es el *vanA*, inducible y generador de resistencia a teicoplanina y a altos niveles de vancomicina (Tabla 3). Datos nacionales indican que la resistencia a vancomicina se da en mayor medida en *Enterococcus faecium*, especie que presenta casi en forma excluyente el fenotipo VanA⁹.

Prevención y control de enterococos resistentes a vancomicina (EVR) en el hospital

Las medidas que deberían adoptarse en los hospitales, según las diferentes circunstancias por las que atraviesa cada uno de ellos pueden resumirse en la Tabla 4¹⁹.

Estudios de colonización rectal con EVR

Se ha demostrado que la vigilancia activa de colonización con EVR en áreas de riesgo resulta costo-efectiva y que es capaz de limitar sensiblemente la presencia de estos patógenos en los centros de internación siempre que se acompañe de

prácticas eficientes de aislamiento y cohortización de los pacientes colonizados²⁰.

En el Hospital Garrahan se han podido mantener los niveles de colonización por EVR dentro de valores casi constantes a lo largo de los últimos años. Las infecciones invasivas por EVR también se mantuvieron dentro de valores constantes (entre 2 y 8 infecciones por año)¹⁹.

Alternativas terapéuticas para infecciones por enterococos multirresistentes

Al margen de las posibilidades que parecen ofrecer algunas drogas en experimentación, no son muchas las opciones válidas para el tratamiento de infecciones graves por *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, ampicilina y a altos niveles de aminoglucósidos. Como agravante, la mayoría de los pacientes infectados con *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina presentan enfermedades debilitantes, largos períodos de internación y múltiples tratamientos con antibióticos por otras causas.

TABLA 4: MEDIDAS PARA REDUCIR LA DISEMINACION INTRAHOSPITALARIA DE ENTEROCOCOS RESISTENTES A VANCOMICINA (EVR).

Medidas de control	Hospitales sin ERV	Hospitales con baja prevalencia de EVR	Hospitales con alta prevalencia de EVR
Controlar el uso de antibióticos, incluyendo vancomicina	Sí	Sí	Sí
Programas de educación para el personal	Sí	Sí	Sí
Determinar la resistencia a vancomicina de todos los enterococos aislados de materiales clínicos	Sí	Sí	Sí
Cultivos de prevalencia	En forma semestral o anual en todo el hospital	Cultivar a los pacientes de la sala en que se detecta un portador (vigilancia pasiva) y en salas de alto riesgo. Realizarlos en forma semestral en todo el hospital	Solo ocasionalmente
Reconocimiento de portadores en las admisiones	Reconocimiento de pacientes provenientes de otros hospitales (vigilancia activa)	Reconocimiento de portadores en las readmisiones y en los pacientes provenientes de hospitales de alta prevalencia (vigilancia pasiva)	Solo en áreas de alto riesgo
Medidas de aislamiento de pacientes	Sólo en los casos positivos de pacientes provenientes de otros hospitales	Aislamiento	Cohortización
Uso de guantes	Precauciones estándar	Usar guantes para cada paciente	Usar guantes para cada paciente
Uso de camisolines	Precauciones estándar	Sólo si el contacto es importante	No parece tener demasiado beneficio
Lavado de manos	Precauciones estándar	Utilizar antiséptico	Utilizar antiséptico
Equipos individuales para pacientes colonizados	No	Equipos individuales o para una cohorte de portadores	Equipos individuales o para una cohorte de portadores
Discontinuar las precauciones	No aplicable	Se requiere de 3 cultivos negativos consecutivos en el término de al menos 3 semanas	Se requiere de 3 cultivos negativos consecutivos en el término de al menos 3 semanas
Limpieza de las habitaciones	Utilizar procedimientos estándar	Enfatizar la importancia de la limpieza y desinfección	Enfatizar la importancia de la limpieza y desinfección

Algunos autores han comprobado que la mortalidad asociada a bacteriemia por *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina podía llegar a más de un 70% y que en la mitad de esos casos esa mortalidad era directamente atribuible a la infección²¹.

Es importante diferenciar las alternativas recomendadas para infecciones graves, de opciones para infecciones urinarias y de los intentos fallidos realizados para poder descolonizar a los enterococos del tracto intestinal de los portadores.

En infecciones urinarias por EVR es posible el uso de nitrofurantoína, al menos en los casos en que la localización sea baja²². Otras alternativas son: ampicilina para infecciones urinarias por *E. faecalis* y otras especies distintas de *E. faecium*, vancomicina y nuevas fluoroquinolonas más activas frente a gram positivos (levofloxacina, gatifloxacina o moxifloxacina).

Generalmente se admite que las infecciones graves por enterococos (especialmente las endocarditis), deben ser tratadas con la combinación de un β -lactámico activo (penicilinas, aminopenicilinas o acilureidopenicilinas) o un glucopéptido acompañados con un aminoglucósido.

La inmensa mayoría de las cepas de *E. faecalis* y otras especies distintas de *E. faecium* continúan siendo sensibles a penicilina y aminopenicilinas a pesar de adquirir resistencia a glucopéptidos. En infecciones por estas especies si son resistentes a vancomicina, el único inconveniente estaría en la presencia simultánea también de resistencia a gentamicina y estreptomina, dado que esto impediría la sinergia con ampicilina. Un trabajo multicéntrico español no aleatorizado, observacional, de tratamiento de 43 pacientes con endocarditis con ampicilina + ceftriaxona documentó cifras de curación alentadoras²³. Daptomicina, un lipopéptido cíclico de reciente lanzamiento en la Argentina, es un antibiótico indicado para el tratamiento de infecciones graves por EVR, aunque se han detectado ya algunas cepas resistentes^{24,25}. Daptomicina, al menos in vitro, ha manifestado actividad sinérgica con rifampicina y ampicilina para EVR. Una revisión sistemática de casos en humanos y animales ha mostrado que aún sola, la daptomicina, aparece como una alternativa promisoriosa para el tratamiento de endocarditis por EVR²⁶. El inconveniente es que aún no ha sido aprobado su uso en el campo de la pediatría.

Linezolid es una oxazolidinona que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en un paso que no es compartido por otros antibióticos. De este modo, la aparición de resistencia sólo va a estar ligada a su uso. De hecho existen muy pocos casos documentados de resistencia a linezolid en enterococos y parece que su número no tiende a aumentar significativamente en el tiempo^{27,28}. En casos de endocarditis, a pesar de que resulta bacteriostática para

los enterococos, se obtuvo un 75% de cura clínica y microbiológica²⁹.

Resumiendo, los enterococos son patógenos oportunistas, en algunos casos de segunda línea, pero en otros habría que considerarlos como microorganismos de cuidado y de difícil tratamiento. Presentan varios factores de virulencia, una resistencia natural bastante frondosa y adquieren marcadores de resistencia que los convierten en gérmenes multirresistentes. Las alternativas más eficaces parecen ser las combinaciones de β -lactámicos o glucopéptidos sumados a los aminoglucósidos cuando no lo impiden los mecanismos de resistencia específicos.

Cuando las cepas son multirresistentes es necesario echar mano de los nuevos antibióticos disponibles (linezolid o daptomicina) o de nuevas combinaciones.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus aureus es un patógeno que causa infecciones de diversa gravedad en niños y adultos. Su frecuencia es alta y se estima en 28,4 casos por cada 100.000 personas en todas las edades³⁰. Esta bacteria ha desarrollado resistencia a la mayoría de los agentes antimicrobianos poco después de que éstos se comenzaron a utilizar en la práctica clínica. Así ocurrió con los antibióticos β -Lactámicos, considerados los más efectivos para el tratamiento de estas infecciones. En el año 1940 fue introducida la penicilina para uso clínico y en el año 1942 se detectaron los primeros aislamientos resistentes debido a la producción de una β -lactamasa (penicilinasas) plasmídica inducible. Rápidamente estas cepas se diseminaron alcanzando en la década del 70 una prevalencia mayor al 80% en todo el mundo, primero en hospitales y luego en la comunidad^{31,32}. En ese momento ya se contaba con penicilinas resistentes a penicilinasas (metecilina) y se habían descubierto las cefalosporinas que también evadían la acción de esas enzimas. Al año siguiente de la utilización exitosa de estas penicilinas resistentes a la penicilinasas, en 1960 *S. aureus* adquirió un nuevo elemento genético móvil denominado *Staphylococcal Chromosomal Cassette mec* (SCCmec) portador de los genes codificantes de una nueva proteína con capacidad disminuida para unir antibióticos β -lactámicos: PBP-2a. Este fenómeno resulta en el surgimiento de cepas de *S. aureus* resistentes a metecilina (MRSA) y además a todos los antibióticos β -lactámicos (excepto los nuevos anti-MRSA). Este hecho fue detectado en numerosas instituciones sanitarias de todo el mundo, en las cuales estas cepas de MRSA producían infecciones asociadas al hospital, por lo que se las denominó cepas de MRSA asociadas al hospital (HA-MRSA) alcanzando altas prevalencias con características de pandemia³².

La mayor parte de los pacientes infectados con cepas meticilino-resistentes reconocían algún factor predisponente para padecerla, tal como hospitalización, infección o colonización por MRSA o procedimientos invasivos (cirugía, hemodiálisis) en el año previo a la infección y catéter o dispositivo percutáneo en el momento de la detección de la infección^{33,34,35}.

Las tasas más altas (>50%) de infecciones nosocomiales por MRSA fueron reportadas en América del Sur, América del Norte, Asia y Malta³⁶. Estas altas tasas de MRSA a nivel hospitalario se produjeron por la emergencia con posterior diseminación de clones epidémicos de HA-MRSA multirresistentes (resistencia a más de tres antibióticos no β -lactámicos, en especial clindamicina) a partir de ciertos linajes genéticos exitosos de *S. aureus* sensibles a la meticilina que adquirieron diferentes tipos SCC-*mec*, generalmente el I, el II o el III^{32,36}.

En la Argentina, en los últimos años, aproximadamente el 50% de los aislamientos nosocomiales de *S. aureus* fueron resistentes a meticilina^{9,37,38,39,40}. A partir de estudios de vigilancia epidemiológica de las infecciones por MRSA, con cepas recuperadas en hospitales de Córdoba se detectó y caracterizó a nivel molecular a un nuevo clon epidémico de HA-MRSA como el más prevalente desde 1999 en esta ciudad, denominado clon Cordobés/Chileno (ST5-SCC*mec* I), que desplazó al clon pandémico Brasileño (ST239-SCC*mec* III)^{37,38,39}. Su diseminación se confirmó asimismo en todo el país, donde representaba el 47% de las infecciones por MRSA detectadas en los hospitales durante el mes de noviembre de 2009^{41,42}. También se lo encontró en países limítrofes y en toda la región andina de América del Sur^{43,44}.

El clon Cordobés/Chileno y el Brasileño son fenotípicamente multirresistentes a los antibióticos aunque el primero es sensible a TMS y el otro no^{45,46}. Consecuentemente, la diseminación del clon Cordobés/Chileno en el país explicaría la disminución paulatina de la resistencia a TMS detectada en Argentina durante los años 2000-2006, lo cual condujo a instaurar un cambio en la terapia empírica de las infecciones por MRSA asociadas al hospital^{9,40}.

En la última década se han reportado la colonización y/o infección con cepas de MRSA en pacientes sanos provenientes de la comunidad, sin factores de riesgo para adquisición nosocomial (HRF), a las cuales se las denominó "MRSA asociado a la comunidad" (CA-MRSA)⁴⁷. Estas cepas están dotadas de propiedades altamente virulentas, con características moleculares diferentes a las de origen hospitalario y producen infecciones particularmente de piel y tejidos blandos (SSTI), especialmente en pacientes pediátricos y adultos jóvenes. Además, CA-MRSA también es capaz de producir infecciones graves que incluso comprometen la vida

del paciente, como neumonía necrotizante, artritis y osteomielitis, fascitis necrotizante, endocarditis, púrpura fulminante, sepsis y piomiositis⁴⁸.

Las características más relevantes de estas cepas son la falta de multirresistencia acompañante a los antibióticos β -lactámicos, la presencia en su genoma de genes codificantes de ciertas toxinas, en especial la leucocidina de Pantón y Valentín (PVL) y de SCC*mec* más pequeños, de los tipos IV y V, asociados a linajes genéticos específicos (ST1, ST8-USA300, ST30, ST59, ST93 y ST80) con una distribución geográfica característica^{48,49,50}. Poco después, numerosos clones CA-MRSA surgieron en todos los continentes⁵⁰.

En la actualidad estas cepas CA-MRSA están involucradas también en infecciones nosocomiales que antes eran causadas exclusivamente por cepas HA-MRSA. Esto puede tener un impacto crucial sobre la salud pública, si se considera la alta virulencia, la elevada tasa de ataque y la transmisibilidad de estas cepas. Además, considerando que la población hospitalizada es particularmente vulnerable, las infecciones por CA-MRSA en estos pacientes tienen un elevado potencial para ocasionar una mayor morbimortalidad y, asociado a ello, un significativo incremento de los costos asistenciales^{51,52,53}.

La emergencia de cepas de CA-MRSA ha producido un alerta importante en muchos países, especialmente en EEUU, donde la prevalencia en varios estados es mayor al 50%, especialmente asociada a la diseminación del clon USA300⁴⁸.

En América del Sur se han reportado linajes específicos de CA-MRSA, como la variante sudamericana del clon USA300 en el Norte de América Latina y el "Southwest Pacific (SWP) clone" ST30-IV en Uruguay y regiones de Brasil^{54,55,56,57}.

En la Argentina, en un estudio de vigilancia realizado en Córdoba en 2005, se determinó una prevalencia de MRSA de 16% para infecciones asociadas a la comunidad. La proporción de CA-MRSA fue significativamente mayor en pediatría (33%) que en adultos (13%)³⁹.

Los estudios a nivel molecular de las primeras cepas de MRSA sensibles a gentamicina detectadas entre los años 2000 y 2001 en las provincias de Córdoba^{38,39}, Buenos Aires, Chaco y Neuquén⁵⁸ demostraron el surgimiento simultáneo del genotipo ST5-IV entre las infecciones por MRSA asociadas a la comunidad. La caracterización molecular de las cepas de un estudio realizado en Córdoba durante los años 2001-2006 demostró, además la diseminación en Córdoba, de este clon epidémico^{38,39}. En otro trabajo también se detectó este nuevo clon de CA-MRSA en provincias del este de nuestro país, confirmando su incrementada capacidad epidémica⁵⁹. Cabe destacar que este clon CA-MRSA no fue detectado en otra región del mundo como clon predominante⁵⁰.

En un trabajo multicéntrico nacional (2007) en pacientes pediátricos con infecciones por CA-MRSA atendidos en hospitales de Buenos Aires, Chaco, Corrientes, Jujuy y Santa Fe se detectó una tasa promedio de MRSA del 63% entre las infecciones asociadas a la comunidad⁶⁰. Además, se observó un importante incremento de las infecciones invasivas asociadas a estas cepas. Ambos fenómenos fueron debidos a la diseminación de este clon epidémico, que predominó tanto entre los pacientes pediátricos sin factores de riesgo (CA-MRSA) para infección por cepas hospitalarias (82%) como en aquéllos que los poseían (57%). Esta es una evidencia indirecta de la entrada de este clon al ámbito hospitalario en nuestro país⁶¹.

Para analizar el impacto que tenían este tipo de infecciones en todo el país, se organizó otro estudio multicéntrico (66 hospitales distribuidos en 20 provincias argentinas y CABA). La prevalencia de MRSA en la Argentina durante el mes de noviembre del año 2009 (n: 591 aislamientos de *S. aureus*) alcanzó el 54%, con predominio del fenotipo CA-MRSA (37%) sobre HA-MRSA (17%). La prevalencia de CA-MRSA varió entre el 5% y el 81%, con una tendencia a los valores más altos en el norte disminuyendo hacia el centro y sur del país. Se vio que las cepas CA-MRSA estaban diseminadas por todo el país, que una cuarta parte de las infecciones por CA-MRSA eran invasivas y que el 12% de las infecciones por MRSA de inicio en el hospital eran producidas por CA-MRSA⁴¹. Los estudios moleculares de este trabajo demostraron un importante cambio epidemiológico que consistió en la entrada a nivel hospitalario del clon CA-MRSA ST5-IV-PVL+, ocupando el segundo lugar luego del clon epidémico HA-MRSA Cordobés/Chileno (ST5-SCC*mec I*) entre las infecciones de inicio en el hospital. Asimismo, entre las infecciones de inicio en la comunidad se demostró una mayor proporción de MRSA (58%) que entre las detectadas en el hospital (49%). Esto estuvo relacionado a la diseminación de dos clones CA-MRSA: el ST5-IV-PVL+ y el ST30-IVc-PVL+, con profundas diferencias regionales y según el grupo etario (adultos y pediatría)⁴². En otro estudio, también se detectó el predominio de uno de estos clones, el ST30-IV-PVL+, entre pacientes adultos sin factores de riesgo para la infección hospitalaria con infecciones invasivas de inicio en la comunidad⁶².

La vancomicina ha sido históricamente la alternativa terapéutica para estos MRSA. Lamentablemente en los últimos años se han detectado cepas con sensibilidad reducida a este antibiótico (VISA), otras con una resistencia intermedia pero de carácter heterogéneo (hVISA) e incluso algunas pocas con resistencia a altos niveles de vancomicina (VRSA)^{65,66}. En este último caso, la adquisición de la resistencia se debió a la transferencia hori-

zontal de un transposón portador del gen *vanA* de *Enterococcus faecium*.

Si bien la resistencia de alto nivel a vancomicina es de suma importancia epidemiológica y clínica, hasta el momento se han detectado pocos aislamientos con el fenotipo VRSA (n: 14), la mayoría de los mismos pertenecieron al linaje CC5, uno al CC30 y el último detectado recientemente en Brasil al CC8, relacionado al clon USA300. Este último hallazgo, tiene implicaciones importantes porque pertenece a un linaje altamente epidémico en la comunidad que ha entrado y se ha diseminado también a nivel hospitalario, particularmente en EEUU⁶⁷.

Si bien son escasas las infecciones por VRSA y VISA documentadas en la literatura y la significación clínica de las cepas hVISA es incierta, hay autores que demostraron que la eficacia del tratamiento con vancomicina en MRSA se ve disminuida en infecciones por aislamientos con CIM $\geq 1 \mu\text{g/ml}$, a pesar de estar dentro de los valores definidos como sensibles por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁶⁸.

En nuestro país ya se han detectado los fenotipos h-VISA⁶⁹ y VISA⁷⁰ en aislamientos pertenecientes al clon CA-MRSA ST5-IV-PVL+ y también en aislamientos asociados a clones hospitalarios⁶¹. Estos hallazgos, son de suma importancia en la evaluación del tratamiento de infecciones severas por MRSA, en especial por CA-MRSA y cuando los valores de CIM de vancomicina están dentro del rango de sensibilidad. Más aún, es muy preocupante para la salud pública la detección de la capacidad de desarrollar el fenotipo h-VISA de este clon CA-MRSA, que le podría brindar una ventaja selectiva para su posterior diseminación tanto en los hospitales del país como hacia los países vecinos.

Con estos resultados se ha demostrado que la epidemiología clínica y molecular de las infecciones por *S. aureus* está cambiando drásticamente en nuestro país y en el mundo. El análisis de las estrategias para el control de la diseminación de MRSA tanto en el medio hospitalario como en la comunidad es el gran desafío de los efectores de salud.

ANAEROBIOS

Las bacterias anaerobias son los microorganismos numéricamente dominantes de la microbiota bacteriana normal y colonizan toda la superficie mucosa, de la boca al ano, del cuerpo humano^{71,72}. Los anaerobios recuperados con mayor frecuencia a partir de infecciones humanas pertenecen al grupo *Bacteroides fragilis* que comprende 10 especies muy relacionadas, entre las cuales *Bacteroides fragilis* es la especie tipo. La taxonomía del grupo *Bacteroides fragilis* actualmente se ha modificado por los avances de las técnicas moleculares y comprende cuatro géneros diferentes *Parabacteroides*, *Alistipes*, *Bacteroides* y *Odoribacter*. Al grupo *Bacteroides*

fragilis le siguen en frecuencia otros bacilos gram negativos pertenecientes a los géneros: *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. y *Fusobacterium* spp.

Entre los microorganismos anaerobios gram positivos de mayor recuperación en materiales clínicos se cuentan los cocos gram positivos (*Parvimonas*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus* y *Finegoldia*, entre otros) y los bacilos esporulados del género *Clostridium* y no esporulados de los géneros *Actinomyces* y *Propionibacterium*^{73,74}.

La prueba de sensibilidad por el método de difusión en agar (método de Kirby y Bauer) no tiene aplicación para las bacterias anaerobias. Según las pautas establecidas por el CLSI, las pruebas de sensibilidad (por dilución, Etest, detección de β -lactamasas, D test) sólo se aplican en situaciones especiales: infecciones severas y microorganismos de sensibilidad no predecible a los antibióticos, monitoreos periódicos y evaluación de la actividad de nuevos antibióticos⁷⁵.

Entre las bacterias anaerobias, el mecanismo de resistencia más frecuente a los antibióticos β -lactámicos es la producción de β -lactamasas cromosómicas o plasmídicas. Estas enzimas están presentes en un 92-96% en el grupo *Bacteroides fragilis* (en su mayoría cefalosporinasas y cefoxitinasas que confieren resistencia *in vitro* a aminopenicilinas) y 50 y 30% en los géneros *Prevotella* y *Porphyromonas*, respectivamente, (también cefalosporinasas y cefoxitinasas que confieren resistencia además a cefoxitina y cefotaxima). En el 20-30% en *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium mortiferum* y *Fusobacterium varium* se encuentran β -lactamasas del tipo de las penicilinasas.

Los cocos gram positivos anaerobios, los cocos gram negativos y los clostridios no producen β -lactamasas (excepto las del tipo de las penicilinasas descritas en *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridioforme* y *Clostridium ramosum*). A pesar de no poseer β -lactamasas, la diversidad de resultados reportados en la literatura con respecto al comportamiento *in vitro* frente a los antibióticos β -lactámicos de los clostridios, no *C. perfringens*, nos indica que su sensibilidad puede no ser predecible y es conveniente estudiarla cuando la gravedad de la infección lo imponga. La combinación de un inhibidor de β -lactamasas con un antibiótico β -lactámico, como ampicilina-sulbactama (AMS), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) o piperacilina-tazobactama (PTZ), recupera la actividad del antibiótico. La resistencia global *in vitro* en el grupo *Bacteroides fragilis* frente a estas combinaciones en nuestro medio osciló entre el 10-15% para AMS y AMC y fue menor del 1% frente a PTZ^{75,76}.

A mediados de los ochenta se publicaron los primeros informes de resistencia a imipenem en EE.UU. que daban cuenta de dos aislamientos clínicos de *B. fragilis* con resistencia mediada por una

metalo- β -lactamasa que les confería resistencia a la mayoría de los antibióticos β -lactámicos, incluyendo cefamicinas y carbapenemes. A diferencia de la cefalosporinasa endógena de *B. fragilis*, su actividad no es inhibida por ácido clavulánico ni sulbactama. También se ha descrito resistencia a carbapenemes en el grupo *Bacteroides fragilis* (excluyendo la especie *B. fragilis* propiamente dicha) no mediada por la metalo- β -lactamasa. Hasta la fecha en el Hospital Garrahan se ha detectado la emergencia de esta resistencia en tres aislamientos: dos *B. fragilis* y una perteneciente al grupo *Bacteroides fragilis* pero no de la especie *B. fragilis*, con y sin producción de la enzima, respectivamente. Existen otros mecanismos que confieren resistencia a los antibióticos β -lactámicos: la baja afinidad del antibiótico por su sitio de unión en su blanco de acción y las alteraciones en su ingreso a la célula bacteriana por problemas de permeabilidad. Estos mecanismos, descritos en cocos gram positivos, bacilos y cocos gram negativos, confieren resistencia a cefalosporinas y AMS. En la experiencia del Hospital Garrahan, la resistencia global de los cocos gram positivos fue de un 6% y un 5% a amoxicilina y a AMC, respectivamente. Sin embargo la resistencia en particular de la especie *Peptostreptococcus anaerobius* fue de 36.4% y 27.3% a amoxicilina y AMC, respectivamente. Por su parte *Veillonella* spp. mostró >50% y 20% de resistencia a penicilina y piperacilina, respectivamente. En cambio ampicilina tuvo 100% actividad⁷⁷. Una vez más la heterogeneidad en la actividad de los antibióticos, dependiente de especie, resalta la importancia de contar con técnicas modernas para una rápida y precisa identificación a nivel de género y especie.

Los macrólidos tienen mejor actividad *in vitro* sobre *Porphyromonas* spp. y *Prevotella* spp. que sobre *Fusobacterium* spp. y bacilos gram-negativos del grupo *Bacteroides fragilis*. Su actividad también fue mejor sobre clostridios que sobre los cocos gram positivos (Tabla 5). Por otro lado, en Europa, Oprica y col. encontraron un 17% de resistencia a eritromicina en *Propionibacterium acnes*⁷⁸.

Clindamicina, una lincosamida antes muy utilizada empíricamente en infecciones abdominales, ha perdido efectividad frente al grupo *Bacteroides fragilis*, con niveles de resistencia que varían entre diferentes centros y que en nuestro país osciló entre el 20 y el 40%⁷⁶.

La resistencia a clindamicina se debe a alteraciones en su sitio blanco. En un estudio *in vitro* llevado a cabo en el 2005 en el Hospital Garrahan, sobre 94 cepas de cocos gram positivos anaerobios, el 7% presentó resistencia a clindamicina. Reig y col. en el año 1992, en España encontraron un 22,8% de resistencia a la eritromicina en *Peptostreptococcus* spp con un 5,1% de resistencia inducible. (mecanismo iMLS_g) y un 17,7% de resistencia constitutiva

TABLA 5: ACTIVIDAD DE LOS MACROLIDOS SOBRE LAS BACTERIAS ANAEROBIAS AISLADAS EN LA ARGENTINA.

Género o grupo	CIM 90 de eritromicina*
<i>Porphyromonas</i> spp.	≤0,25 µg/ml
<i>Prevotella</i> spp.	≤4 µg/ml
<i>Fusobacterium</i> spp.	2 - >16µg/ml
Grupo <i>Bacteroides fragilis</i>	16 - >32 µg /ml
<i>Clostridium</i> spp.	≤4 µg/ml
Cocos gram positivos anaerobios	0,5 - >32 µg /ml

* La CIM90 es un valor que corresponde a la concentración del antibiótico capaz de inhibir al 90% de las bacterias de esa especie, género o grupo.

a clindamicina (mecanismo cMLS_B)⁷⁹. En la Argentina el 18% de las cepas resistentes a eritromicina presentaban el fenotipo de resistencia inducible a clindamicina. Si bien los macrólidos y las lincosamidas son, en comparación, más efectivos sobre los clostridios y los bacilos gram positivos no esporulados, no lo son en un 100%. Oprica y col. mostraron un 15% de resistencia a clindamicina en *P. acnes*⁷⁸.

Las viejas quinolonas fluoradas, como ciprofloxacina y norfloxacina, son inactivas contra la mayoría de las bacterias anaerobias. En cambio quinolonas de última generación, como levofloxacina y moxifloxacina, tienen actividad contra los anaerobios. Estudios de vigilancia de la sensibilidad en nuestro país arrojaron un 7%-15% de resistencia a moxifloxacina en el Grupo *Bacteroides fragilis*. Goldstein y col. reportaron que el 92,7% de los aislamientos de *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *C. perfringens*, *Eubacterium* spp. y cocos gram positivos anaerobios eran sensibles a ≤2 µg/ml de moxifloxacina⁸⁰. Dos mecanismos de resistencia a quinolonas han sido descritos en anaerobios: alteraciones en el sitio blanco y la presencia de bombas de eflujo.

Metronidazol sigue siendo una droga muy efectiva contra las bacterias anaerobias excluyendo a los bacilos gram positivos no esporulados (*Actinomyces* spp., *Propionibacterium* spp., *Lactobacillus* spp., etc.), que muestran resistencia natural entre el 30 y el 50%. Sin embargo y aunque excepcional, la resistencia a metronidazol ha sido descrita en varias partes del mundo en la mayoría de las otras bacterias anaerobias: *B. fragilis*, *Prevotella* spp., *Veillonella* spp., *C. perfringens*, entre otros. Dicha resistencia se debe a alteraciones en la nitroimidazol reductasa, enzima encargada de activar al antibiótico una vez internalizado en la bacteria.

La mayoría de los cocos y bacilos gram positivos anaerobios son inhibidos por 2 µg/ml de vancomicina pero se ha descrito resistencia intrínseca a los glucopéptidos en clostridios: *C. ramosum*, *C. innocuum* y *C. clostridioforme*⁸¹.

Clostridium difficile surgió como el agente más importante de diarreas intrahospitalarias por su resistencia a antibióticos: ampicilina, cefoxitina, imipenem, clindamicina. Esta característica, sumada a sus propios factores de virulencia y a otros de riesgo propios del paciente, marcó su impacto epidemiológico. Metronidazol y vancomicina siguen siendo los antibióticos de elección en el primer episodio de diarrea asociada a *C. difficile*. Sin embargo la presencia de subpoblaciones con sensibilidad reducida a metronidazol en el intestino humano puede ser uno de los factores responsables de una menor eficacia del antibiótico *in vivo*⁸².

En una serie de 64 cepas estudiadas en el Hospital Garrahan se encontró un 100% de sensibilidad *in vitro* a metronidazol, rango de CIM de ≤0,03 - 2 µg/ml. El rango de CIM para vancomicina fue de 0,125-8 µg/ml^{83,84,85,86}.

Fidaxomicina (de la familia de los macrocíclicos) y rifaximina (derivado de la rifamicina) son antibióticos alternativos frente a la recurrencia de diarrea asociada a *C. difficile*. Liao y col. en un estudio multicéntrico sobre más de 400 aislamientos de *C. difficile* informaron excelente actividad *in vitro* de fidaxomicina y un valor de CIM >128 µg/ml de rifamicina en más del 10% de los aislamientos procedentes de Taiwan⁸⁷.

ENTEROBACTERIAS Y BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES

Los bacilos gram negativos tienen la posibilidad de resistir a la acción de los antibióticos beta lactámicos por cuatro mecanismos básicos:

- 1) Producción de enzimas que degradan a estos antibióticos (β-lactamasas).
- 2) Disminución del pasaje de estos antibióticos a través de su membrana externa, impidiéndoles llegar a su sitio de acción (disminución del tamaño de poros o del número de porinas).
- 3) Expulsión de los antibióticos del interior de la bacteria por bombas de eflujo activo.
- 4) Disminución de la afinidad del sitio de acción por estos antibióticos (cambios en las proteínas ligadoras de penicilina o PBP).

Estos mecanismos suelen ser concurrentes, pero el más importante, por frecuencia y por nivel de resistencia es el primero de ellos y a él nos referiremos especialmente en esta actualización.

Las β-lactamasas se describieron primero en estafilococos, luego aparecieron otras en gram negativos que eran capaces de otorgarles resistencia a las aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina) y otras penicilinas. Se las llamó β-lactamasas de espectro ampliado (BLEA) y fueron las responsables de la pérdida de actividad de estos compuestos sobre por ejemplo *Escherichia coli* y *Haemophilus influenzae* desde la década del 70. Luego, la variedad de β-lactamasas creció en forma exponencial,

de tal forma que da lugar a un verdadero capítulo dentro de esta actualización.

β -lactamasas de impacto clínico

Los antibióticos β -lactámicos son las drogas más usadas para el tratamiento de infecciones bacterianas tanto en la comunidad como en el hospital debido a su amplio espectro, su baja toxicidad y su actividad fuertemente bactericida sobre la mayoría de los microorganismos.

Prácticamente todos los miembros de la familia Enterobacteriaceae se caracterizan por poseer mecanismos enzimáticos cromosómicos naturales de resistencia a estas drogas (enzimas de tipo AmpC). *Salmonella* es el único género en el cual no se detectó la producción de β -lactamasas cromosómicas. Algunas de estas bacterias, como *E. coli* la expresan en tan bajo nivel que no comprometen la acción de las aminopenicilinas ni de las cefalosporinas de primera generación (p. ej. cefalexina, cefalotina).

La producción de β -lactamasas del tipo AmpC cromosómicas puede aumentar por presencia de algún inductor (cefotaxima, imipenem) o peor, sin la necesidad de ningún inductor (expresión constitutiva). Estos genes hasta hace poco tiempo solo estaban localizados en el cromosoma bacteriano y determinaban que únicamente se transmitieran en forma vertical (de bacteria madre a bacterias hijas). Sin embargo hubo algunos que pasaron a ser parte de plásmidos y dieron lugar a las AmpC plasmídicas, de transmisión horizontal.

Además, las bacterias son capaces de adquirir otros mecanismos enzimáticos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos como resultado de la captación de elementos de ADN móviles (plásmidos, transposones, etc.) o a través de mutaciones cromosómicas.

La adquisición de β -lactamasas plasmídicas de espectro ampliado, puede llegar a comprometer la actividad de aminopenicilinas, cefalosporinas de primera generación, acilureidopenicilinas (piperacilina) e incluso, cuando se producen en grandes cantidades, la de sus combinaciones con inhibidores como sulbactama, ácido clavulánico y tazobactama, pero no la de cefalosporinas de tercera o cuarta generación. Estas enzimas se encuentran codificadas por elementos móviles tales como plásmidos, transposones o integrones, que permiten su transmisión horizontal (de bacteria a bacteria, aunque no sean de la misma especie).

Mutaciones en los genes que codifican estas enzimas han sido responsables de la emergencia de resistencia a cefalosporinas de tercera o cuarta generación por convertirse en β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Los únicos β -lactámicos que resultaban indemnes frente a estas enzimas, los carbapenemes, fue-

ron luego vulnerados por la presencia de enzimas llamadas carbapenemasas, capaces de degradar también a todas las penicilinas y cefalosporinas.

1) β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las BLEE son enzimas que confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, y monobactames. Escapan a su acción, las cefamicinas (cefotaxima, cefotetan, etc.) y los carbapenemes (Tabla 6). Estos últimos se convirtieron entonces en drogas de elección para el tratamiento de infecciones por bacterias productoras de BLEE.

La presencia de una BLEE puede determinar falla de tratamiento de infecciones severas con cefalosporinas de tercera y cuarta generación y monobactames, inclusive en aquellos aislamientos que pudieran presentarse como sensibles en el antibiograma^{88,89}.

En nuestro país los niveles de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación mediados por BLEE han permanecido sostenidamente elevados durante la última década en todos los géneros bacterianos. En la Tabla 6 se muestra a manera ilustrativa la proporción de aislados clínicos con BLEE en la Argentina.

TABLA 6: RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACION MEDIADA POR BLEE EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN LA ARGENTINA (RED WHONET ARGENTINA).

Especies	Procedencia	Porcentaje de R por BLEE
<i>E. coli</i>	Hospitalaria + comunidad	10%
<i>E. coli</i>	Intrahospitalaria	20%
<i>K. pneumoniae</i>	Hospitalaria + comunidad	47%
<i>K. pneumoniae</i>	Intrahospitalaria	59%
<i>Enterobacter</i> spp.	Hospitalaria + comunidad	50%
<i>Enterobacter</i> spp.	Intrahospitalaria	57%
<i>Citrobacter</i> spp.	Hospitalaria + comunidad	46%
<i>Citrobacter</i> spp.	Intrahospitalaria	52%
<i>Proteus</i> spp.	Hospitalaria + comunidad	28%
<i>Proteus</i> spp.	Intrahospitalaria	37%

N total = 26.604 aislamientos; R: resistencia

En la Argentina, desde los inicios de esta "epidemia", a fines de la década del 80, la BLEE mayoritariamente recuperada ha sido la del tipo CTX-M-2, que afecta fuertemente a la ceftriaxona y a la cefotaxima pero con muy poca actividad in vitro sobre ceftacidima.

A partir de los comienzos del año 2000, se observó a nivel global un fuerte incremento en la recuperación de BLEE de naturaleza CTX-M, superando en EEUU y Europa, a las BLEE dominantes hasta ese momento como las de tipo TEM o SHV. La movilización intercontinental del clon pandémico y multirresistente de *E. coli* ST131 productor de CTX-M-15 (o CTX-M-14 en menor medida) y responsable de infecciones severas a nivel comunitario, ha sido la causa de este cambio epidemiológico⁹⁰.

Recientemente, se ha observado que la combinación de β -lactamasas, particularmente de la familia CTX-M, junto con impermeabilidad de la membrana externa (mecanismos concurrentes) puede conferir resistencia a carbapenemes, afectando fuertemente a los carbapenemes más lábiles como el ertapenem y, de manera más marginal, la actividad del imipenem⁹¹.

Dado que la presencia de una BLEE puede determinar falla de tratamiento de infecciones severas con cefalosporinas de espectro extendido, la correcta detección de este mecanismo de resistencia en los aislamientos clínicos es, una gran responsabilidad del laboratorio de microbiología. Por ello, y en contraposición al CLSI, los Laboratorios de Referencia de 17 países de la Región de las Américas (Red ReLAVRA), incluida la Argentina, han propuesto a los laboratorios clínicos del continente la necesidad prudente de continuar con la búsqueda, reporte e informe de BLEE en las pruebas de rutina hasta que surja información clínica relevante para cambiar de criterio⁹².

2) β -lactamasas del tipo AmpC plasmídicas (BLAP)

Las BLAP tienen su origen en las β -lactamasas AmpC cromosómicas naturales, propias de *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*. No se han descrito a la fecha, BLAP derivadas de las β -lactamasas AmpC cromosómicas de otras especies de *Enterobacter*, *Providencia*, *Serratia* ni de *P. aeruginosa*.

Las BLAP, al igual que sus progenitoras cromosómicas, confieren un patrón característico de resistencia a los antibióticos β -lactámicos que incluye: resistencia a amino, carboxi y ureidopenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación y, como característica distintiva, resistencia a cefamicinas (cefexitina). La actividad in vitro sobre las cefalosporinas de tercera generación y el aztreonam es variable. Por el contrario, las BLAP tienen muy débil actividad sobre cefalosporinas de cuarta generación (cefepima) al igual que sobre los carbapenemes. Estas BLAP, a diferencia de las BLEE, no son inhibidas por los inhibidores clásicos de β -lactamasas como el ácido clavulánico, aunque pueden ser levemente inhibibles por

sulbactama y tazobactama. Los inhibidores por excelencia de estas enzimas son los compuestos derivados del ácido borónico⁹³.

Hasta la fecha, es escasa la bibliografía internacional sobre la utilidad clínica de las cefalosporinas de tercera generación en infecciones provocadas por enterobacterias con BLAP. A la hora de guiar el tratamiento antimicrobiano, sería prudente evitar el uso de las cefalosporinas de tercera generación en infecciones severas en base a que las resistencias enzimáticas por BLAP elevan poblacionalmente las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de los sustratos afectados y a su vez, estos valores son plausibles de ser afectados por inóculos bacterianos de alta densidad. Las cefalosporinas de cuarta generación son bastante estables a la hidrólisis mediada por BLAP y podrían constituir una opción a los carbapenemes para el tratamiento de cepas productoras de este tipo de enzimas. La utilización de cefepima en cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación como las productoras de BLAP, podría seleccionar con relativa facilidad mutantes de permeabilidad que elevarían las CIM de estas cefalosporinas a niveles superiores a los puntos de la población salvaje (resistencia poblacional)^{94,95,96}.

En la Argentina se documentaron aislamientos de *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. portadores de BLAP⁹⁷⁻⁹⁸. Estos datos de emergencia nacional establecen la necesidad de vigilar la aparición de perfiles de resistencia compatibles con el mecanismo aquí descrito para evitar la generación de brotes de distinta magnitud.

3) Carbapenemasas

Las carbapenemasas son β -lactamasas que hidrolizan (inactivan) significativamente carbapenemes además de otras penicilinas y/o cefalosporinas. Hasta la fecha más de 200 β -lactamasas poseen capacidad hidrolítica sobre los carbapenemes. Las carbapenemasas pueden ser propias de especie, como por ejemplo L1 en *Stenotrophomonas maltophilia*, POM-1 de *Pseudomonas otitidis*, PAM-1 de *Pseudomonas alcaligenes*, etc. o bien pueden ser adquiridas y, por ende, potencialmente movilizadas por plásmidos, integrones y demás estructuras genéticas movilizables. Las carbapenemasas adquiridas más frecuentemente detectadas en la práctica clínica se resumen en la Tabla 7.

En los últimos años se ha documentado la emergencia y diseminación de distintos tipos de carbapenemasas en nuestro país. Sin embargo, solo las carbapenemasas de naturaleza OXA de *Acinetobacter* spp. y la carbapenemasa denominada KPC (siglas derivada de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa) han alcanzado proporciones epidémicas en toda la extensión del territorio argentino. Los primeros

TABLA 7: CARBAPENEMASAS ADQUIRIDAS MAS FRECUENTES.

Clasificación de Ambler	Carbapenemasa	Perfil de inhibición	Año de primera detección en Argentina	Situación epidemiológica (2014)
A (Serino β -lactamasas)	KPC	APB	Enterobacterias: 2006 <i>P. aeruginosa</i> : 2006	Endemia, hiperendemia en algunas regiones del país (K. pneumoniae en el AMBA y <i>P. aeruginosa</i> en la Patagonia andina), brotes activos
	NMC-A, Imi, Sme, GES	APB, CLAV	Enterobacterias: 2002 <i>P. aeruginosa</i> : 2009	Casos esporádicos, ocasionalmente brotes autolimitados
B (metalo- β -lactamasas)	VIM, IMP, SPM	EDTA, dipicolínico	<i>Pseudomonas</i> : 2002 <i>Acinetobacter</i> : 2006 Enterobacterias: 2008	Casos esporádicos, ocasionalmente brotes autolimitados, endemia en algunas regiones del país (SPM-1 en NOA)
	NDM	EDTA, dipicolínico	Enterobacterias: 2013 <i>Acinetobacter</i> : 2014	Emergencia
D (Serino β -lactamasas)	OXA-23, OXA-58	No posee	<i>Acinetobacter</i> : 1998	Hiperendemia, brotes activos
	OXA-163, OXA-247	No posee	Enterobacterias: 2008	Emergencia. Diseminación activa en progreso (policlonal).
	OXA-48	No posee	No ha sido detectada hasta la fecha en la Argentina	

APB: derivados del ácido fenil borónico; CLAV: ácido clavulánico; EDTA: ácido etilendiaminotetraacético; AMBA: área metropolitana de Buenos Aires.

hallazgos de KPC en Argentina se produjeron a finales del año 2006 simultáneamente en dos áreas geográficas distantes y, por ende, aparecen como eventos independientes: *K. pneumoniae* y *C. freundii*, en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y *P. aeruginosa* en San Carlos de Bariloche^{99,100}.

La expansión de un tipo clonal dominante de *K. pneumoniae* productor de KPC, perteneciente al tipo de secuencia 258 (MLST), reconocido como el mayor responsable de la dispersión global de esta carbapenemasa, ha sido también el que se diseminó y ha mantenido una persistencia endémica de KPC en nuestro país¹⁰¹.

Recientemente, se han detectado los primeros hallazgos de la metalo- β -lactamasa Nueva Delhi (NDM) en la Argentina¹⁰². En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires se detectó la expansión clonal de una cepa de *Providencia rettgeri* portadora de esta enzima, que afectó a dos hospitales generales de esa localidad. El hallazgo de cepas productoras de NDM debe ser considerado de alto riesgo epidemiológico ya que esta carbapenemasa ha experimentado una profusa diseminación global en menos de un lustro de existencia. A diferencia de KPC, donde la dominación por un único tipo clonal es lo más frecuentemente reportado (cepa hiperendémica), los países que han documentado la presencia de NDM sobrellevan simultáneamente diseminación vertical (expansión clonal) como así también horizontal (transferencia a otras especies de bacilos gram negativos). Además, los gérmenes productores de NDM son capaces de lograr una gran diseminación tanto a nivel nosocomial como así también en el ambiente extrahospitalario. Bacterias portadoras de NDM han sido recuperadas de

cursos de agua potable, plantas potabilizadoras de agua (efluentes sometidos a cloración) y de animales para consumo alimentario.

Las distintas clases de carbapenemasas poseen un espectro de actividad distintivo. KPC, OXA-163 y GES son las denominadas carbapenemasas extremas puesto que arrasan con la actividad de todos los agentes β -lactámicos. Mas aún, KPC tiene una capacidad hidrolítica propia y extendida sobre los inhibidores de β -lactamasas clásicos como ácido clavulánico, sulbactama y tazobactama. Las metalo- β -lactamasas (MBL) tienen como característica distintiva su falta de actividad sobre el aztreonam mientras que las enzimas derivadas de OXA-48, carecen de actividad sobre cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Tabla 8).

Lamentablemente, la mayoría de los microorganismos productores de MBL u OXA-48, coproducen BLEE, alcanzando de esa forma un espectro de resistencia fenotípica similar al de las carbapenemasas extremas^{103,104}.

Para definir la presencia de una carbapenemasa, el Laboratorio Nacional de Referencia diseña y actualiza anualmente algoritmos autoexplicativos y adaptados a la circulación de mecanismos/clones locales y contempla posibles contingencias de amenazas regionales para su detección precoz (<http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmo/>). Del mismo modo, el Laboratorio Nacional de Referencia elabora modelos de informes para los laboratorios de microbiología de rutina, de manera de incluir la evidencia clínica y epidemiológica más relevante y actual y potenciar la comunicación con el equipo médico y demás efectores de salud (<http://antimicrobianos.com.ar/category/alerta/>).

TABLA 8: ESPECTRO DE ACTIVIDAD DE LAS DIFERENTES CARBAPENEMASAS COMPARADO CON EL DE OTRAS β -LACTAMASAS.

Enzimas	PEN	CEF 1	MON	CEF 3	CARB
Carbapenemasas extremas (KPC, OXA-163, GES)	S	S	S	S	S
Metallo- β -lactamasas Carbapenemasas NDM, VIM, IPM	S	S	R	S	S
Carbapenemasas OXA-48, Sme, IMI, NMC	S	S	R	R	S
β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)	S	S	S	S	S*
β -lactamasas AmpC desreprimidas	S	S	S	S	S*

PEN: penicilinas, CEF 1: cefalosporinas de primera generación, MON: monobactames, CEF 3: cefalosporinas de tercera y cuarta generación, CARB: carbapenemes. S y R: sensibilidad y resistencia del antibiótico a la actividad enzimática de la β -lactamasa.

* Cuando se asocia el mecanismo de impermeabilidad puede estar comprometida la actividad de los carbapenemes.

Las consecuencias clínicas producto de la emergencia de carbapenemasas comenzaron a ser exploradas en los últimos años debido a de la pandemia de KPC y NDM. Cada vez más reportes demuestran que la producción de carbapenemasa por una bacteria es un factor independiente de mal pronóstico (mortalidad) y que tiene asociada una mayor proporción de fracasos terapéuticos e incremento de costos hospitalarios cuando se comparan con cepas de igual especie bacteriana que no producen este mecanismo de resistencia^{105,106}.

Una de las principales causas de mayor mortalidad asociada a carbapenemasas resulta del tratamiento empírico inicial inapropiado durante las primeras 72 h. Es por ello que se hace imperiosa la detección precoz y precisa de la presencia de carbapenemasas en el laboratorio de microbiología clínica.

El régimen antimicrobiano ideal para el tratamiento de infecciones producidas por enterobacterias productoras de carbapenemasas aún no se ha determinado. Sin embargo, de acuerdo con recientes observaciones clínicas, los pacientes con infecciones severas por enterobacterias productoras de carbapenemasas se pueden beneficiar de la utilización de combinaciones específicas de antibióticos. En contraposición, el uso individual de sustratos afectados por la enzima como penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes y la monoterapia con agentes no beta-lactámicos con sensibilidad *in vitro*, como colistina y tigeciclina, resulta un factor independiente de mal pronóstico.

Más aún, la evidencia clínica sugiere que de todas las posibles combinaciones de antimicrobianos analizadas, la inclusión de un carbapenem con al menos otro compuesto activo (no beta-lactámico) proporciona el mayor beneficio terapéutico contra enterobacterias productoras de carbapenemasas. Para lograr un efecto protector, el carbapenem debe ser administrado en dosis máxima y en infusión prolongada (>3h). Solo meropenem o doripenem poseen estabilidad química para permanecer estables en solución >3h a temperatura ambiente.

Existe consenso reciente, en que el beneficio

terapéutico de la inclusión del carbapenem se limita a los microorganismos que poseen moderados niveles de resistencia a carbapenem (CIM ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$). En cepas con alta resistencia a meropenem o doripenem (CIM ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$), el agregado del carbapenem no se traduce en una superioridad en el desempeño de la combinación respecto de otras que no lo incluyen. En la Tabla 9 se resumen reportes clínicos representativos que demuestran eficacia de terapia combinada para enterobacterias productoras de carbapenemasas en infecciones severas.

En la Argentina, como se mencionara anteriormente, la epidemiología de las enterobacterias resistentes a los carbapenemes es fuertemente dominada por *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC, mayoritariamente perteneciente al tipo clonal 258. Hasta fines de 2013, se observó que la mayoría de los aislamientos remitidos al Laboratorio Nacional de Referencia presentaban niveles moderados de resistencia a meropenem, con valores de CIM que permitirían su inclusión en una combinación de antimicrobianos (Tabla 10).

La inclusión de un carbapenem, en la modalidad de alta dosis e infusión prolongada, con al menos otro compuesto activo (no beta-lactámico) ha sido también recomendada recientemente para los aislamientos de enterobacterias resistentes a carbapenemes de origen neonatal y/o pediátrico (Figura 1)¹¹¹.

La actividad de agentes no beta-lactámicos para enterobacterias productoras de KPC, se muestra en la Tabla 11, en donde se puede observar la actividad antibacteriana casi uniforme, de colistina, tigeciclina y fosfomicina endovenosa (i.v.). Es así que se han constituido en las opciones más probablemente aptas para incluir en las combinaciones de antimicrobianos destinadas a la terapéutica de enterobacterias resistentes a carbapenemes. Dada la pobre actividad de las demás drogas (aminoglucósidos, fluoroquinolonas, TMS, rifampicina, cloranfenicol, nitrofuranos), se recomienda un uso prudente de colistina, tigeciclina y fosfomicina i.v. y de ser posible, restringir su aplicación hospitalaria solo para aislados con resistencias extremas.

TABLA 9: EVOLUCION DE SERIES DE CASOS DE BACTERIEMIA POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPE-NEMASAS.

Germen y mecanismo de resistencia	Tipo de infección	Mortalidad*			Referencia
		Monoterapia	Terapia combinada		
			Todas las combinaciones	Combinación con un carbapenem**	
K. pneumoniae KPC	Bacteriemia	NC***	35,5%	11,5%(CIM≤4μg/ml)	107
K. pneumoniae KPC	Bacteriemia	57,8%	13,3%	NC	108
K. pneumoniae KPC y MBL	Bacteriemia y otros focos	47 – 54%	29%	8%(CIM≤4μg/ml)	105
K. pneumoniae KPC	Bacteriemia	53,3%	34,1%	12,5%(CIM≤16μg/ml)	109
K. pneumoniae KPC, MBL y MBL + KPC	Bacteriemia	44,4%	27,2%	19,3%(CIM ≤8μg/ml)	110

* Mortalidad a 28 o 30 días.

** Meropenem o doripenem en alta dosis y en infusión > 3h. Entre paréntesis se muestra el valor de CIM de meropenem para las bacterias de los pacientes incluidos en el grupo que recibieron el carbapenem como parte del tratamiento combinado.

*** NC, no calculado.

TABLA 10: DISTRIBUCION DE LAS CIM DE MEROPENEM EN ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A CARBAPENEMES POR PRODUCCION DE KPC.

Aislamientos KPC+	% de cepas con CIM de meropenem	
	≤8 μg/ml	≤16 μg/ml
Enterobacterias	70	82
Klebsiella pneumoniae*	75	87

* No se observaron diferencias significativas entre los distintos tipos de secuencias (STs) de Klebsiella pneumoniae para los porcentajes indicados. Sin embargo, ningún aislamiento perteneciente al ST258 presentó un valor CIM de meropenem ≤2 μg/ml.

TABLA 11: ACTIVIDAD DE ANTIBIOTICOS NO B-LACTAMICOS SOBRE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A CARBAPENEMES.

Antibióticos	% de sensibilidad
Tigeciclina	98
Fosfomicina	90
Colistina	80
Minociclina	68
Amicacina	20
Fluoroquinolonas/gentamicina	10
Nitrofuranos/TMS	6
Cloranfenicol/rifampicina	2

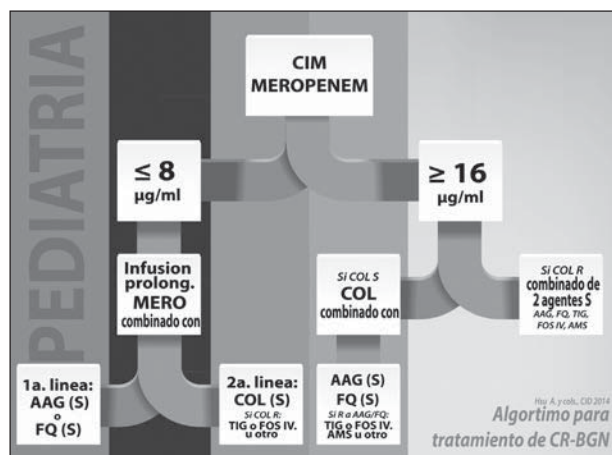


Figura 1: Algoritmo para guiar el tratamiento de infecciones producidas por enterobacterias resistentes a carbapenemes. MERO: meropenem; AAG: aminoglucósido. FQ: fluoroquinolona; COL: colistina; TIG: tigeciclina; FOS: fosfomicina; AMS: ampicilina - sulbactama; S: sensible.

posibles cambios de este escenario que pudieran afectar la implementación de la presente normativa sugerida para el tratamiento de infecciones severas por enterobacterias resistentes a carbapenemes. Estos cambios podrían ser la emergencia de nuevos mecanismos de resistencia y/o nuevos clones o el incremento de los niveles de resistencia de los clones actualmente circulantes.

Para las demás bacterias y otras carbapenemasas como OXA-48, hasta la fecha no existen evidencias clínicas específicas que demuestren la eficacia de la terapia combinada. Sin embargo, de manera precautoria, y siempre que el contexto clínico del paciente lo permita, se han comenzado a utilizar combinaciones específicas de antibióticos para todas la bacterias productoras de carbapenemasas independientemente de la especie.

Frente a esta situación epidemiológica de alerta global con la emergencia de nuevos mecanismos de resistencia (NDM-1, OXA-163, etc.) junto a la persistente diseminación de KPC en Argentina, alentamos al equipo de salud a realizar un esfuerzo para la

Dado que la epidemiología por carbapenemasas está en constante evolución a nivel global, se hace imprescindible vigilar de manera continua los

detección y contención de bacterias con resistencia extrema. La dinámica de diseminación de los mecanismos descritos y la emergencia potencial de nuevos mecanismos, hacen imprescindible la necesidad de realizar un abordaje conjunto desde todas las áreas involucradas en la salud humana.

CONCLUSION

En esta carrera desigual contra seres microscópicos que se adaptan continuamente a las condiciones adversas, seguimos perdiendo. Es hora de buscar alternativas superadoras y, por sobre todas las cosas, detener la circulación de clones epidémicos multirresistentes. El control de infecciones es una tarea ardua y tediosa, pero debe ser permanente para obtener los resultados deseados.

En Japón, disminuyendo el consumo de macrólidos en la década del 70 pudieron disminuir la resistencia en *Streptococcus pyogenes* de un 60% a prácticamente cero¹¹². Si bajamos la presión de selección reduciendo el consumo de antibióticos y sobre todo, si no hacemos uso irracional de los mismos quizás podremos tener resultados más satisfactorios.

REFERENCIAS

1. Murray, B.E. The life and the times of *Enterococcus*. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 45-65.
2. Kernodle DS. Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics. En: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI (ed.). Gram-positive pathogens, p.609-20, ASM Press, Washington DC, EE.UU, 2000.
3. Murray BE, Mederski-Samoraj B. Transferable beta-lactamase: a new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. J. Clin. Invest 1983; 72: 1168-71.
4. Murray B, Singh K.V, Markowitz S, et al. Evidence for clonal spread of a single strain of beta-lactamase-producing *Enterococcus (Streptococcus) faecalis* to six hospitals in five states. J Infect Dis 1991; 163: 780-5.
5. Murray B, Lopardo H, Rubeglio E, et al. Intrahospital spread of a single gentamicin-resistant beta-lactamase-producing strain of *Enterococcus faecalis* in Argentina. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 230-2.
6. Rice LB, Bellais S, Carias LL, et al. Impact of specific *pbp5* mutations on expression of β -lactam resistance in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3028-32.
7. Lopardo H, Venuta ME, Rubeglio EA. Penicillin-resistance and aminoglycoside-penicillin synergy in enterococci. Chemotherapy 1995; 41: 165-71.
8. Grayson ML, Eliopoulos GM, Wennersten CB. Increasing resistance to beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 2180-4.
9. Corso A. Comunicación personal: Datos de la Red WHONET Argentina, 2009.
10. Zimmermann RA, Moellering RC Jr, Weinberg AN. Enterococcal resistance to antibiotic synergism. Antimicrob Agents Chemother (Bethesda) 1970; 10: 517-21.
11. Standiford HD, De Maine JB, Kirby WM. Antibiotic synergism of enterococci. Arch Intern Med 1970; 126: 255-9.
12. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, et al. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev 1993; 57: 138-63.
13. Feinman SE. Antibiotics in animal feed-drug resistance revisited. ASM News 1998; 64: 24-30.
14. Tenover FC. The real vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* has arrived. Clin Microbiol News 2005; 27: 35-40.
15. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988; 1: 57-8.
16. Leclercq R, Derlot E, Duval J, et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 1988; 319: 157-61.
17. Marín ME, Mera JR, Arduino RC. First report of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated in Argentina. Clin Infect Dis 1998; 26: 235-6.
18. Lopardo HA, Kaufman S, Lauro L, et al. One-day prevalence study on colonization with vancomycin-resistant enterococci in intensive care units of Buenos Aires City. En: Martin DR, Tagg JR (ed) Streptococci and streptococcal diseases: entering the new millenium. (Proceedings of the XIV Lancefield Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, Auckland, New Zealand, 1999). p. 259 - 61, Security Book, New Zealand, 2000.
19. Lopardo H, Blanco MA, Carbonaro M. Impacto de 10 años de vigilancia de colonización con enterococos resistentes a vancomicina en un hospital pediátrico de alta complejidad. Medicina Infantil 2008; 15: 114-20.
20. Price CS, Paule S, Noskin GA, et al. Active surveillance reduces the incidence of VRE bacteremia. Clin Infect Dis 2003; 37: 921-9.
21. Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. Clin Infect Dis 1995; 20: 1126-33.
22. Zhanel GG, Hoban DJ, Karlowsky JA. Nitrofurantoin is active against vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 324-6.
23. Gavalda J, Len O, Miró JM. Brief communication: treatment of *Enterococcus faecalis* endocarditis with ampicillin plus ceftriaxone. Ann Intern Med 2007; 146: 574-9.
24. Hernández Martí V, Romá Sánchez E, Salavert Lletí M, et al. Daptomicina: revitalizando un antiguo fármaco ante la necesidad de nuevos agentes activos frente a bacterias grampositivas multirresistentes. Rev Esp Quimioterap 2007; 20: 261-76.
25. Lewis JS, Owens A, Cadena J, et al. Emergence of daptomycin resistance in *Enterococcus faecium* during daptomycin therapy. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1664-65.
26. Falagas ME, Giannopoulou KP, Ntziora F, et al. Daptomycin for endocarditis and/or bacteraemia: a systematic review of the experimental and clinical evidence. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 7-19.
27. Jones RN, Kohno S, Ono Y, et al. ZAAPS International Surveillance Program (2007) for linezolid resistance: results from 5591 gram-positive clinical isolates in 23 countries. Diagn Microbiol Infect Dis 2009; 64: 191-201.
28. Prystowsky J, Siddiqui F, Chosay J, et al. Resistance to linezolid: characterization of mutations in rRNA and comparison of their occurrences in vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 2154-6.
29. Jasovich A, Ganaha MC, Ebi C, et al. Endocarditis due to vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* successfully treated with linezolid: case report and review of literature. Rev Argent Microbiol 2008; 40: 204-7.
30. Laupland KB, Church DL, Mucenski M, et al. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections. Clin Infect Dis 2003;187:1452-9.
31. Ross S, Rodriguez W, Controni G, et al. Staphylococcal susceptibility to penicillin G: The changing pattern among community isolates. JAMA 1974;229:1075-7.
32. Grundmann, H, M Aires-de-Sousa M, Boyce J, et al. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. Lancet 2006; 368:874-85.
33. Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis 2003; 36:131-9.
34. Centers for Disease Control and Prevention. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: Michigan. MMWR 1981;30:185-7.
35. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis 2001;7:2.
36. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. Int J Antimicrob Agents 2012; 39:273-82.
37. Sola C, Gribaudo G, Vindel A, et al. Identification of a novel methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clone in Cordoba, Argentina, involved in nosocomial infections. J Clin Microbiol 2002; 40:1427-35.
38. Sola C, Cortes P, Saka HA, et al. Evolution and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic and sporadic clones in Cordoba, Argentina. J Clin Microbiol 2006; 44:192-200.

39. Sola C, Saka HA, Vindel A, et al. Emergence and dissemination of a community-associated methicillin-resistant Panton-Valentine leucocidin-positive *Staphylococcus aureus* clone sharing the sequence type 5 lineage with the most prevalent nosocomial clone in the same region of Argentina. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1826-31.
40. Subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC, Asociación Argentina de Microbiología, Sistema Informático de Resistencia. <http://www.aam.org.ar>.
41. Sola C, Lamberghini R, Paganini H, et al. Prevalencia nacional de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina asociado a la comunidad (CA-MRSA) en Argentina: estudio 2009. XII Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires, 17-20 de octubre de 2010.
42. Sola C, Egea AL, Lamberghini R, et al. New patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in the community and hospital setting, Argentina 2009. 52nd. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), San Francisco, EE.UU., 9-12 de septiembre de 2012.
43. Mendes RE, Sader HS, Deshpande LM, et al. Characterization of baseline methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from phase IV clinical trial for linezolid. *J Clin Microbiol* 2010; 48:568-74.
44. Reyes J, Rincon S, Diaz L, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1861-7.
45. Becker AP, Santos O, Castrucci FM. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Cordobes/Chilean clone involved in nosocomial infections in Brazil. *Epidemiol Infect* 2012; 140:1372-5.
46. Medina G, Egea AL, Oth C, et al. Molecular epidemiology of hospital-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Southern Chile. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32:1533-40.
47. Rathore MH, Kline MW. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:645-7.
48. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:616-87.
49. Otto, M. Community-associated MRSA: what makes them special? *Int. J. Med. Microbiol.* 2013; 303:324-30.
50. Mediavilla JR, Chen L, Mathema B, et al. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Curr Opin Microbiol* 2012; 15:588-95.
51. Gastmeier P. Healthcare-associated versus community-acquired infections: a new challenge for science and society. *Int J Med Microbiol* 2010; 300:342-5.
52. Otter JA, French GL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. *J Hosp Infect* 2011; 79:189-93.
53. Iwamoto M, Mu Y, Lynfield R, et al. Trends in invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Pediatrics* 2013; 132:e817-24.
54. Benoit SR, Estivariz C, Mogdasy C, et al. Community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as potential cause of healthcare-associated infections, Uruguay, 2002-2004. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:1216-23.
55. Ma XX, A. Galiana A, W. Pedreira W, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Uruguay. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:973-6.
56. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol* 2005; 43:1985-8.
57. Scribel LV, Silva-Carvalho MC, Souza RR, et al. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *SCCmecV* in a university hospital in Porto Alegre, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65:457-61.
58. Corso A, Gagetti P, Rodríguez M, et al. Emergence of the new New York/Japan (NY/J) MRSA clone with susceptibility to all non- β -lactam antibiotics in Argentina. 43rd. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), Chicago, EE.UU, 14 al 17 de Septiembre de 2003.
59. Gardella N, von Specht M, Cuirolo A, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, eastern Argentina. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62: 343-7.
60. Paganini H, Della Latta MP, Muller Opet B, et al. Estudio multicéntrico sobre las infecciones pediátricas por *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente provenientes de la comunidad en la Argentina. *Arch Argent Pediatr* 2008; 106:397-403.
61. Sola C, Paganini H, Egea AL, et al. Spread of epidemic MRSA-ST5-IV clone encoding PVL as a major cause of community onset staphylococcal infections in Argentinean children. *PLoS One* 2012; 7:e30487.
62. Fernández S, de Vedia L, López Furst MJ, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST30-*SCCmec IVc* clone as the major cause of community-acquired invasive infections in Argentina. *Infect Genet Evol* 2013; 14:401-5.
63. Nimmo G R. USA300 abroad: global spread of a virulent strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:725-34.
64. Rolo J, Miragaia M, Turlej-Rogacka A, et al. High genetic diversity among community-associated *Staphylococcus aureus* in Europe: results from a multicenter study. *PLoS One* 2012; 7:e34768.
65. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:99-139.
66. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis* 2011; 52:e18-55.
67. Rossi F, Diaz L, Wollam A, et al. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. *N Engl J Med* 2014 (en prensa).
68. van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2012;54:755-71.
69. Sola C, Lamberghini RO, Ciarlantini M, et al. . 2011. Heterogeneous vancomycin-intermediate susceptibility in a community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clone, in a case of infective endocarditis in Argentina. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2011; 10:15.
70. Errecalde L, Ceriana P, Gagetti P, et al. First isolation in Argentina of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with intermediate susceptibility to vancomycin and nonsusceptibility to daptomycin. *Rev Argent Microbiol* 2013; 45:99-103.
71. Hentges DJ. The anaerobic microflora of the human body. *Clin Infect Dis* 1993; 16(Suppl 4):S175-80.
72. Hill GB, St. Claire KK, Gutman LT. Anaerobes predominate among the vaginal microflora of prepubertal girls. *Clin Infect Dis* 1995; 20(Suppl 2):269-70.
73. Jousimies-Somer, H. R., Summanen, P., Citron, D. M. et al. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. En: Jousimies-Somer, H. R., Summanen, P., Citron, D. M. et al., ed. *Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manual*, 6th ed., p. 1-21. Star Publishing Company, Belmont, CA, EE.UU., 2002.
74. Brook I. Pediatric anaerobic infection. *Diagnosis and Management*. 2a ed. Mosby, St. Louis, EE.UU, 1989.
75. Litterio M, Bianchini H, Carloni G, et al. Actividad in vitro de 10 antimicrobianos frente a bacterias anaerobias. Estudio multicéntrico 1999-2002. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36:130-5.
76. Fernández Canigia L, Litterio M, Legaria MC, et al. First national survey of antibiotic susceptibility of the *Bacteroides fragilis* group: emerging resistance to carbapenems in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:1309-14.
77. Litterio M, Matteo M, Fiorilli G, et al. Susceptibility of *Veillonella* spp. to ten different antibiotics. *Anaerobe* 1999; 5: 477-8.
78. Oprica C, Nord CE, ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. European surveillance study on the antibiotic susceptibility of *Propionibacterium acnes*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:204-13.
79. Reig M, Moreno A, Baquero F. Resistance of *Peptostreptococcus* spp. to macrolides and lincosamides: inducible and constitutive phenotypes. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36:662-4.
80. Goldstein EJC, Citron DM, Warren YA, et al. In vitro activity of moxifloxacin against 923 anaerobes isolated from human intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50: 148-55.
81. Dubreuil L, Odou MF. Anaerobic bacteria and antibiotics: What kind of unexpected resistance could I find in my laboratory tomorrow? *Anaerobe* 2010; 16:555-9.
82. Moura I, Spigaglia P, Barbanti F, et al. Analysis of metronidazole susceptibility in different *Clostridium difficile* PCR ribotypes. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:362-5.
83. Tyrrell KL, Citron DM, Warren YA, et al. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, and penicillin against *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *Finnegoldia magna*, and *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2728-31.
84. Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, et al. Comparative in vitro susceptibilities of 396 unusual anaerobic strains to tigecycline and eight other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 3507-13.

85. Goldstein EJC, Citron DM, Tyrrell KL, et al. Comparative in vitro activities of SMT19969, a new antimicrobial agent, against *Clostridium difficile* and 350 gram-positive and gram-negative aerobic and anaerobic intestinal flora isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 4872-6.
86. Kim J, Seo M, Kang JO, et al. Clinical and microbiologic characteristics of *Clostridium difficile* infection caused by binary toxin producing strain in Korea. Comparative *In Vitro* Activities of SMT19969, a New Antimicrobial Agent, against *Clostridium difficile* and 350 Gram-Positive and Gram-Negative Aerobic and Anaerobic Intestinal Flora Isolates. *Infect Chemother* 2013;45:175-83.
87. Liao CH, Ko WC, Lu JJ, et al. Characterizations of clinical isolates of *Clostridium difficile* by toxin genotypes and by susceptibility to 12 antimicrobial agents, including fidaxomicin (OPT-80) and rifaximin: a multicenter study in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:3943-9.
88. Andes D, Craig WA. Treatment of infections with ESBL-producing organisms: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Clin Microbiol Infect* 2005;11 (Suppl 6):10-7.
89. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001;39:2206-12.
90. Petty NK, Ben Zakour NL, Stanton-Cook M, et al. Global dissemination of a multidrug resistant *Escherichia coli* clone. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2014; 111:5694-9.
91. Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol* 2006;14:413-20.
92. Livermore DM, Andrews JM, Hawkey PM, et al. Are susceptibility tests enough, or should laboratories still seek ESBLs and carbapenemases directly? *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:1569-77.
93. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2005;43:2551-8.
94. Johnson CC, Livornese L, Gold MJ, et al. Activity of cefepime against ceftazidime-resistant gram-negative bacilli using low and high inocula. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:765-73.
95. Limaye AP, Gautam RK, Black D, et al. Rapid emergence of resistance to cefepime during treatment. *Clin Infect Dis* 1997;25:339-40.
96. Medeiros AA. Relapsing infection due to *Enterobacter* species: lessons of heterogeneity. *Clin Infect Dis* 1997;25:341-2.
97. González Leiza M, Pérez-Díaz JC, Ayala J, et al. Gene sequence and biochemical characterization of FOX-1 from *Klebsiella pneumoniae*, a new AmpC-type plasmid-mediated beta-lactamase with two molecular variants. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2150-7.
98. Rapoport M, Monzani V, Pasterán F, et al. CMY-2-type plasmid-mediated AmpC beta-lactamase finally emerging in Argentina. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:385-7.
99. Pasterán FG, Otaegui L, Guerriero L, et al. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1178-80.
100. Pasterán F, Faccione D, Gómez S, et al. Detection of an international multiresistant clone belonging to sequence type 654 involved in the dissemination of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Argentina. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:1291-3.
101. Gómez SA, Pasterán FG, Faccione D, et al. Clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* ST258 harbouring KPC-2 in Argentina. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:1520-4.
102. Derdoy L, Meo A, Archuby D, et al. Reporte de cepa productora de Nueva Delhi carbapenemasa (NDM) en un hospital de Buenos Aires. Resumen O-025 XIII Congreso Argentino de Microbiología, 23-26 de septiembre de 2013, *Rev Argent Microbiol* 2013; 45(Supl 1):16.
103. Potron A, Nordmann P, Rondinaud E, et al. A mosaic transposon encoding OXA-48 and CTX-M-15: towards pan-resistance. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:476-7.
104. Voulgari E, Gartzonika C, Vrioni G, et al. The Balkan region: NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 clonal strain causing outbreaks in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2014; Apr 15. [Epub ahead of print] doi:10.1093/jac/dku105.
105. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:682-707.
106. Navarro-San Francisco C, Mora-Rillo M, Romero-Gómez MP et al. Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E72-9.
107. Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? *Clin Microbiol Infect* 2011;17:1135-41.
108. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:2108-13.
109. Viale P, Giannella M, Lewis R, et al. Predictors of mortality in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:1053-63.
110. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2322-8.
111. Hsu AJ, Tamma PD. Treatment of multidrug-resistant gram-negative infections in children. *Clin Infect Dis* 2014; 58:1439-48.
112. Maruyama S, Yoshioka H, Fujita K., et al. Sensitivity of group A streptococci to antibiotics. *Am J Dis Child* 1979; 133:1143-5.