



PUBLICACIONES DE LA
ACADEMIA NACIONAL DE
MEDICINA DE MÉXICO

Pseudomonas aeruginosa
un problema de salud
pública.

Dra. María del Rosario Morales Espinosa

CONTENIDO

Introducción	3
<i>Dra. María del Rosario Morales Espinosa</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> un problema de salud pública	4
<i>Dra. María del Rosario Morales Espinosa</i>	
Definiendo la Resistencia de la Bacteria	8
<i>Dra. Luisa Beatriz Sandner Miranda</i>	
Genoma accesorio en la resistencia antimicrobiana	12
<i>Dr. Luis Fernando Espinosa Camacho</i>	
Clonas de alto riesgo (St309)	16
<i>Dra. Gabriela Delgado Sapién</i>	
Clonalidad entre cepas hospitalarias	22
<i>Dr. Alejandro Flores Alanís</i>	

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) a partir de 2024 ha colocado a *Pseudomonas aeruginosa* en la lista de microorganismos de prioridad alta debido a la resistencia a carbapenémicos.

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo Gram-negativo, no fermentador de glucosa, fisiológicamente muy versátil, esta versatilidad esta relacionada a su gran plasticidad genómica, el microorganismo se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo, su metabolismo es de tipo aeróbico, presenta flagelos en uno de sus polos lo que lo hace altamente móvil, puede aislarse del suelo, sobrevive en ambientes húmedos a temperatura ambiente durante varios meses, crece en el agua de uso común, en las aguas residuales, se aísla de fregaderos, tarjas, lavabos, piscinas mal cloradas, jacuzzis, tinas de hidromasajes, soluciones antisépticas caducadas, del intestino de mamíferos y en plantas. El ser humano suele ser portador en zonas húmedas de su cuerpo como axilas, zona genital e intestino. Por otro lado, *Pseudomonas aeruginosa* es sensible a la desecación. Sus requerimientos nutricionales son mínimos y es capaz de metabolizar una gran variedad de sustratos orgánicos e inorgánicos, característica que

le ha permitido usarse en biorremediación de suelos contaminados de hidrocarburos y sobrevivir y multiplicarse en diferentes ambientes.

El genoma de *P. aeruginosa* es muy variable, va de un tamaño de 5.2 mega pares de bases (Mpb) a 7.5 Mpb, presenta a lo largo de su cromosoma varias zonas de plasticidad donde integra diferentes bloques de genes a través de elementos genéticos móviles (EGM) como fagos, secuencias de inserción, plásmidos, islas genómicas etcétera, e intercambia este material genético con cepas de su misma especie o géneros y especies diferentes. La capacidad de este intercambio de genes le permite adaptarse a diferentes nichos y ambientes, adquirir genes de resistencia a antimicrobianos, genes de resistencia a metales pesados, genes que codifican para funciones metabólicas, genes de virulencia o genes que aun no esta descrita su función, anotándose como función putativa. Sin embargo, las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparten un genoma central independientemente del tipo de aislamiento (humanos, plantas, animales o ambiente), este genoma central esta formado por genes de metabolismo básico que le dan la firma a la bacteria en su género y especie.



Dra. Maria del Rosario Morales Espinosa

***Pseudomonas aeruginosa* un problema de salud pública**

GAMA DE SUSCEPTIBILIDAD O RESISTENCIA ENTRE DIFERENTES POBLACIONES

Importancia clínica. *P. aeruginosa* es considerado un patógeno oportunista, se asocia a infecciones en pacientes con inmunocompromiso, de los cuales, los pacientes hospitalizados por sus condiciones son blanco fácil de infecciones por esta bacteria, también es agente etiológico de infecciones en animales y de plantas.

Factores de Virulencia

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* presenta un rango remarcable de virulencia; desde aislamientos débilmente virulentos que se caracterizan por infectar solo un número reducido de organismos a cepas que infectan un rango amplio de huéspedes y que son altamente virulentas. La patogenicidad de la bacteria es resultado de la presencia de varios factores de virulencia secretados y asociados a su superficie. Los factores asociados a la superficie incluyen: **pili tipo IV** (implicado en la adherencia), **flagelos** (implicado en la adherencia y colonización), **lipopolisacárido** (responsable de la diseminación y se asocia a septicemias) , **alginato** (importancia incuestionable para la infección del pulmón, forma la matriz de la biopelícula que es una estructura de comunicación entre células muy versátil, no rígida, que presenta canales que le permiten el flujo de agua, nutrientes, así como de oxígeno, funciona como una barrera de resistencia inmunológica, que inhiben anticuerpos, la quimiotaxis de leucocitos, interfieren con la fagocitosis, con el ataque de radicales libres e inactivación de complemento, así como de resistencia a los mecanismos de limpieza del aparato respiratorio como son los movimientos ciliares y es una barrera muy importante de resistencia a antibióticos como ampicilina, estreptomina, tetraciclinas, gentamicina y biocidas como oxidantes del tipo cloro, yodo y ozono); la producción de un **sistema de secreción tipo III** (mecanismo clave en la invasividad y citotoxicidad de la bacteria)

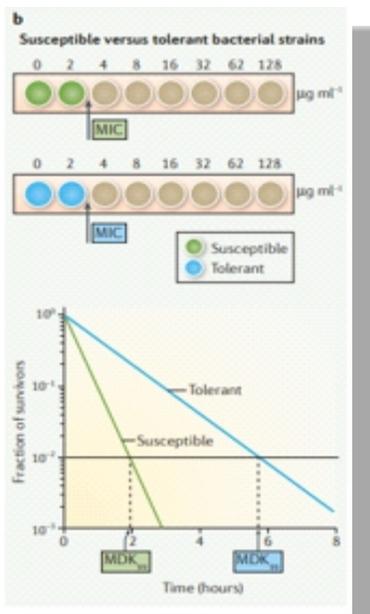
que se encarga de introducir directamente en el citoplasma de la célula huésped, proteínas efectoras como: **ExoU** (dispara la ruptura de la membrana ocasionando muerte celular, induce choque séptico de rápida evolución, además, está asociada con daño del epitelio alveolar, el cual es responsable de la liberación de citocinas responsables de la sepsis; **ExoS** (se asocian a infecciones en pacientes con quemaduras de tercer grado y se aíslan más frecuentemente de pacientes con fibrosis quística). Produce toxinas de bajo peso molecular como **fenazinas, ramnolípidos, cianida, enzimas ribosilantes de ADP**, la producción de una **elastasa** (degrada elastina, colágeno, fibronectina e involucrada en degradar complemento, la ruptura de la elastina de las paredes de los vasos sanguíneos puede explicar la hemorragia frecuentemente presente en los pacientes con infecciones del aparato respiratorio inferior por el microorganismo, en las células de la córnea producen queratitis); una **exotoxina A** (le permite a la bacteria adaptarse a diferentes ambientes como el suelo, agua, aguas residuales, y a diferentes dispositivos en los hospitales, por otro lado, contribuye al daño del tejido, a la invasión bacteriana y a la inmunosupresión que ocurre dentro del huésped, inactiva la síntesis de proteínas y produce la muerte celular); una **fosfolipasa C** [junto con el lipopolisacárido promueven la producción de altos niveles de factor necrótico tumoral (TNF), interleucinas (IL-1, IL-6) e interferón gamma (IFN) en pacientes con fibrosis quística (FQ)]; una **proteasa alcalina, Quorum Sensing** (le permite a la bacteria percibir la densidad de la población bacteriana de alrededor y responder coordinadamente a esta información por medio de varios genes regulatorios, el QS de *Pseudomonas aeruginosa* consiste de dos sistemas separados pero interrelacionados: las y rhl, ambos sistemas *las* y *rhl* regulan la producción de varios factores de virulencia: elastas, proteasa alcalina, cianina de hidrogeno,

exotoxinaA, proteínas de secreción, catalasa, ramnolipidos, piocianina, lectinas, homoserina lactonas aciladas y superóxido dismutasa. Por último produce pigmentos como: piocianina un pigmento fluorescente de color azul (azul-verde en agar cetrimida) con actividad peróxido diamitasa redox que mata a las células bacteriana y de mamíferos, esté pigmento se encuentra en esputo de pacientes con fibrosis cística a una concentración 10-4M, contribuye como factor de virulencia y de colonización al interferir con el sistema mucociliar (al frenar la frecuencia del movimiento ciliar y conducir a la alteración del epitelio), también se ha asociado

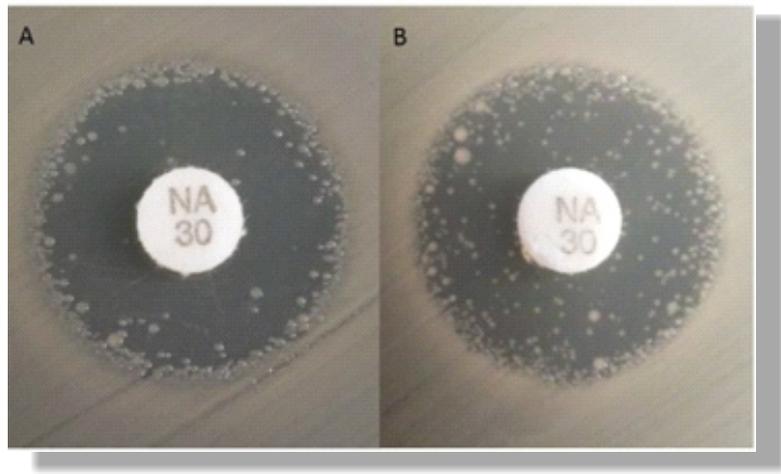
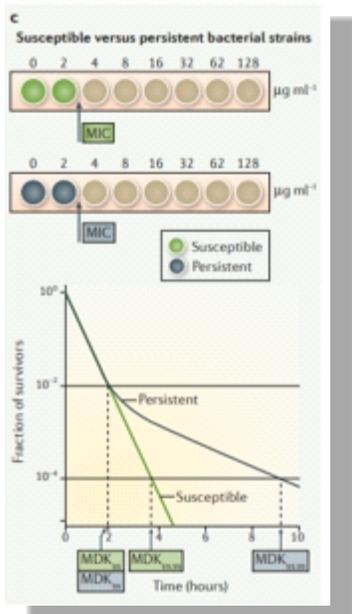
de forma reversible con la caída de AMP cíclico (90%) y ATP (60%), la piocianina incrementa la producción de IL8 y de la Molécula 1 de Adhesión Intracelular (CAM-1) en células humanas.

Estrategias de *Pseudomonas aeruginosa* para sobrevivir a los diferentes tipos de antimicrobianos.

Las estrategias que tiene *P. aeruginosa* al igual que otras bacterias para evadir la acción de los antimicrobianos comprende **la tolerancia, la persistencia, la resistencia intrínseca y la resistencia adquirida.**



Tolerancia, es igual a indiferencia a la droga, y se describe como la habilidad heredada o no de un microorganismo para sobrevivir transitoriamente a altas concentraciones de un antimicrobiano, esto se traduce en un estado dormido de la bacteria “de no desarrollo”, un buen ejemplo es la tolerancia a los betalactámicos donde el ensamble del peptidoglicano no es llevado a cabo, de manera que no actúan los betalactámicos. La tolerancia puede ser adquirida por mutaciones genéticas o por condiciones ambientales. La realidad de este fenómeno es que una bacteria puede desarrollar tolerancia a diferentes clases de antimicrobianos. Esta estrategia se ve en antibióticos bactericidas. En estos casos la exposición prolongada de un antimicrobiano es adecuada mas que usar altas concentraciones de este.



La **persistencia**, es la capacidad de una subpoblación (1%) en una población total bacteriana clonal, para sobrevivir a altas concentraciones de un antibiótico. En este fenómeno existe un crecimiento bifásico de la población total, mientras que la mayoría de la población es sensible al antibiótico, la otra subpoblación es persistente al mismo antibiótico por un periodo muy largo de tiempo o bien por el arresto del desarrollo en la curva de crecimiento bacteriano, esto se traduce en una tasa muy lenta de muerte de la población persistente. Cuando se aísla una bacteria persistente y se cultiva sin antimicrobiano, ésta volverá a crecer (emerge) y observará el mismo comportamiento de crecimiento bifásico al mismo antimicrobiano.

La tolerancia y persistencia son estrategias que deberán de tomarse en cuenta sobre todo el en infecciones crónicas e infecciones recurrente.

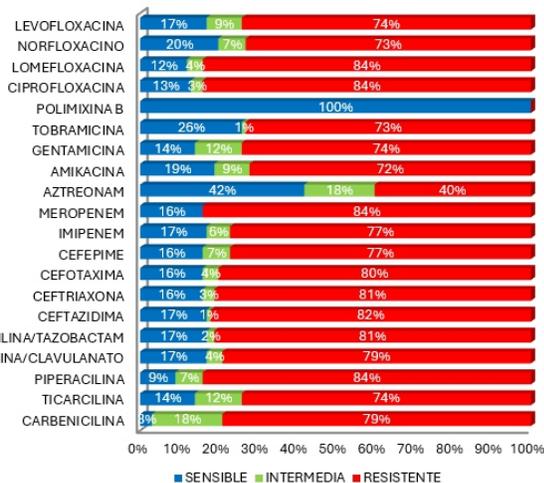
Resistencia intrínseca de la bacteria, es una resistencia innata de las bacterias y está dada por genes codificados en su cromosoma que participan en su metabolismo o reguladores transcripcionales, o formación de diferentes estructuras como: la formación de biopelículas, en la motilidad (swarming), permeabilidad de la membrana, biosíntesis del lipopolisacárido, expresión de bombas de eflujo, porinas, producción de alginato, etcétera.

Resistencia adquirida es usada para describir la capacidad heredada de un microorganismo para crecer a altas concentraciones de un antimicrobiano, la cual es cuantificada por la concentración mínima inhibitoria (CMI). Esta resistencia es dada por genes adquiridos a través

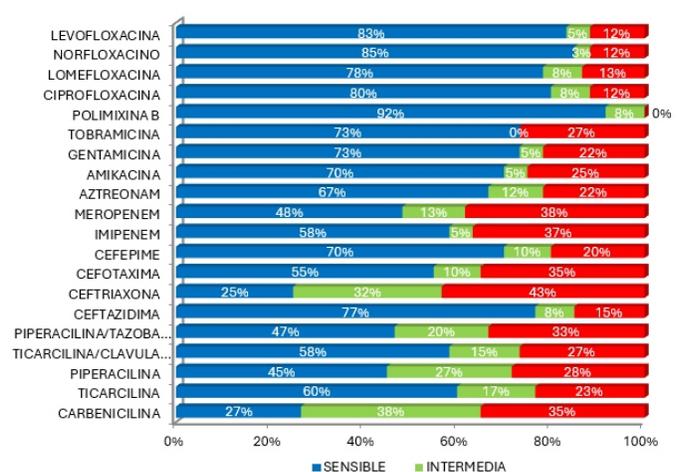
de un elemento genético móvil, obtenidos por transferencia horizontal donde entran en juego la transformación, conjugación y transducción.

Poblaciones estudiadas. Nuestro grupo de trabajo ha caracterizado genética y fenotípicamente diferentes poblaciones de *P. aeruginosa*, una de ellas son cepas aisladas de adultos que desarrollaron neumonía asociada a la instalación de respirador automático, estos pacientes tuvieron una estadía hospitalaria de varias semanas, recibiendo cantidades importantes de antimicrobianos. Otra población fue aislada de niños con diferentes comorbilidades que acudieron a su tratamiento al hospital, como resultado desarrollaron neutropenia y bacteriemia por *P. aeruginosa* permaneciendo en el hospital una máximo de 3 días; y por último se caracterizo a una población de cepas aisladas de mascotas de compañía que acudieron a consulta al hospital veterinario de la UNAM por presentar diferentes infecciones asociadas a *P. aeruginosa* en diferentes partes de su cuerpo, indicándoles tratamiento y enviados a sus casa. Los perfiles cromosómicos de todas las cepas fueron diversos, independiente del tipo de aislamiento, indicando cepas individuales, las cuales muy probablemente son propias del paciente. El contenido genético y la caracterización de los patrones de resistencia de las tres poblaciones fue muy diferente. Las cepas de adultos presentaron alto contenido en elementos genéticos móviles [hasta 7 islas genómicas (GEIs) por cepa] con diversidad en su contenido, presentan mayores zonas de plasticidad a lo largo de su cromosoma y son en su mayoría altamente resistentes a los diferentes

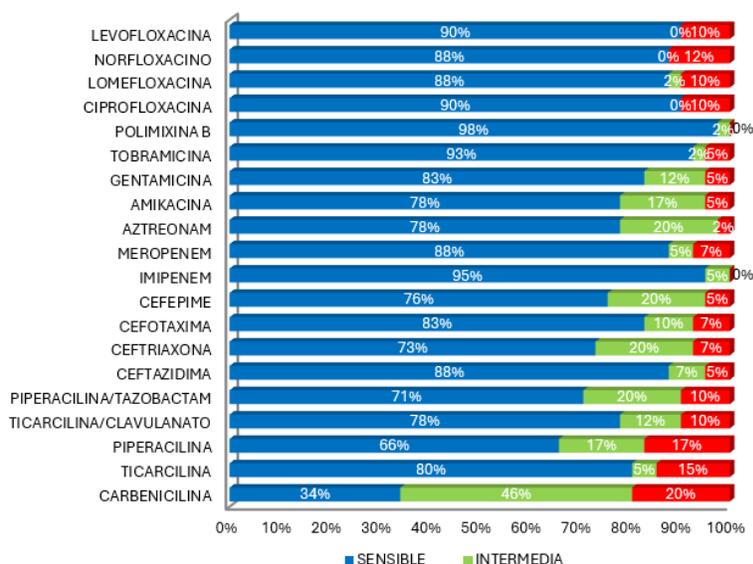
Porcentaje de resistencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de adultos a 20 antimicrobianos



Porcentaje de resistencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de niños a 20 antimicrobianos



Porcentaje de resistencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de animales a 20 antimicrobianos



tipos de antimicrobianos (XDR, MDR). Las cepas de niños presentaron bajo contenido en elementos genético-móviles (solo 2 islas), presentan menor número de zonas de plasticidad a lo largo de su cromosoma y son en su mayoría sensibles a los diferentes tipos de antimicrobianos. Las cepas de animales presentaron bajo contenido de GEIs y son más sensibles a los diferentes tipos de antimicrobianos.

Conclusiones

Pseudomonas aeruginosa tiene diferentes estrategias para sobrevivir a cualquier antimicrobiano. 2. La presión selectiva es la condición más importante para sobrevivir a los antimicrobianos. 3. Es un hecho que el desuso de un antimicrobiano revierte la resistencia de la bacteria al mismo antimicrobiano, esto por un principio básico de costo energético. 4. El conocimiento de cómo las bacterias sobreviven a los antimicrobianos permitirá desarrollar nuevos fármacos que cubran estas estrategias. 5. El uso mínimo indispensable de un antibiótico a todos los niveles debe ser la regla, sobre todo a nivel hospitalario. 6. Un tratamiento puede ser inefectivo, si se aplica sin conocer la estrategia de supervivencia de la bacteria.

Bibliografía

1. Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban N. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Rev Microbiol.* 2016. 14:320-330.

2. Alvarez-Ortega C, Wiegand I, Olivares J, Hancock R.E.W, Martinez JL. The intrinsic resistome of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactams. *Virulence.* 2011. 2:2, 144-146. doi: 10.4161/viru.2.2.15014

3. Rosario Morales-Espinosa, Gloria Soberón-Chávez, Gabriela Delgado-Sapién, Luisa Sandner-Miranda, José L Méndez, Gerardo González-Valencia, and Alejandro Cravioto. Genetic and Phenotypic Characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* Population with High Frequency of Genomic Islands. 2012. *PLoS ONE* 7(5): e37459. doi:10.1371/journal.pone.0037459

4. Rosario Morales-Espinosa, Gabriela Delgado, Luis F Espinosa, Dassaev Isselo, José L Méndez, Cristina Rodríguez, Guadalupe Miranda, and Alejandro Cravioto. Fingerprint Analysis and Identification of Strains ST309 as a Potential High-Risk Clone in a *Pseudomonas aeruginosa* Population Isolated from Children with Bacteremia in Mexico City. *Front. Microbiol.*, 8(313):1-12. 01 March 2017 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00313>.

5. Rosario Morales-Espinosa, Gabriela Delgado, Fernando Espinosa-Camacho, Alejandro Flores-Alanis, Cristina Rodríguez, José L Méndez, Alejandro Cravioto. *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from animals with high virulence genes content and highly sensitive to antimicrobials. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.02.023> F.I 3.7

Definiendo la Resistencia de la Bacteria

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista causante de infecciones nosocomiales. Uno de los mayores problemas en el tratamiento de pacientes infectados por *P. aeruginosa* es que esta bacteria presenta resistencia tanto intrínseca como adquirida a un gran número de antibióticos y desinfectantes que incluyen a los beta-lactámicos (penicilinas, carbapenémicos, cefalosporinas y monobactámicos), quinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina y ofloxacina), aminoglucósidos (amikasina, kanamicina, gentamicina y tobramicina), tetraciclina, cloranfenicol, fosfomicina y sulfamidas (Bactrim) entre otros.

Dra. Luisa Beatriz Sandner Miranda

Mecanismos de resistencia

La resistencia a los antimicrobianos puede darse mediante alguno de los siguientes mecanismos, pero muchas veces deben interactuar distintos mecanismos de resistencia para alcanzar la sobrevivencia bacteriana:

a) modificación de la permeabilidad de la pared celular

resultando en la reducción del paso del antibiótico a través de la membrana externa hacia el interior de la célula, previniendo de este modo el acceso al blanco, como es el caso de los antibióticos carbapenémicos, quinolonas, tetraciclina y cloranfenicol (antimicrobianos hidrofílicos) al modificarse las porinas de la membrana o al no expresarse (**Fig. 1a**).

b) modificación del antibiótico alteración del antibiótico mediante enzimas modificadoras, como es el caso de los aminoglucósidos (**Fig. 1b**).

c) modificación del blanco del antibiótico cambio en la conformación del blanco del antibiótico, como es el caso de las mutaciones de los genes *gyrA* y *gyrB* (DNA girasas) que confieren resistencia a las quinolonas (**Fig. 1c**).

d) hidrólisis o inactivación de los antibióticos Producción de betalactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de los antibióticos de la clase beta-lactámicos (**Fig. 1d**).

e) la expulsión activa de los antibióticos fuera de la célula bacteriana aumentándose el transporte de antibióticos hacia el exterior de la célula bacteriana mediante las bombas de eflujo (**Fig. 1e**).

La modulación de la resistencia a ciertos antibióticos depende también de la presencia y activación de los genes de regulación, de mutaciones en genes específicos, de la diferencia intrínseca en la estructura de la membrana externa y de la adquisición de genes de resistencia por vía de la transferencia horizontal de genes.

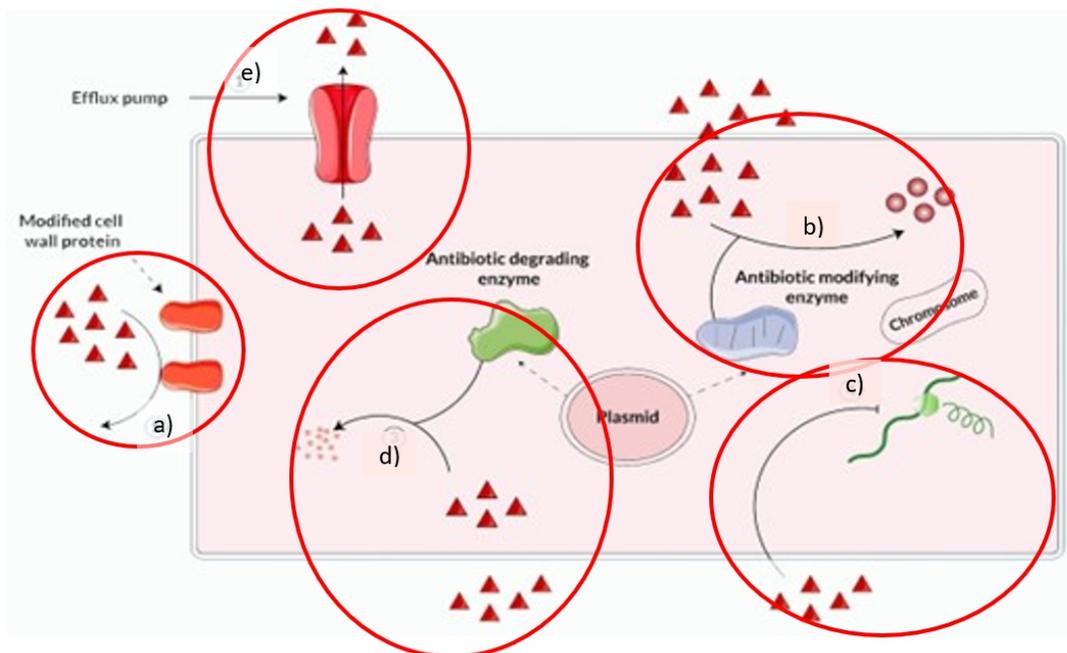
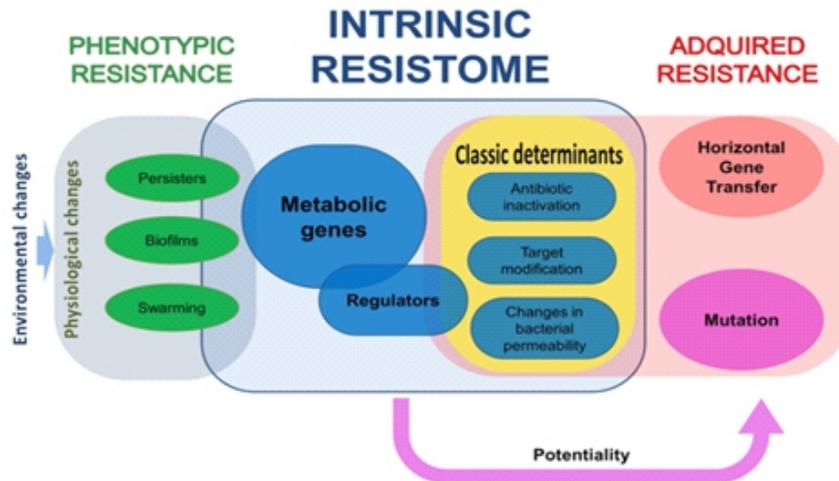


Fig. 1 Esquema de los mecanismos de resistencia a antimicrobianos en procariontes

La resistencia a antibióticos puede ser intrínseca, adquirida o adaptativa



(Olivares, et al. 2017)

Resistencia intrínseca

La resistencia intrínseca, también conocida como natural o innata, es la resistencia que se observa en la mayoría de los aislados de una especie, además, los genes que codifican para los factores de resistencia forman parte del cromosoma y se encuentran presentes en la mayoría de las cepas. *P. aeruginosa* presenta en su cromosoma varios genes de resistencia como son la clase cromosómica de beta-lactamasas de tipo C (*bla*-PDC) y D (la familia de *bla*-OXA-50) que confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. El gen *aph(3`)-IIb*, que está presente en el 98.16% de todos los genomas de *P. aeruginosa* estudiados hasta hoy codifica para una enzima modificadora que confiere resistencia a los aminoglucósidos kanamicina y neomicina, pero no a la gentamicina. Este género también tiene en su cromosoma los genes *vanW*, *fosA* y *catB* que confieren resistencia a los antibióticos vancomicina, fosfomicina y cloranfenicol respectivamente.

Sin entrar en la resistencia conferida por las bombas de eflujo, que es uno de los mecanismos más importantes de resistencia de *P. aeruginosa*, y que veremos más adelante, esta especie es naturalmente resistente a beta-lactámicos, a los aminoglucósidos kanamicina y neomicina, a la vancomicina, fosfomicina y cloranfenicol, por lo que no es recomendable el uso de estos antibióticos para tratar a pacientes infectados por esta bacteria.

Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo multidrogas constituyen uno de los mecanismos de resistencia intrínseca más importantes en procariontes y específicamente en el género *Pseudomonas*. Las bombas de eflujo tienen diferentes funciones, entre ellas desintoxicar a la célula de compuestos tóxicos como metales pesados, desinfectantes o antimicrobianos. También expulsan al exterior moléculas de señalización del Quorum Sensing QS. Algunos sistemas de eflujo se expresan constitutivamente, mientras que otros son regulados por genes reguladores y dependen de estímulos externos, por ejemplo, estar en contacto con agentes tóxicos o antimicrobianos. Se han reportado hasta 34 bombas de eflujo en *P. aeruginosa*.

En un trabajo que se está llevando a cabo en nuestro laboratorio con 38 cepas de la clona de alto riesgo ST309, encontramos 16 diferentes bombas de eflujo y hasta 50 genes asociados a ellas, genes estructurales, porinas y reguladores. Estas bombas pueden tener varias copias en el cromosoma (Morales Espinosa et al., investigación en curso).

Tipos de bombas

Se han descrito 5 diferentes familias de bombas de eflujo con base al número de sus componentes, la especificidad de sus sustratos y el tipo de energía que requieren.

- 1) La familia RND (resistance- nodulation- division). Esta es una bomba que es exclusiva de Gram-negativos y consta de tres partes que abarcan la membrana interna, el espacio periplásmico y la membrana externa.
- 2) La familia SMR (small multidrug resistance).
- 3) La familia MFS (major facilitator superfamily) esta bomba es la más común en bacterias Gram-

positivas.

- 4) La familia MATE (multidrug and toxic compound extrusion) están ampliamente distribuidas en Gram-positivas y en Gram-negativas

- 5) La superfamilia ABC (ATP-binding cassette) utiliza la energía producida por la hidrólisis del ATP para transportar moléculas

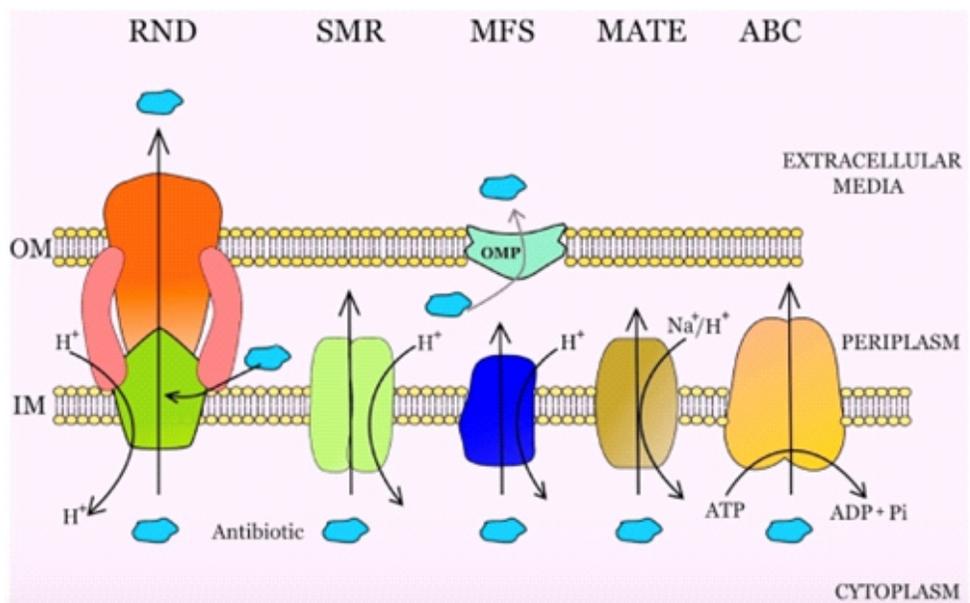


Fig. 2 Esquema de las 5 familias de bombas de eflujo en bacterias (Blanco, et al. 2019)

Resistencia adquirida por transferencia horizontal de genes (HGT) y mutaciones.

Se le considera adquirida cuando los genes de resistencia son transferidos horizontalmente entre las cepas de una especie, género o entre cepas filogenéticamente más distantes (Cordero, et al. 2009) a través de elementos móviles como plásmidos, integrones, islas genómicas, bacteriófagos o secuencias de inserción, o cuando se producen mutaciones que confieren resistencias nuevas, generalmente puntuales, en genes de metabolismo básico como respuesta al estrés conferido por los antimicrobianos.

Cada vez hay más evidencia de que el estrés ambiental induce inestabilidad genómica en las bacterias generando mutaciones y acelerando los procesos adaptativos.

La mayor parte de los genes de resistencia a los antibióticos beta-lactámicos son genes de resistencia adquirida que pertenecen a las clases designadas por Ambler en 1980.

Además del gran número de genes de resistencia a antibióticos que se encuentran en las bacterias patógenas y nosocomiales, es de gran relevancia el gran número de estos genes presentes en las bacterias asociadas a ambientes naturales, como el suelo, agua y plantas (D'Costa, et al. 2006). Este hecho nos lleva a hipotetizar que el medio ambiente representa un reservorio natural de genes de resistencia que ha sido subestimado en el campo médico. Un ejemplo claro son las bacterias del género *Pseudomonas* (Laborda et al. 2022).

Resistencia adaptativa o fenotípica

Es la resistencia a antimicrobianos que no depende de genes específicos sino de procesos metabólicos y de respuestas adaptativas al estrés como por ejemplo la formación de biopelículas, los procesos de señalización molecular mediados por el Quorum-Sensing (QS), la movilidad bacteriana, la persistencia y la tolerancia a antimicrobianos.

Conclusiones

- ▶ El tratamiento efectivo contra infecciones por *P. aeruginosa* es complicado, debido a su variedad de mecanismos de resistencia:
- ▶ Variedad y cantidad de genes de resistencia intrínseca en su cromosoma
- ▶ Adquisición de genes de resistencia por HGT
- ▶ Las bombas de eflujo
- ▶ Formación de biofilms
- ▶ Capacidad de persistencia
- ▶ La falta de pruebas de laboratorio de rutina para detectar estos mecanismos de resistencia hace aún más difícil diseñar las terapias antimicrobianas adecuadas.

Bibliografía

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., and Piddock, L. J. V. (2014). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 42–51. doi: 10.1038/nrmicro3380

Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J. A., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M., Bernardini, A., Sanchez, M. B., & Martinez, J. L. (2016). Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. *Microorganisms*, 4(1), 14.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>

D'Costa, V. M., McGrann, K. M., Hughes, D. W., and Wright, G. D. (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science* 311, 374–377. doi: 10.1126/science.1120800

Laborda, P., Hernando-Amado, S., Martínez, J. L., & Sanz-García, F. (2022). Antibiotic Resistance in *Pseudomonas*. *Advances in experimental medicine and biology*, 1386, 117–143. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_5

Munita, J. M., and Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 4, 1–37. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015

Olivares, J., Bernardini, A., Garcia-Leon, G., Corona, F., B Sanchez, M., & Martinez, J. L. (2013). The intrinsic resistome of bacterial pathogens. *Frontiers in microbiology*, 4, 103. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00103>

Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., and Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamase: types, epidemiology and treatment. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 90–101. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.08.002

Genoma accesorio en la resistencia antimicrobiana



Dr. Luis Fernando Espinosa Camacho

En los últimos años se ha estudiado la variabilidad y diversidad en el genoma de *Pseudomonas aeruginosa*, esto debido a la gran versatilidad metabólica, patogenicidad y resistencia antimicrobiana que posee esta bacteria. Los cambios identificados en el genoma de *P. aeruginosa* están dados por la presencia de regiones específicas en el cromosoma denominadas regiones de plasticidad genómica (RGP) en donde se ha descrito la ganancia de diferentes fragmentos de DNA exógeno denominados elementos genéticos móviles (MGE) por parte de este microorganismo, este material genético se puede adquirir por mecanismos de transferencia horizontal como: transformación, conjugación y transducción, siendo los principales MGE en *P. aeruginosa*: islas genómicas (GIs), profagos, integrones, elementos conjugativos integrativos (ICEs), secuencias de inserción, transposones y plásmidos (da Silva Filho et al., 2018). Estos MGE le confieren a la bacteria un conjunto de genes que favorecen su adaptación a diferentes ambientes principalmente al hospitalario y tiene una gran relevancia ya que se ha demostrado que pueden fungir como reservorios genéticos y ser transferidos entre microorganismos de géneros, familias e incluso organismos filogenéticamente distantes como algunos virus, hongos o parásitos (da Silva Filho et al., 2018). Dentro de las familias de genes podemos encontrar aquellos que codifican para factores de virulencia como: exotoxinas, sistemas de secreción y adhesinas; genes asociados a resistencia a antimicrobianos como: beta-lactamasas de espectro extendido, carbapenemasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos, genes de resistencia a fluoroquinolonas, enzimas modificadoras del

lipopolisacárido, entre otros; además de la presencia de genes que codifican para proteínas hipotéticas o de función desconocida que podrían contribuir a la adaptabilidad de la bacteria.

En estudios realizados por Morales-Espinosa y colaboradores en diferentes poblaciones de *P. aeruginosa* se analizaron aislados clínicos de esta bacteria (Morales-Espinosa et al., 2012; 2017), los cuales se caracterizaron por su patrón electroforético por campos pulsados, la presencia de genes de virulencia e islas genómicas y su perfil de susceptibilidad de 20 antimicrobianos, de este escrutinio se seleccionaron 6 cepas (cuatro cepas de adultos con neumonía asociada a ventilador automático; Pa58, Pa84, Pa124 y Pa127, y dos cepas de niños con bacteriemia secundaria a neutropenia; Pa1207 y Pa1242) que presentaban el mayor contenido de genes de virulencia e islas genómicas, así como un perfil de resistencia antimicrobiana elevado (multidrogo resistente, extensivo drogo resistente) con la finalidad de secuenciar su genoma completo.

De los resultados obtenidos se identificó que las cepas de *P. aeruginosa* presentaban nuevas regiones de plasticidad genómica en su cromosoma (RGP-90 a RGP-102), algunas de estas RGPs contenían mosaicos de MGE previamente reportados en otras cepas de *P. aeruginosa* u otros organismos, además, se identificaron un número mayor de MGE en las cepas mexicanas en comparación a lo descrito en cepas de otras regiones del mundo, en la Tabla 1 podemos observar los MGE identificados en la cepas mexicanas de *P. aeruginosa*.

Dentro de los MGE que se identificaron en las cepas destacan algunos por su contenido genético, por ejemplo, la isla de patogenicidad 2 (PAPI-2) o isla *exoU*, la cual presenta el gen *exoU* que codifica para la proteína efectora ExoU, una exotoxina con actividad citotóxica que permite la diseminación de la bacteria a tejidos profundos, provocando necrosis y muerte celular, así como el gen *spcU*, que codifica para una proteína chaperona necesaria para la secreción de ExoU al ambiente extracelular. El genotipo *exoU+* se han relacionado con el incremento en la

resistencia antimicrobiana al identificar mutaciones en genes de resistencia a antimicrobianos (*gyrA*, *parC*, *mexR*, *ampC* y *ampR*), lo cual da lugar a cepas más virulentas con la capacidad de sobrevivir en ambientes con altas concentraciones de antimicrobianos (Subedi et al., 2018).

El integrón clase 1, es un tipo de MGE altamente distribuido no solo en *P. aeruginosa*, si no en diversas bacterias asociadas con la atención a la salud. Este MGE se caracteriza por poseer genes agrupados principalmente asociados con la resistencia antimicrobiana y secuencias de inserción que permiten la ganancia o pérdida de algunos de estos genes de acuerdo con la presión selectiva a la cual está sometida la bacteria. Se ha descrito que 1 de cada 3 aislados de *P. aeruginosa* presentan un integrón clase 1 y en el contenido de estos integrones se han

identificado por lo menos 2 genes asociados con resistencia a antimicrobiana siendo el gen *sul1* el más prevalente acompañado por un gene de resistencia a betalactámicos, carbapenémicos y/o aminoglucósidos (Jaillard et al., 2017). En dos de las cepas secuenciadas (Pa124 y Pa127) se identificó la presencia de un integrón clase 1 el cual portaba los genes: *aac(6')-33*, *blaGES-19*, *blaGES-20*, *qacΔ1* y *sul1*, estos genes contribuyen a la resistencia a aminoglucósidos, carbapenémicos, compuestos cuaternarios (desinfectantes) y sulfonamidas, respectivamente. Además, adyacente a este integrón se identificó la presencia de los genes *tetR*, *tetG*, *floR* y dos acetiltransferasa, estos genes confieren resistencia a tetraciclinas, cloranfenicol y aminoglucósidos, respectivamente.

Otro MGE identificado con relevancia en la

Tabla 1. Elementos genéticos móviles identificados en cepas mexicanas de *P. aeruginosa*.

Locus	RGP	Cepa Pa58	Cepa Pa84	Cepa Pa124	Cepa Pa127	Cepa Pa1207	Cepa Pa1242
PA0263.1	2	PAGI-50		PAGI-51	PAGI-51		
PA0613	3	LES-Prophage 1 *	LES-Prophage 1 *				
PA0729.1	5	PAGI-15 like *	PAGI-15 like *			Prophage-Mx9	Prophage-Mx10
PA0818	6	Prophage-Mx7	Prophage-Mx8	Phage CF79-like *	Phage CF79-like *	Islet-Mx2	Phage CF79-like *
PA0976.1	7	ExoU-C like		ExoU-D	ExoU-D		
PA1191	10			LES-Prophage 6 *	LES-Prophage 6 *		
PA1243	12		CRISPR cas array				
PA1796.3	17	Phage F116-like *				Prophage-Mx6	Prophage-Mx6
PA1964	19		Phage YMC *	Prophage-Mx 16			
PA2035	20					IS-Mx7	
PA2216	23	PAGI-41	PAGI-1 *	PAGI-42	PAGI-43	PAGI-44	PAGI-45
PA2571	26	ICEPa-Mx3		ICEPa-Mx3	ICEPa-Mx3		
PA2583.1	27	PAGI-46				PAGI-47	
PA2736.1	28	IS-Mx1	Islet-Mx1	Transposon-Mx1	Transposon-Mx1	PAGI-57	PAGI-58
PA2819.1	29					PAGI-55	PAGI-56
PA3536	35	Prophage-Mx1	Prophage-Mx1				
PA3768	36		Prophage-Mx13	Prophage-Mx14	Prophage-Mx15	Islet-Mx3	
PA4541.1	41	pKLC-102 like	pKLC-102 like			pKLC-102 like	pKLC-102 like
PA4673.1	42	Prophage-Mx11				Prophage-Mx12	
PA1934	52					IS-Mx6	Islet-Mx4
PA2793	56	Prophage-Mx2		Prophage-Mx3	Prophage-Mx3	Prophage-Mx4	Prophage-Mx5
PA5149.1	62	PAGI-48					PAGI-49
PA0068	63			Prophage-Mx17	Prophage-Mx17		
PA2581.1	72	Phage BR153-like *					
PA1579	75			p34998-293.973kb *	p34998-293.973kb *		
PA5290	79			Prophage-Mx18	Prophage-Mx18	Prophage-Mx19	
PA2593	85					LESGI-2 *	
PA5160.1	87			PAGI-6 like *	PAGI-6 like *		
PA3960	88	PAGI-7 like *				PAGI-7 like *	PAGI-7 like *
PA0609	90	ICEPa-Mx1					
PA5530	91					ICEPa-Mx2	
PA3057	92	p34998-293.973kb *					
PA3655	93					p34998-293.973kb *	
PA2749	94	Tn6162-like *				Tn6162-like *	
PA0804	95					ICEPa-Mx3	
PA2250	96	IS-Mx2					
PA1155	97	PAGI-59					
PA4584	98	Phage JBD67-like *					
PA0004	99		IS-Mx3			IS-Mx4	IS-Mx4
PA3452	100		Phage JBD30-like *				
PA2283	101			Phage CF5-like *	Phage CF5-like *		
PA5548	102			Class 1 integron *	Class 1 integron *		IS-Mx5

resistencia antimicrobiana son los ICEs, estos elementos poseen en su contenido genético un sistema para poder realizar procesos de conjugación y transferencia a otros microorganismos, además de poseer mosaicos genéticos que confieren ventajas adaptativas a la bacteria. En cuatro de las cepas mexicanas de *P. aeruginosa* se identificaron ICEs nuevos (ICEPa-Mx1, ICEPa-Mx2 e ICEPa-Mx3) estos MGE comparten genes del operón *tra-trb* que permiten el ensamblaje y regulación de un pili de conjugación que permite la transferencia de este elemento a otras bacterias. Si bien, en estos elementos solo se identificó el gene *tetR* y algunos componentes de bombas de eflujo asociados a resistencia antimicrobiana, su mayor contribución está dada por la presencia de operones de resistencia a metales pesados (arsénico, mercurio y cobre), los cuales son componentes principales en las formulaciones de agentes antisépticos y desinfectantes utilizados en el ambiente hospitalario. La presencia de este conjunto de genes permite que la bacteria pueda sobrevivir a los procesos de desinfección y establecerse en el ambiente hospitalario contaminando superficies inertes, fuentes de agua, material quirúrgico, entre otros.

La primera columna muestra los loci de inserción de cada uno de los elementos genéticos

móviles (MGE) identificados en las cepas mexicanas de *P. aeruginosa* con respecto a los loci de la cepa de referencia PAO1; la segunda columna muestra las regiones de plasticidad genómica (RGP) en el cromosoma (RGP-2 a RGP-102), utilizando un número progresivo de acuerdo con la nomenclatura establecida por Celeste: islas genómicas; Verde: profagos; Naranja: elementos conjugativos integrativos; Azul marino: secuencias de inserción y transposones; Amarillo: arreglos tipo CRISPR-Cas; Rosa: islotes genómicos; Morado: integrón clase 1. El acrónimo MX hace referencia a nuevos MGE identificados en nuestras cepas de *P. aeruginosa*. * son MGE parciales o completos descritos en otras cepas u organismos.

Finalmente, la composición genética identificada en los MGE de las cepas mexicanas de *P. aeruginosa*, junto a otros mecanismos de resistencia antimicrobiana como la resistencia intrínseca o adaptativa, pueden contribuir al aumento en la resistencia antimicrobiana. En las cepas mexicanas se encontró que aquellas que poseían MGE como la isla *exoU*, integrones y/o ICEs (Pa58, Pa124, Pa127 y Pa1207) fenotípicamente mostraban perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de multidrogo resistente o extensivo drogo resistentes (**Tabla 2**).

Tabla 2. Perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de cepas mexicana de *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrobiano/Cepa	Pa58	Pa84	Pa124	Pa127	Pa1207	Pa1242
Carbenicilina	R	I	R	R	R	S
Ticarclina	R	S	R	R	R	S
Piperacilina	R	S	R	R	R	S
Ticarclina / Clavulanato	R	S	R	R	R	S
Piperacilina/ Tazobactam	R	S	R	R	R	S
Ceftazidima	R	I	R	R	R	S
Ceftriaxona	R	S	R	R	R	S
Cefotaxima	R	S	R	R	R	S
Cefepime	R	S	R	R	R	S
Imipenem	R	R	I	R	R	S
Meropenem	R	S	R	R	R	S
Aztreonam	S	S	R	R	S	S
Amikacina	R	S	R	R	R	S
Gentamicina	R	S	R	R	S	S
Tobramicina	R	S	R	R	R	S
Polimixina B	S	S	S	S	S	R
Ciprofloxacina	R	R	R	R	S	S
Lomefloxacina	R	S	R	R	S	S
Norfloxacino	R	I	R	R	S	S
Levofloxacina	R	R	R	R	S	S
	XDR	MDR	XDR	XDR	MDR	SUS

R: resistente, I: resistencia intermedia y S: susceptible; XDR: extensivamente drogo resistente, MDR: moderadamente resistente y SUS: susceptible.

En conclusión, la adquisición de material genético exógeno en *P. aeruginosa* permite a esta bacteria ganar determinantes genéticos que le brindan una ventaja adaptativa para la colonización, supervivencia y adaptación a entornos adversos como lo son el hospitalario, favoreciendo su diseminación e incrementando su capacidad de generar infecciones en los pacientes hospitalizados.

La identificación de genes de resistencia en elementos genéticos móviles, así como la implementación de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son necesarias para la toma de decisiones sobre la utilización de agentes antimicrobianos y la instauración de terapias antimicrobianas efectivas frente a las infecciones por *P. aeruginosa*, además de contribuir al establecimiento de una vigilancia epidemiológica eficiente en la práctica clínica.

De igual forma es vital incrementar la investigación relacionada a la sinergia que puedan llevar a cabo genes presentes en MGE asociados a la virulencia y resistencia antimicrobiana para entender los mecanismos de adaptación de la bacteria y poder brindar estrategias de tratamiento efectivas.

Referencias

Aroca Molina, K. J., Gutiérrez, S. J., Benítez-Campo, N., & Correa, A. (2024). Genomic Differences Associated with Resistance and Virulence in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Clinical and Environmental Sites. *Microorganisms*, 12(6), 1116. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061116>

da Silva Filho, A. C., Raittz, R. T., Guizelini, D., De Pierri, C. R., Augusto, D. W., Dos Santos-Weiss, I. C. R., & Marchaukoski, J. N. (2018).

Comparative Analysis of Genomic Island Prediction Tools. *Frontiers in genetics*, 9, 619. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00619>

Espinosa-Camacho, L. F., Delgado, G., Cravioto, A., & Morales-Espinosa, R. (2022). Diversity in the composition of the accessory genome of Mexican *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Genes & genomics*, 44(1), 53–77. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01155-3>

Morales-Espinosa, R., Delgado, G., Espinosa, L. F., Isselo, D., Méndez, J. L., Rodríguez, C., Miranda, G., & Cravioto, A. (2017). Fingerprint analysis and identification of strains ST309 as a potential high risk clone in a *Pseudomonas aeruginosa* population isolated from children with bacteremia in Mexico City. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAR), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00313>

Morales-Espinosa, R., Soberón-Chávez, G., Delgado-Sapién, G., Sandner-Miranda, L., Méndez, J. L., González-Valencia, G., & Cravioto, A. (2012). Genetic and phenotypic characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* population with high frequency of genomic islands. *PLoS ONE*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.003749>

Jaillard, M., van Belkum, A., Cady, K. C., Creely, D., Shortridge, D., Blanc, B., Barbu, E. M., Dunne, W. M., Jr, Zambardi, G., Enright, M., Mugnier, N., Le Priol, C., Schicklin, S., Guigon, G., & Veyrieras, J. B. (2017). Correlation between phenotypic antibiotic susceptibility and the resistome in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of antimicrobial agents*, 50(2), 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.02.026>

Subedi, D., Vijay, A. K., Kohli, G. S., Rice, S. A., & Willcox, M. (2018). Association between possession of ExoU and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *PloS one*, 13(9), e0204936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204936>

Clonas de alto riesgo (St309)

Dra. Gabriela Delgado Sapién

La preocupación por las bacterias patógenas con mayor virulencia, rápida transmisibilidad, así como una alta resistencia a los antimicrobianos ha hecho indispensable contar con métodos eficaces para identificar estas cepas y rastrear su propagación (1). El término “Clonas de Alto Riesgo” surgió a principios de la década del 2010 (2), y se ha utilizado para describir aquellas clonas bacterianas altamente especializadas con gran capacidad de propagación, permitiendo

diseminar eficientemente la resistencia a los antimicrobianos, lo que las hace un problema de salud pública. Si bien el concepto de clona no es del todo exacto porque una clona es aquel aislamiento bacteriano cuyo genotipo es indistinguible al de sus ancestros, implicando que no hay cambios genéticos en esa población (**Figura 1**). En realidad, las poblaciones bacterianas son dinámicas, sus genomas son plásticos y están sujetos a diferentes eventos genéticos que promueven su diversificación (**Figura 2**).

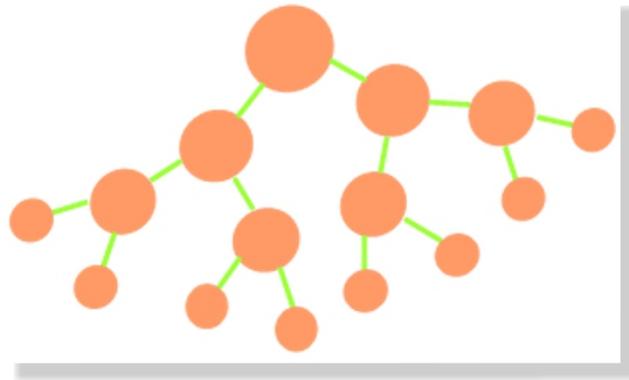
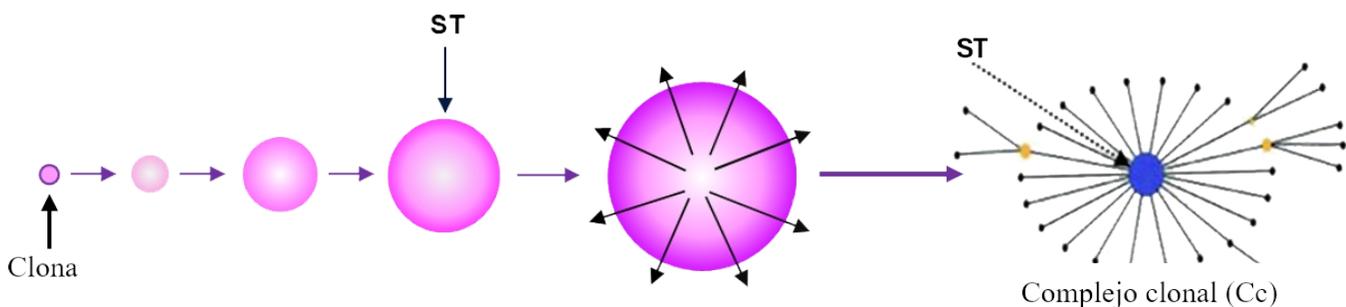


Figura 1. Población clonal



doi 10.1007/978-1-59745-117-8.

Figura 2. Diversificación de una clona bacteriana para producir un complejo clonal (Cc).

La clona o genotipo mejor adaptado va aumentando su frecuencia (representado en el cambio de tamaño de los círculos) a través del tiempo este genotipo ancestral se va diversificando principalmente por mutaciones y recombinación. El grado de diversificación de una clona puede dar origen a un Complejo clonal

(Cc). Por lo tanto, un Cc es aquel que agrupa cepas que comparten una identidad alélica de al menos 5 o 6 genes de metabolismo básico. Es importante señalar que el término de Cc se utiliza particularmente en microbiología médica y en estudios epidemiológicos (3,4). La preocupación por las clonas de alto riesgo y

complejos clonales derivados de aquellas, asentaron la necesidad de métodos eficaces para identificar y rastrear la propagación de estas clonas.

Actualmente el método más empleado para la caracterización molecular de las clonas de alto riesgo es la Tipificación de Secuencias Multi Locus (MLST). Este método se basa en amplificar y secuenciar fragmentos (450 a 500 pb) de siete genes de metabolismo básico de la bacteria que se localizan alrededor del cromosoma bacteriano (**Figura 3**), además es imprescindible que los genes presenten diferentes frecuencias de mutación y preferentemente neutras. La secuenciación revela la o las variaciones en los genes examinados, y las secuencias diferentes se asignan como alelos. Por último, el ensamble de los alelos de los siete genes generan un perfil alélico, el cual es el que define el Tipo de Secuencia (ST) de cada aislado. La secuencia que difiere incluso por un solo nucleótido se asigna como un alelo diferente y por lo tanto el resultado es un ST diferente. Las clonas de alto riesgo se determinan con base al MLST y además DEBEN de presentar las siguientes características:

1. Acumular múltiples determinantes de resistencia a antimicrobianos,
2. Acumular determinantes genéticos de virulencia,
3. La colonización en el hospedero es eficiente y persistente,
4. La patogenicidad está incrementada,
5. Su capacidad de diseminación es alta y rápida,
6. La propagación es mundial y,
7. Se asocian a brotes epidémicos (3).

Un ejemplo muy representativo de una clona de alto riesgo, es la clona ST111 de *Pseudomonas aeruginosa* (**Figura 4**) (5).

En el 2017, Morales Espinosa y cols. reportaron el análisis de 60 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de niños. Los resultados mostraron una población bacteriana diversa, y alta variabilidad en los STs. Sin embargo, el tipo de secuencia detectado con mayor frecuencia fue el ST309 (**Figura 5**), la cual, además, reunía casi todas las características requeridas para ser una clona de alto riesgo. Todos los aislados presentaron un número variable de islas genómicas (GEIs) o variabilidad en el contenido genético y perfiles fenotípicos de resistencia

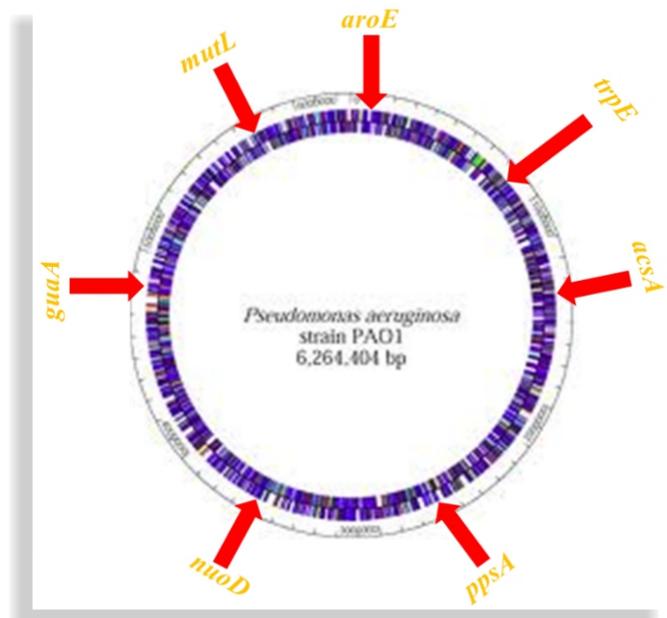
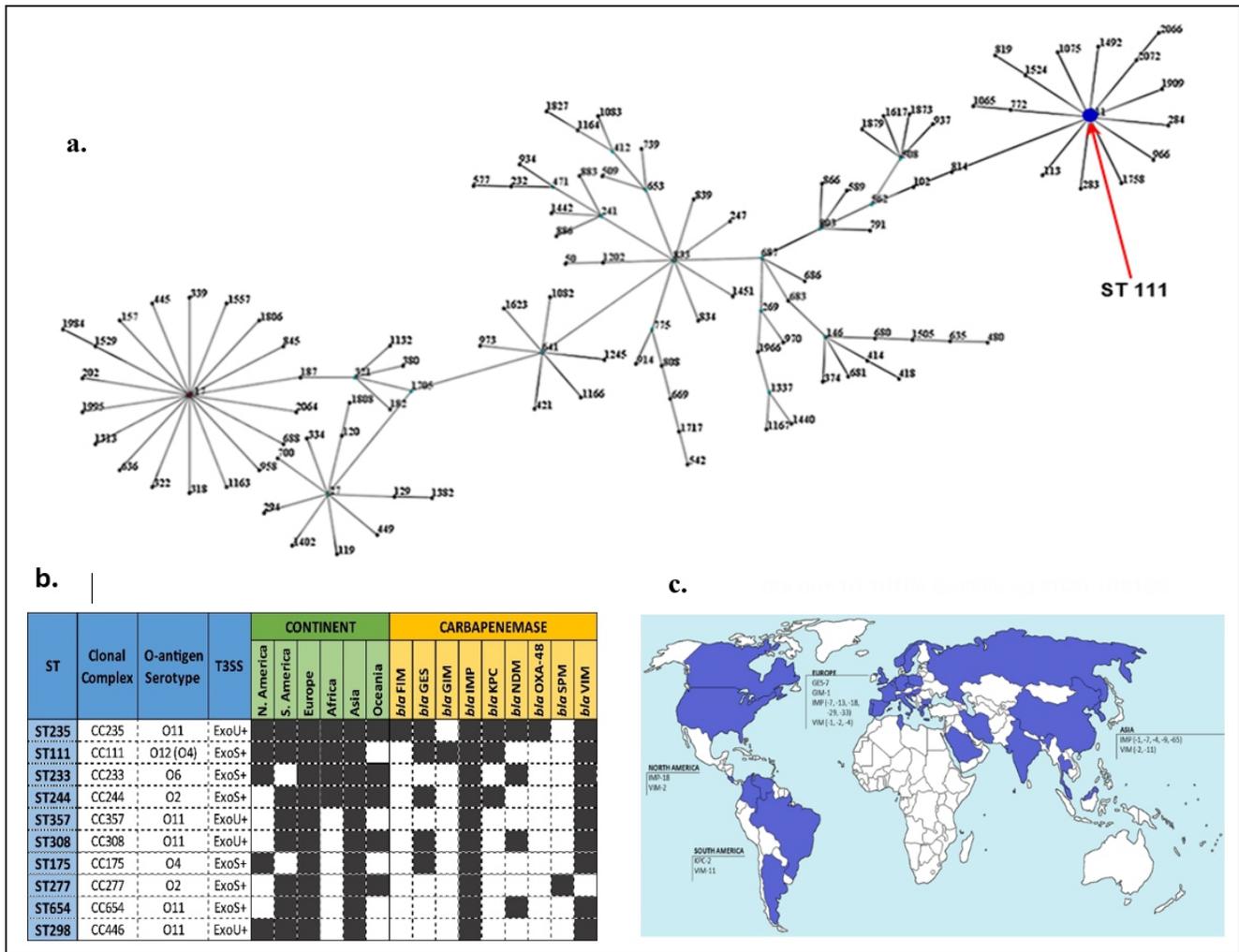


Figura 3.
Cromosoma de *P. aeruginosa* mostrando los loci de los genes utilizados en el MLST.

MDR y XDR. No obstante, los perfiles cromosómicos (PFGE) ya mostraban diferencias (**Figura 5**). Sin embargo, hasta ese momento no se habían encontrado reportes sobre la presencia del ST 309 en otras regiones de México o del mundo, por lo que Morales Espinosa y cols. propusieron que se trataba de una clona con potencial de alto riesgo (6).

Posteriormente, Escalante A. y cols. reportaron los resultados del análisis de una colección de 158 aislados de *Pseudomonas aeruginosa* nosocomiales muy de la Ciudad de México (7). Por un lado, los resultados relacionados con la resistencia a antimicrobianos mostraron una mayor prevalencia de perfiles de MDR, XDR y PDR comparados con la resistencia reportada en países desarrollados. Los 158 aislamientos mexicanos de *P. aeruginosa* representaron una muestra de la diversidad genética global, ya que la mayoría de los aislamientos de esta colección se agruparon en Cc globales. La secuencia tipo ST309 se reconoció como una clona de alto riesgo que debe de estar bajo vigilancia epidemiológica ya que se han aislado en México cepas ST309 PDR. Además, es una clona fundadora (Cc309) que está en un proceso de diversificación (**Figura 6**).



doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106196

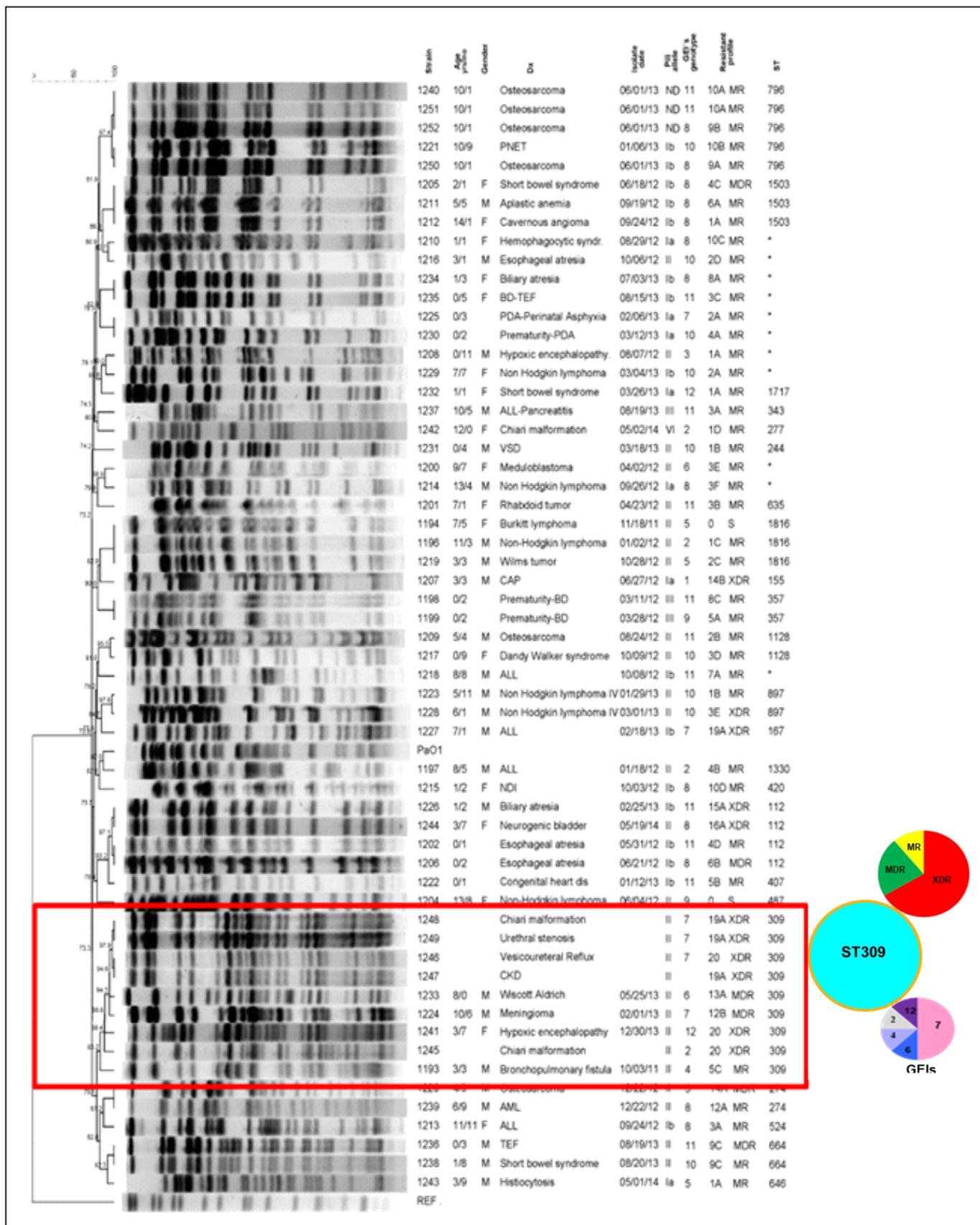
Figura 4.

Clona de alto riesgo de *Pseudomonas aeruginosa* ST111, a. La clona ST111 es fundadora del Cc111, la cual está muy diversificada, b. Esta clona de alto riesgo está muy asociada con perfiles de resistencias MDR y XDR, c. La distribución de la clona de alto riesgo ST111 es mundial.

A partir de los trabajos previamente mencionados sobre la clona de alto riesgo ST309 han sido publicados más trabajos de diferentes países relacionados con esta secuencia tipo y su correspondiente Complejo clonal, demostrando así que la clona ST309 se ha diseminado con rapidez y ya presenta una distribución mundial (**Figura 7**).

Por último, es importante señalar que la detección de clonas de alto riesgo MDR/XDR es de gran relevancia epidemiológica, de control de infecciones y de salud pública. La técnica de MLST hasta este momento es probablemente el estándar de oro más utilizado, por su sencilla implementación, relativo bajo costo y principalmente por la información que se puede obtener como:

- Establecer marcadores de virulencia y resistencia antimicrobiana entre poblaciones bacterianas.
- Explicar cambios en el espectro de los agentes infecciosos en brotes intrahospitalarios, así como en epidemias.
- Determina la relación genética entre las bacterias involucradas en infecciones intrahospitalarias, en brotes epidémicos, epidemias y pandemias.

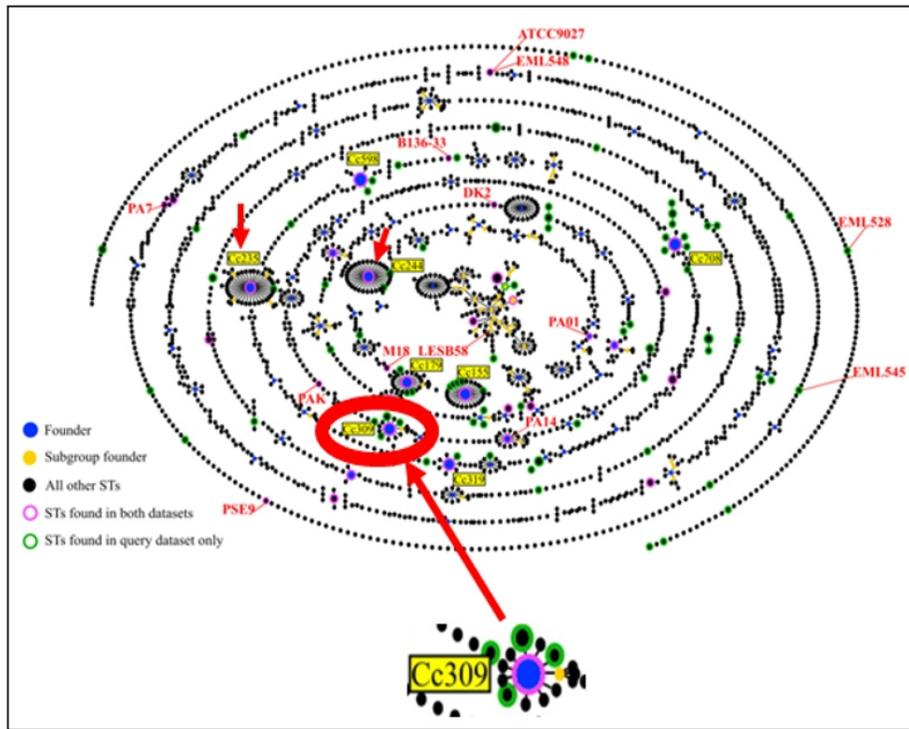


Morales-Espinosa R. 2017. Front. Microbiol. 8:313. doi: 10.3389/fmicb.2017.00313

Figura 5. Agrupamiento y la relación de los perfiles cromosómicos de las ST309, así como los perfiles de islas genómicas y perfiles de resistencia MDR o XDR.

- En el campo epidemiológico permite rastrear la diseminación local y global de las clonas y complejos clonales de alto riesgo.
- Mantener la vigilancia epidemiológica de los complejos clonales de alto riesgo, para una rápida detección con la finalidad de implementar medidas de control.

- Desarrollar terapias antimicrobianas adecuadas para infecciones graves y prevenir la transmisión.
- Ayuda a comprender las relaciones genéticas entre las clonas y Cc de alto riesgo.
- El análisis de los complejos clonales permite la identificación de linajes epidémicos.



doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.009

Figura 6. Diagrama eBURST muestra el análisis comparativo entre los STs de la colección de aislados mexicanos y los STs que forman la base de datos del PubMLST. Además, da una mejor idea sobre la dinámica poblacional de las clonas de alto riesgo (ST) y los complejos clonales (Cc) de *P. aeruginosa* mediada por mutaciones o recombinación, Eventos genéticos que por un lado promueven la diversificación y por el otro actúan como una fuerza cohesiva de los Cc.

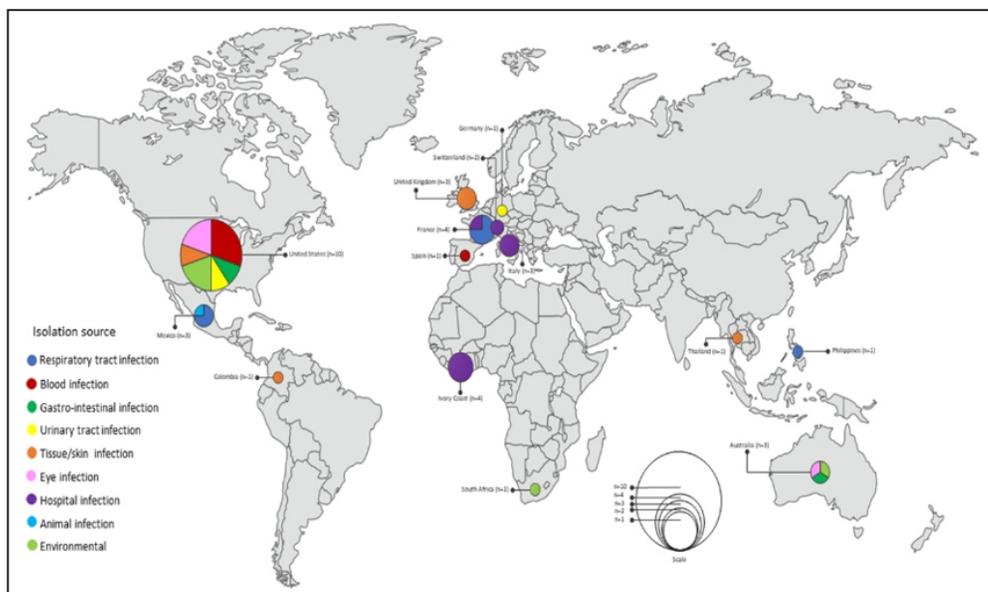


Figura 7. Distribución global de la clona de Alto Riesgo ST307

Bibliografía

1. Enright, M. C., and B. G. Spratt. (1999). Multilocus sequence typing. *Trends Microbiol.* 7:482-487.
[https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(99\)01609-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(99)01609-1)
 2. de Lagarde, M., Vanier, G., Arsenault, J., & Fairbrother, J. M. (2021). High Risk Clone: A Proposal of Criteria Adapted to the One Health Context with Application to Enterotoxigenic *Escherichia coli* in the Pig Population. *Antibiotics*, 10(3), 244.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10030244>
 3. Rodríguez-R, LM., Conrad, RE., Feistel, DJ., Viver, T., Rosselló-Morá, R., Konstantinidis, KT. (2022). A natural definition for a bacterial strain and clonal complex. *bioRxiv*2022.06.27.497766;
<https://doi.org/10.1101/2022.06.27.497766>
 4. Spratt, B.G. (2004). Exploring the Concept of Clonality in Bacteria. In: Woodford, N., Johnson, A.P. (eds) *Genomics, Proteomics, and Clinical Bacteriology. Methods in Molecular Biology™*, vol 266. Humana Press.
<https://doi.org/10.1385/1-59259-763-7:323>
 5. Del Barrio-Tofiño, E., López-Causapé, C. & Oliver, A. (2020) *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. *Int J. Antimicrob. Agents* 56, 106196.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106196>
 6. Morales-Espinosa R, Delgado G, Espinosa LF, Isselo D, Méndez JL, Rodríguez C, Miranda G and Cravioto A (2017) Fingerprint Analysis and Identification of Strains ST309 as a Potential High-Risk Clone in a *Pseudomonas aeruginosa* Population Isolated from Children with Bacteremia in Mexico City. *Front. Microbiol.* 8:313.
doi:10.3389/fmicb.2017.00313
 7. Castañeda-Montes FJ, Avitia M, Sepúlveda-Robles O, Cruz-Sánchez V, Kameyama L, et al. (2018) Population structure of *Pseudomonas aeruginosa* through a MLST approach and antibiotic resistance profiling of a Mexican clinical collection. *Infect Genet Evol* 65:43–54.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.009>
-

Clonalidad entre cepas hospitalarias



Dr. Alejandro Flores Alanis

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria de gran importancia médica, ya que se estima que es la causa de más de aproximadamente 500,000 muertes al año (Figura 1). Muchos de estos casos se deben a infecciones nosocomiales, donde la infección con *P. aeruginosa* aumenta la tasa de mortalidad.

Dentro de los hospitales *P. aeruginosa* genera cuadros clínicos que incluyen infecciones de vías respiratorias, vías urinarias, sistémicas (bacteriemias), tejidos blandos y profundos, oculares, entre otras (**Figura 1**).

Además, dentro de los hospitales, personas inmunocomprometidas o con infecciones respiratorias crónicas, como fibrosis quística o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) son muy susceptibles a infección con *P. aeruginosa*.

El ambiente intra-hospitalario funciona como reservorio de *P. aeruginosa*, esto se debe a que *P. aeruginosa* tiene una capacidad alta de adaptación a diferentes ambientes, principalmente lugares húmedos. En los hospitales puede colonizar ventiladores, unidades de aire acondicionado, lavabos, grifos, inodoros, humidificadores, ventiladores mecánicos, máquinas de diálisis, sondas, entre otros. Se ha observado que uno de los principales reservorios y fuente de contaminación son las instalaciones de distribución y salida de agua.

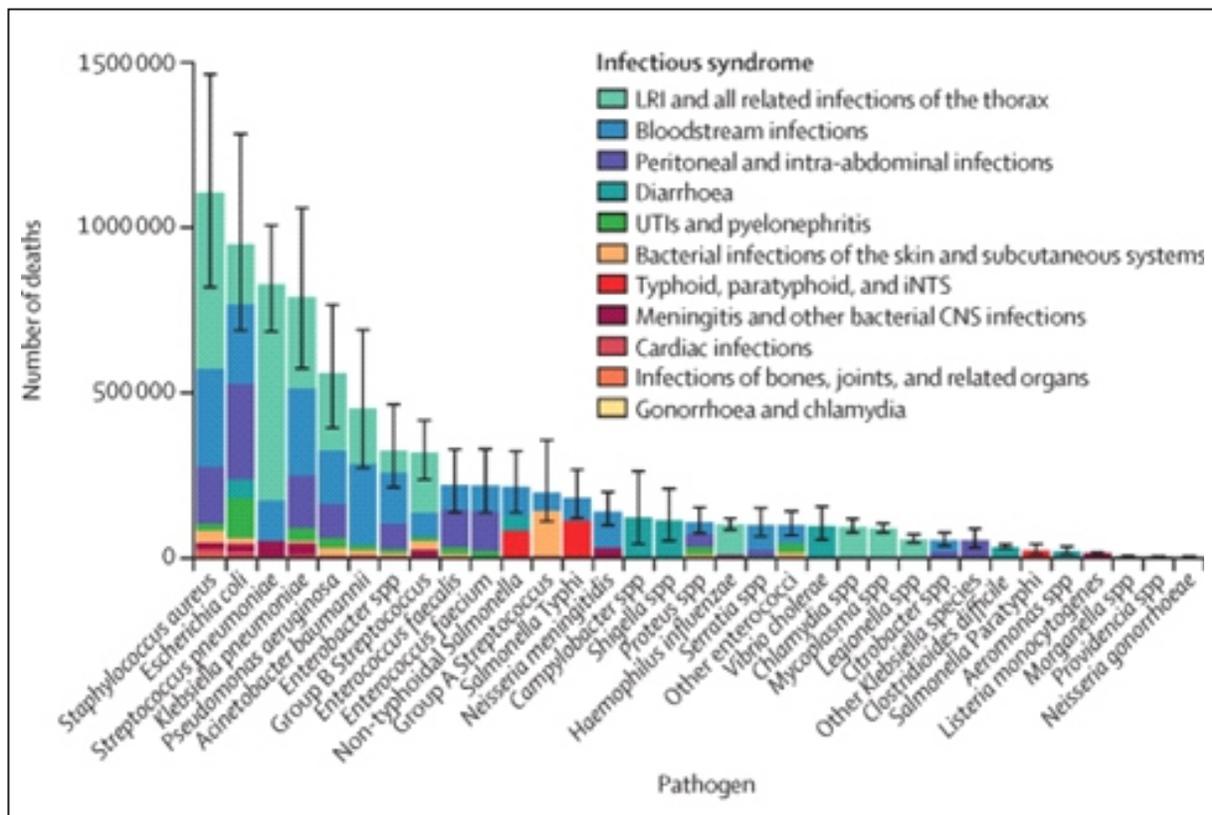


Figura 1. Número de muertes por bacterias de importancia médica a nivel global. *P. aeruginosa* es la quinta causa de muerte por infecciones bacterianas. Tomado de GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators (2022). [10.1016/S0140-6736\(22\)02185-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02185-7)

Dentro del ambiente intra-hospitalario la transmisión de *P. aeruginosa* puede ocurrir de dos maneras: primero, donde el paciente funciona como fuente de contaminación, este paciente puede contaminar el ambiente intrahospitalario y al personal médico, a partir de esta contaminación, otros pacientes sin infección pueden adquirir a la bacteria, o si hay un contacto estrecho entre el paciente infectado y el no infectado (**Figura 2**); segundo, cuando el

ambiente intrahospitalario está contaminado por la bacteria, por ejemplo grifos, lavabos, regaderas, etc, un paciente en contacto con esta fuente de contaminación puede infectarse directamente, o a partir de esta fuente de contaminación el personal médico u otras partes del hospital pueden contaminarse y servir como vectores de transmisión de la bacteria (**Figura 2**).

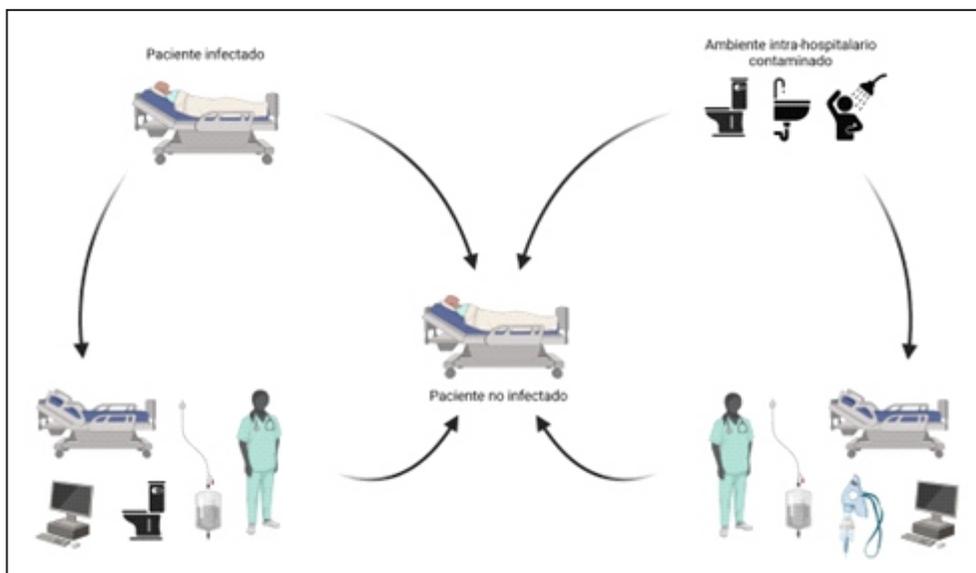


Figura 2. Transmisión de *P. aeruginosa* dentro de los hospitales. Dentro de los hospitales puede haber dos tipos de reservorios de *P. aeruginosa*: pacientes infectados o ambiente intrahospitalario colonizado. Creada en Biorender.com

Entre todas las cepas de *P. aeruginosa*, las clonas de alto riesgo (CAR) o complejos clonales de alto riesgo (CCAR) son las de mayor importancia médica, ya que son las causantes de los brotes epidémicos dentro de los hospitales. Las CAR pertenecen a diferentes secuencias tipo (ST), en los últimos 50 años la aparición y distribución de nuevos ST ha aumentado considerablemente; entre estos nuevos ST, la ST309, se estima que surgió a mediados de los años 90's y desde entonces el número de brotes epidémicos causados por esta ST ha ido en aumento en diferentes regiones del mundo (Figura 3). Por lo anterior, es muy importancia tener bajo vigilancia epidemiológica a todos las ST reportadas como CAR.

Las poblaciones de *P. aeruginosa* son genéticamente diversas, esta diversidad es generada por transferencia horizontal seguida de recombinación y mutación; y el fondo genético de cada cepa determinara su adaptación a un nuevo ambiente. *P. aeruginosa*

puede colonizar al ser humano sin causar enfermedad, esta se puede encontrar en la piel o tracto digestivo, y estas personas asintomáticas pueden transmitir a la bacteria a otras personas sanas sin causar enfermedad. Sin embargo, cuando una persona tiene o alcanza un estado de inmunosupresión y se infecta o lleva su propia cepa de *P. aeruginosa*, la bacteria comenzara un proceso de adaptación a esa condición clínica específica, por ejemplo, el ambiente de una infección respiratoria es muy diferente a una infección de vías urinarias o de una quemadura. Durante este proceso de adaptación la bacteria comenzara a desarrollar características adaptativas específicas, que pueden limitar, pero no impedir, la transmisión de la bacteria entre diferentes patologías. Esto a su vez determinará las cadenas de transmisión, donde será más común que un paciente con infección respiratoria adquiera una cepa que ya está adaptada a esa condición clínica (**Figura 4**).

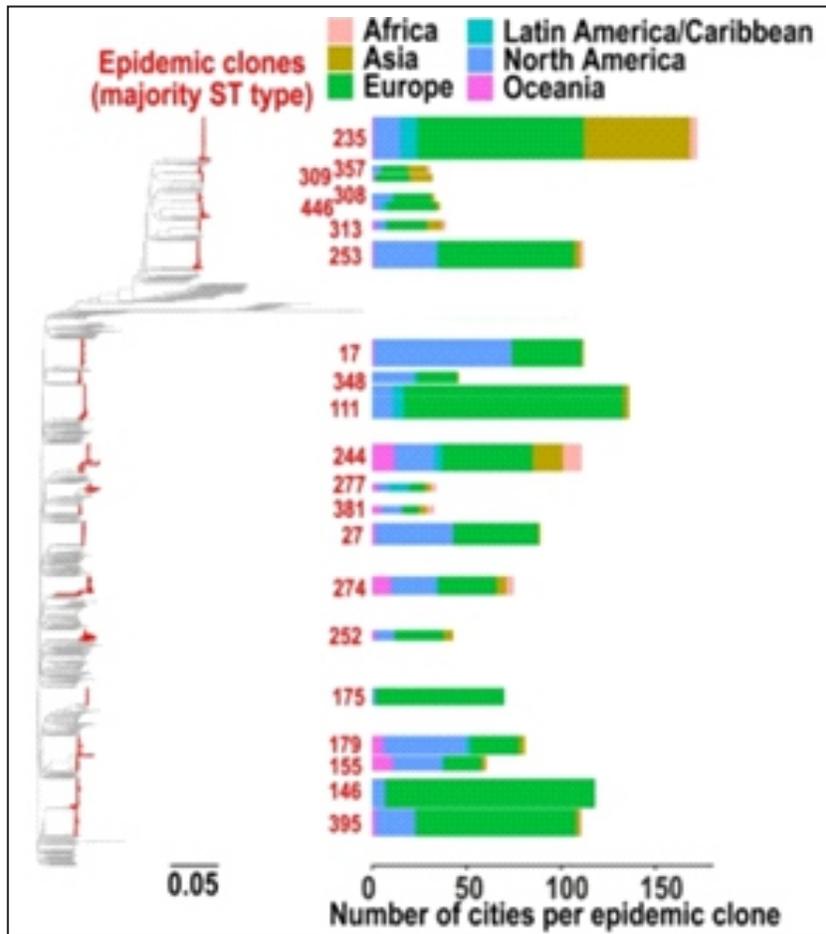


Figura 3. Principales secuencias tipo (ST) consideradas clonas de alto riesgo (CAR). Estas ST están distribuidas ampliamente y son la causa de los brotes epidémicos dentro de los hospitales. Tomada de Weimann et al., 2024. [10.1126/science.adi0908](https://doi.org/10.1126/science.adi0908)

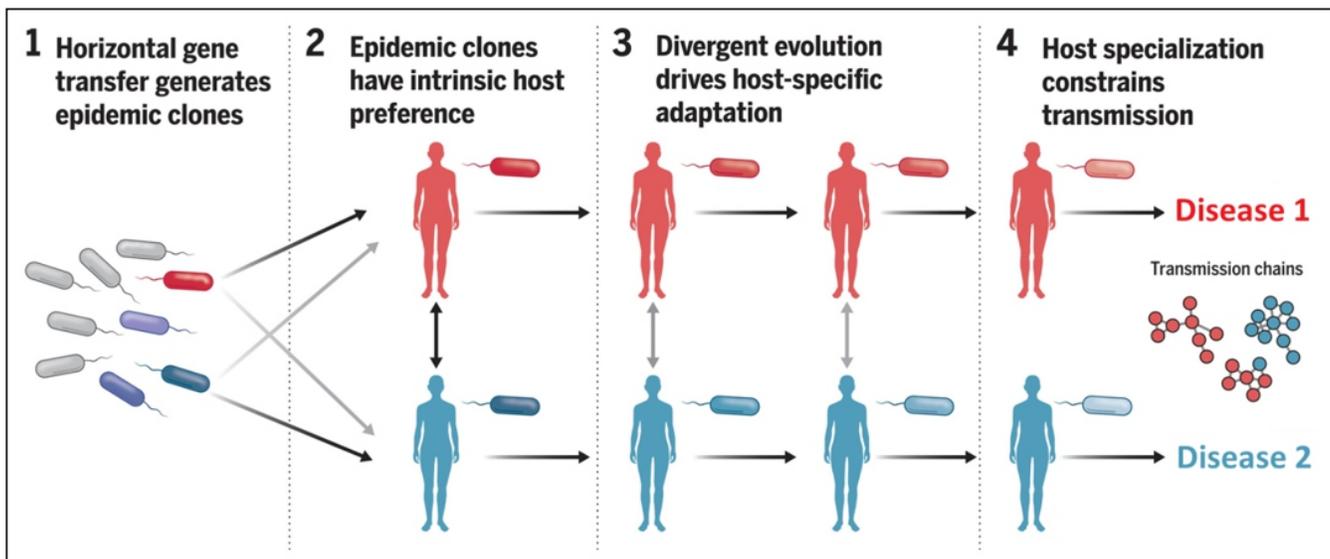


Figura 4. Adaptación de *P. aeruginosa* al ser humano. Las ST con potencial de ser CAR tienen la capacidad de adaptarse a diferentes ambientes dentro del ser humano. Tomado y modificado de Weimann et al., 2024. [10.1126/science.adi0908](https://doi.org/10.1126/science.adi0908)

Un ejemplo del proceso de adaptación de *P. aeruginosa* a un ambiente específico es la fibrosis quística (FQ). El pulmón con FQ es un entorno hostil y estresante que incluye estrés osmótico debido al moco viscoso, estrés oxidativo y estrés nitrosativo debido a las respuestas del huésped, las concentraciones sub-letales de antibióticos y la presencia de otros microorganismos. Lo anterior lleva a las poblaciones de *P. aeruginosa* a adaptarse a dicho ambiente para poder sobrevivir, los cambios adaptativos que adopta la bacteria son morfológicos (ej. colonias mucoides), metabólicos (ej. se tornan auxotrofas), de movilidad (pérdida), de virulencia (ej. cambio de genes de virulencia de fase aguda a genes de fase crónica) y evasión del sistema inmune (ej. mayor

sobrevivencia dentro de macrófagos), y la aparición de tasas elevadas de mutación debido a defectos en los mecanismos de reparación del DNA (hipermutadores).

Los pacientes con FQ están sujetos a terapias prolongadas de antimicrobianos, por lo que la aparición de resistencias a estos, es una adaptación común. Si tomamos en cuenta que la mayor resistencia hacia los antimicrobianos en *P. aeruginosa* es intrínseca, la mutación y la regulación de la expresión genética serán muy importantes para la resistencia a los antimicrobianos. La mutación es un proceso al azar lo que da como resultado que las poblaciones de *P. aeruginosa* de un solo paciente o de un brote epidémico presenten gran variedad genética y fenotípica.

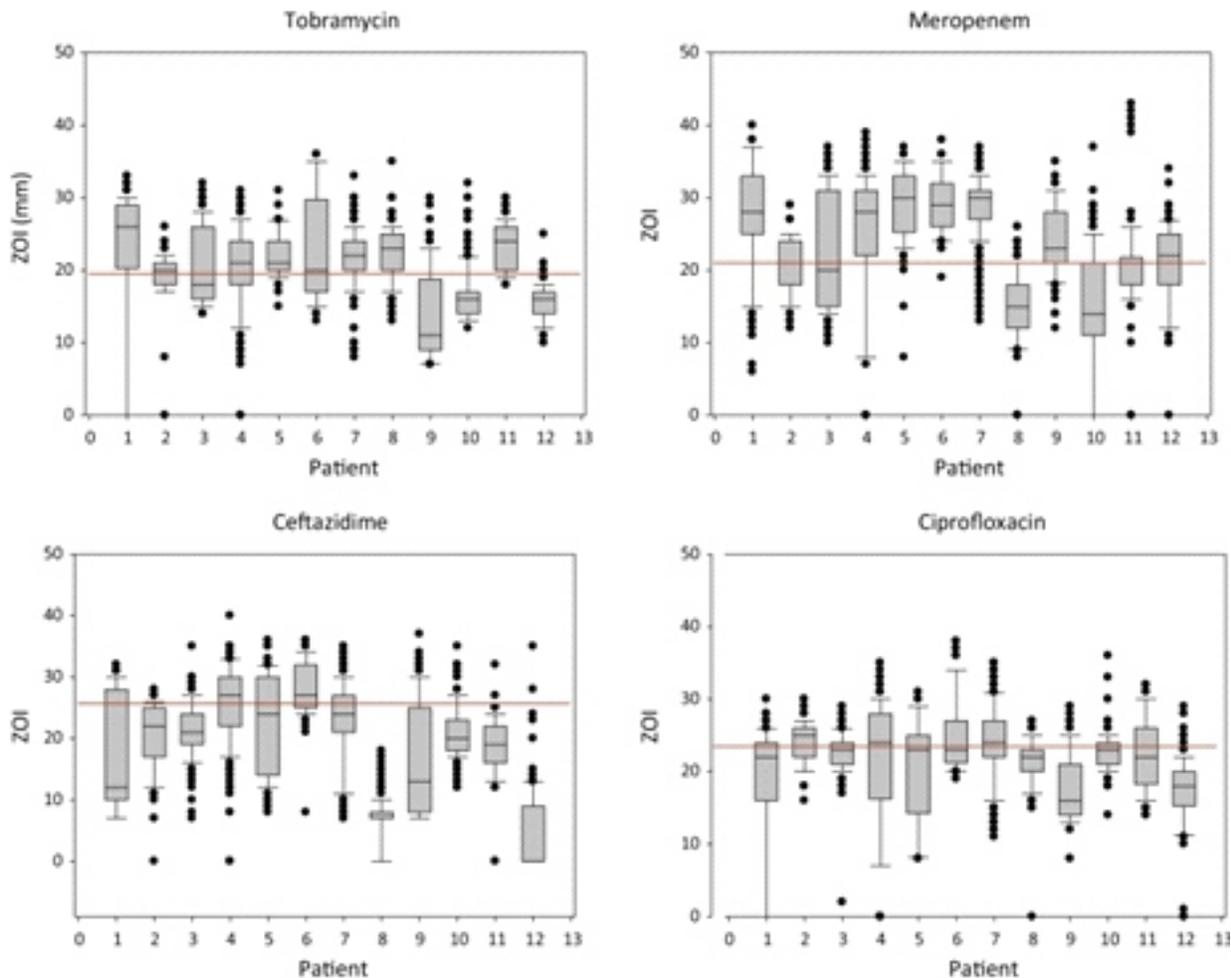


Figura 5. Variación en la susceptibilidad a los antimicrobianos de *P. aeruginosa*. Ochenta aislados obtenidos por paciente (12 pacientes en total) fueron analizados en una prueba de susceptibilidad a diferentes antimicrobianos, la línea roja indica en punto de corte para la zona de inhibición (mm), por debajo de esta están los aislados resistentes, por arriba de ella los aislados susceptibles. Se puede observar una susceptibilidad variable entre pacientes, pero también dentro de cada paciente. Tomado de Winstanley et al., 2016. [10.1016/j.tim.2016.01.008](https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.008)

En el proceso de adaptación a la resistencia a los antimicrobianos, la acumulación de mutaciones es frecuentemente asociada a las proteínas que participan en el proceso de resistencia, como por ejemplo las bombas de flujo, o a reguladores de la transcripción de dichos genes. Como resultado habrá diferentes grados de susceptibilidad dentro las poblaciones de *P. aeruginosa* de un mismo, paciente, aunque este infectado con el mismo ST (**Figura 5**).

Como conclusión podemos decir que: 1) las clonas de alto riesgo se encuentran distribuidas ampliamente; 2) su comportamiento dependerá del ambiente en el que se encuentren; 3) su adaptación a un ambiente específico depende de su contenido genético, y de su variación y expresión genética; 4) las cepas de *P. aeruginosa* que causan infecciones nosocomiales se originan endógenamente y no en el entorno externo al huésped; 5) la susceptibilidad a los antimicrobianos es variable dentro de un mismo complejo clonal, esto debe de ser tomado en cuenta durante la aplicación del tratamiento; y 6) la vigilancia epidemiología dentro de los hospitales es fundamental para la detección, control y prevención de brotes epidémicos.

Referencias.

1. <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>

2. GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2022 Dec 17;400(10369):2221-2248. doi: 10.1016/S0140-6736(22)02185-7

3. Stribling William, et al., Detecting, mapping,

and suppressing the spread of a decade-long *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial outbreak with genomics. *eLife*. 2024 13:RP93181 <https://doi.org/10.7554/eLife.93181.1>

4. Sukhum KV, et al., Antibiotic-resistant organisms establish reservoirs in new hospital built environments and are related to patient blood infection isolates. *Commun Med (Lond)*. 2022 Jun 1;2:62. doi: 10.1038/s43856-022-00124-5

5. Weimann A, et al., Evolution and host-specific adaptation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Science*. 2024 Jul 5;385(6704):eadi0908. doi: 10.1126/science.adi0908

6. Lomholt JA, et al., Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors. *Infect Immun*. 2001 Oct;69(10):6284-95. doi: 10.1128/IAI.69.10.6284-6295.2001

7. Winstanley C, et al., *Pseudomonas aeruginosa* Evolutionary Adaptation and Diversification in Cystic Fibrosis Chronic Lung Infections. *Trends Microbiol*. 2016 May;24(5):327-337. doi: 10.1016/j.tim.2016.01.008

8. Cameron DR, et al., Parallel Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* during a Prolonged ICU-Infection Outbreak. *Microbiol Spectr*. 2022 Dec 21;10(6):e0274322. doi: 10.1128/spectrum.02743-22

9. Jorth P, et al., Regional Isolation Drives Bacterial Diversification within Cystic Fibrosis Lungs. *Cell Host Microbe*. 2015 Sep 9;18(3):307-19. doi: 10.1016/j.chom.2015.07.006