

Resistencia a polimixinas

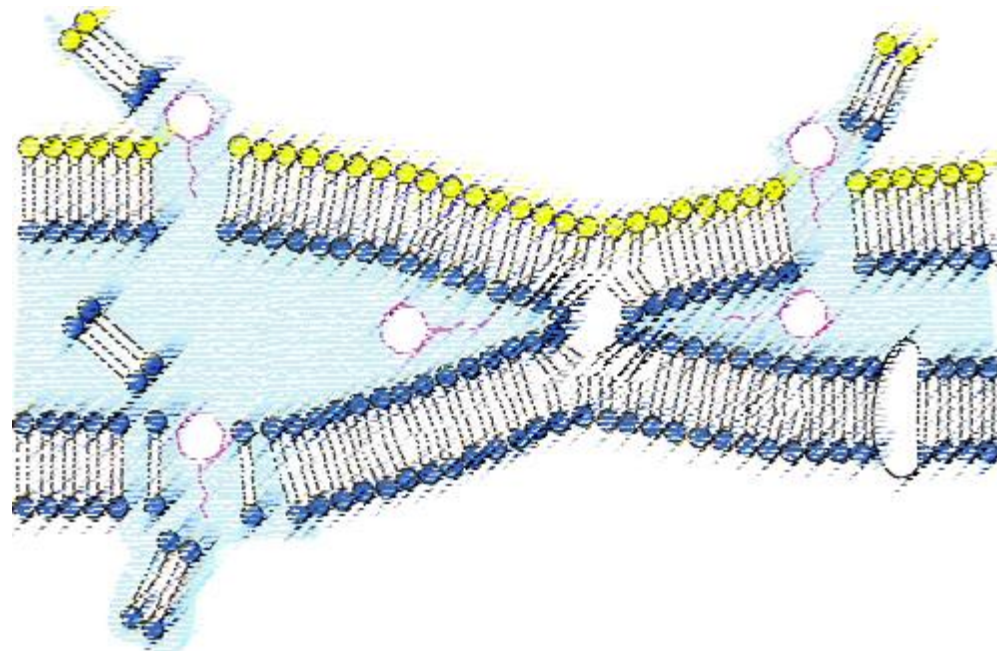
Una brecha importante para la última línea de terapia antimicrobiana

Roberto G. Melano, MSc, PhD

Public Health Ontario Laboratories
Toronto, ON, Canada

Reunión bienal conjunta ReLAVRA/RILAA

Montevideo, Uruguay
Noviembre de 2017



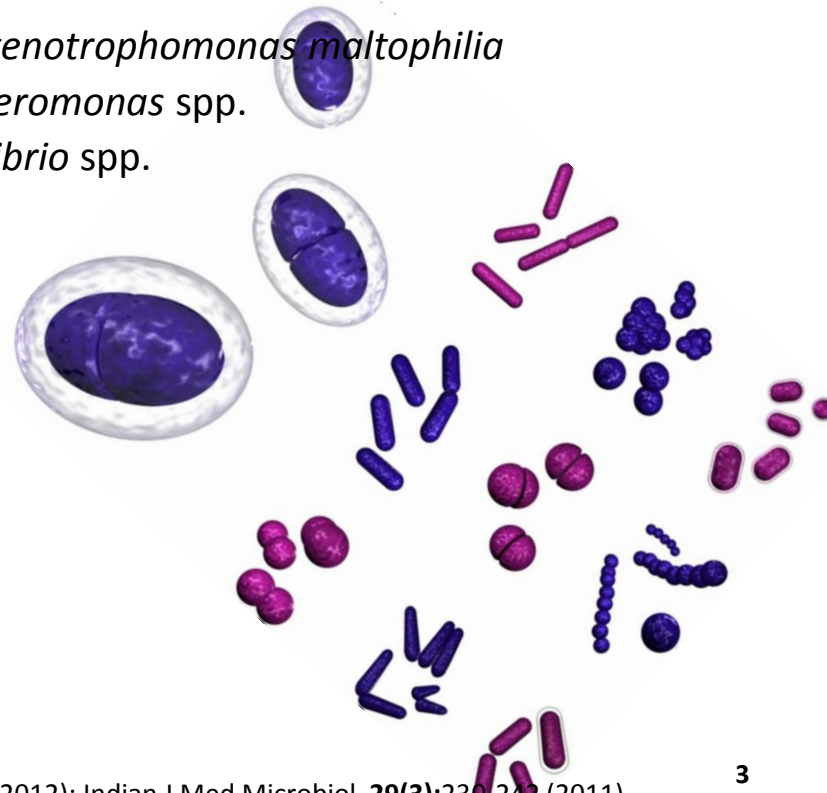
Historia



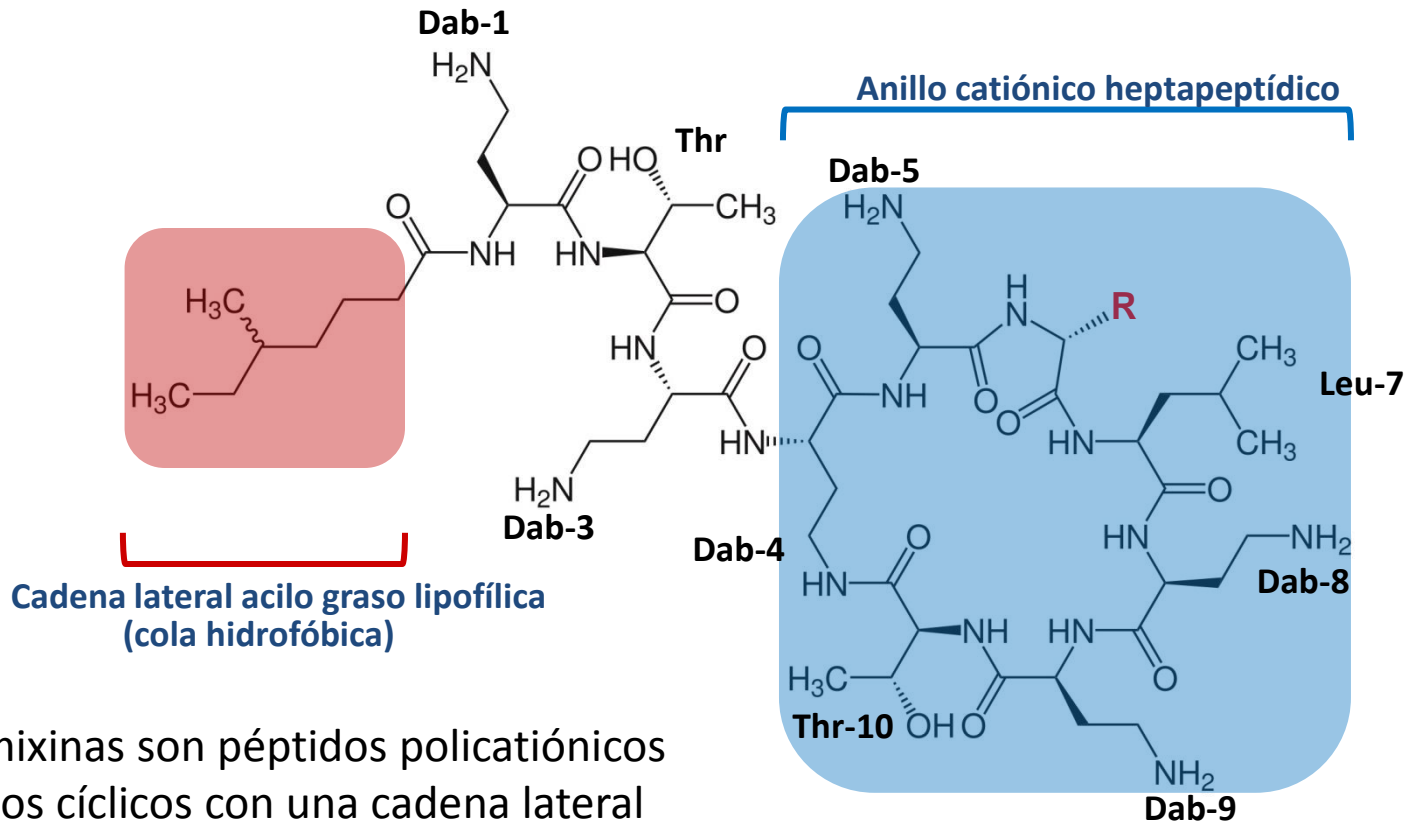
- 1947 → *Paenibacillus polymyxa* (antigua *Bacillus polymyxa* var. *Colistinus*) péptidos no ribosómicos de metabolitos secundarios
- 1950s → uso terapéutico contra bacterias Gram-negativas (BGN)
- 1980s → se restringe su uso (alta incidencia de nefrotoxicidad)
- Restringido a usos oftálmicos y tópicos; su uso sistémico o por nebulización limitado solo para pacientes con fibrosis quística
- Reconsideración de polimixinas como una opción terapéutica
 - aparición de BGN multi o pan-resistentes
 - escasez de nuevos agentes antimicrobianos

Polimixinas: espectro de acción

Sensible	Resistente	Variable
BGN		
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><i>Acinetobacter spp.</i></p> <p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Klebsiella spp.</i></p> <p><i>Enterobacter spp</i></p> <p><i>Salmonella spp.</i></p> <p><i>Shigella spp.</i></p> <p><i>Pasteurella spp.</i></p> <p><i>Legionella pneumophila</i></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i></p> <p><i>Bordetella pertussis</i></p> <p>BGN Anaeróbicos :</p> <p><i>Prevotella spp.</i></p> <p><i>Fusobacterium spp.</i></p>	<p><i>Proteus spp.</i></p> <p><i>Providencia spp.</i></p> <p><i>Serratia spp.</i></p> <p><i>Morganella morganii</i></p> <p><i>Edwardsiella tarda</i></p> <p><i>Chromobacterium spp.</i></p> <p><i>Burkholderia spp.</i></p> <p><i>Helicobacter pylori</i></p> <p>Cocos Gram-negativos:</p> <p><i>Neisseria spp.</i></p> <p><i>Moraxella catarrhalis</i></p> <p>Otros BGN anaeróbicos</p> <p>Todos los cocos Gram(+)</p>	<p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></p> <p><i>Aeromonas spp.</i></p> <p><i>Vibrio spp.</i></p>



Polimixinas: estructura química

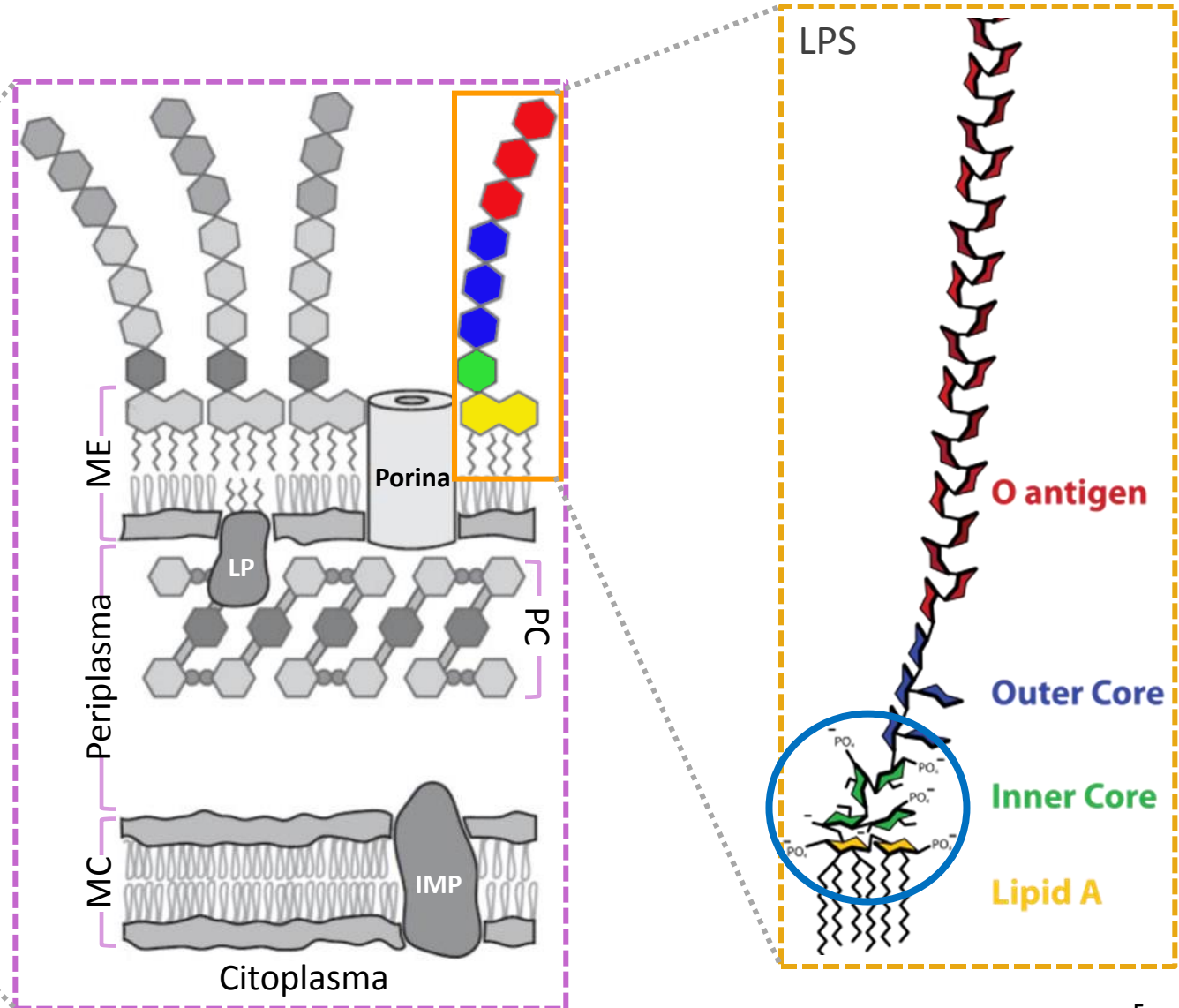
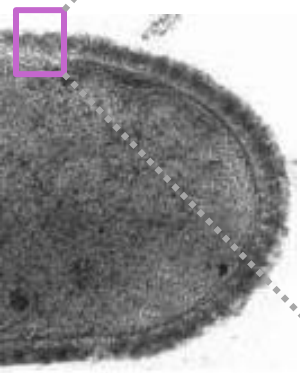


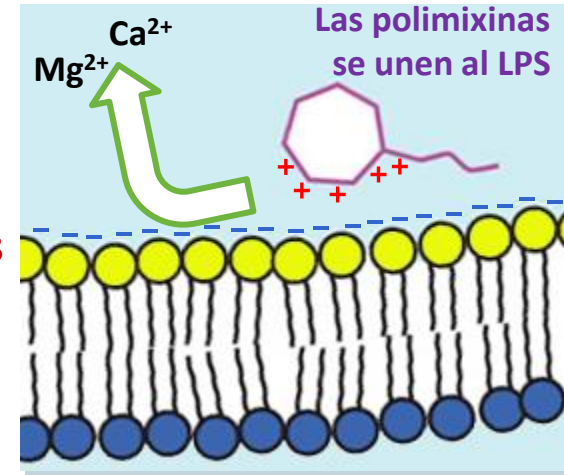
Las polimixinas son péptidos policatiónicos anfipáticos cíclicos con una cadena lateral alifática corta

R: D-Phe en polimixina B, D-Leu en colistin
Dab: ácido L-diaminobutírico

El lipopolisacárido (LPS), que constituye hasta el 70% de la capa externa de la membrana externa, consiste en el **lípidio A** unido a una cadena de glucanos de longitud y composición variables

Polimixinas: modo de acción





Interacción electrostática → **desplazamiento de cationes divalentes**

(que generalmente sirven como un puente entre las moléculas de LPS adyacentes para estabilizar la monocapa)

Vía de la lisis de la membrana

Aumento de la permeabilidad de la envoltura celular



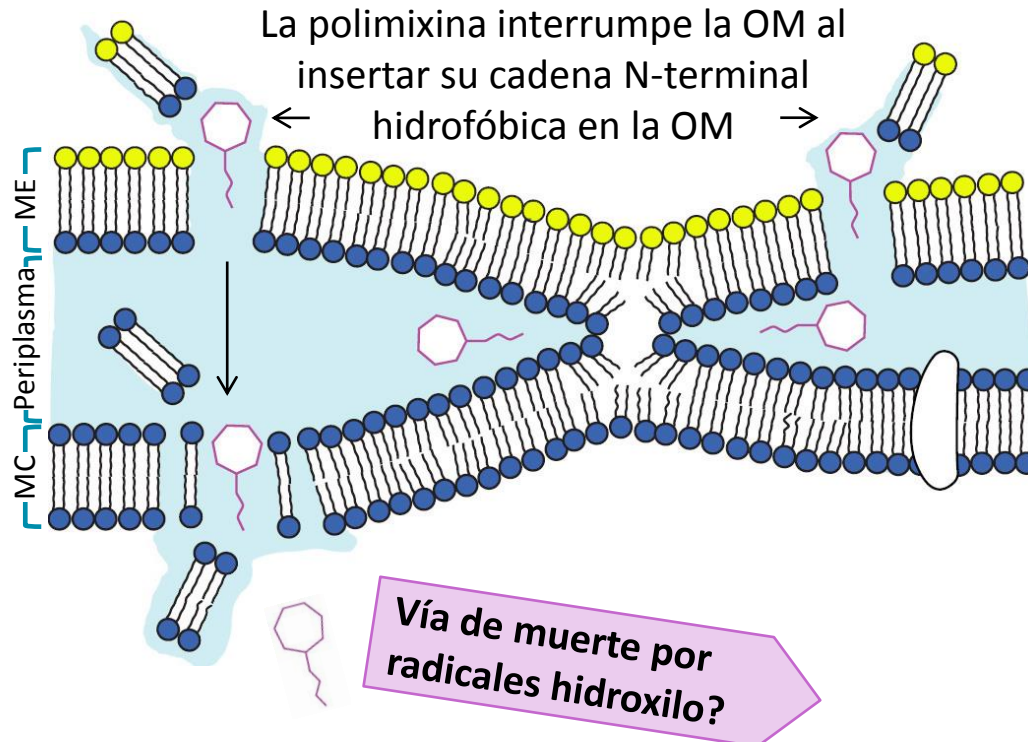
Desorganización de la membrana



Filtración del contenido celular



MUERTE



La polimixina interrumpe la OM al insertar su cadena N-terminal hidrofóbica en la OM

Vía por contacto vesícula-vesícula

Inducción de intercambio de lípidos entre MC y ME



Pérdida de especificidad en la composición de los fosfolípidos



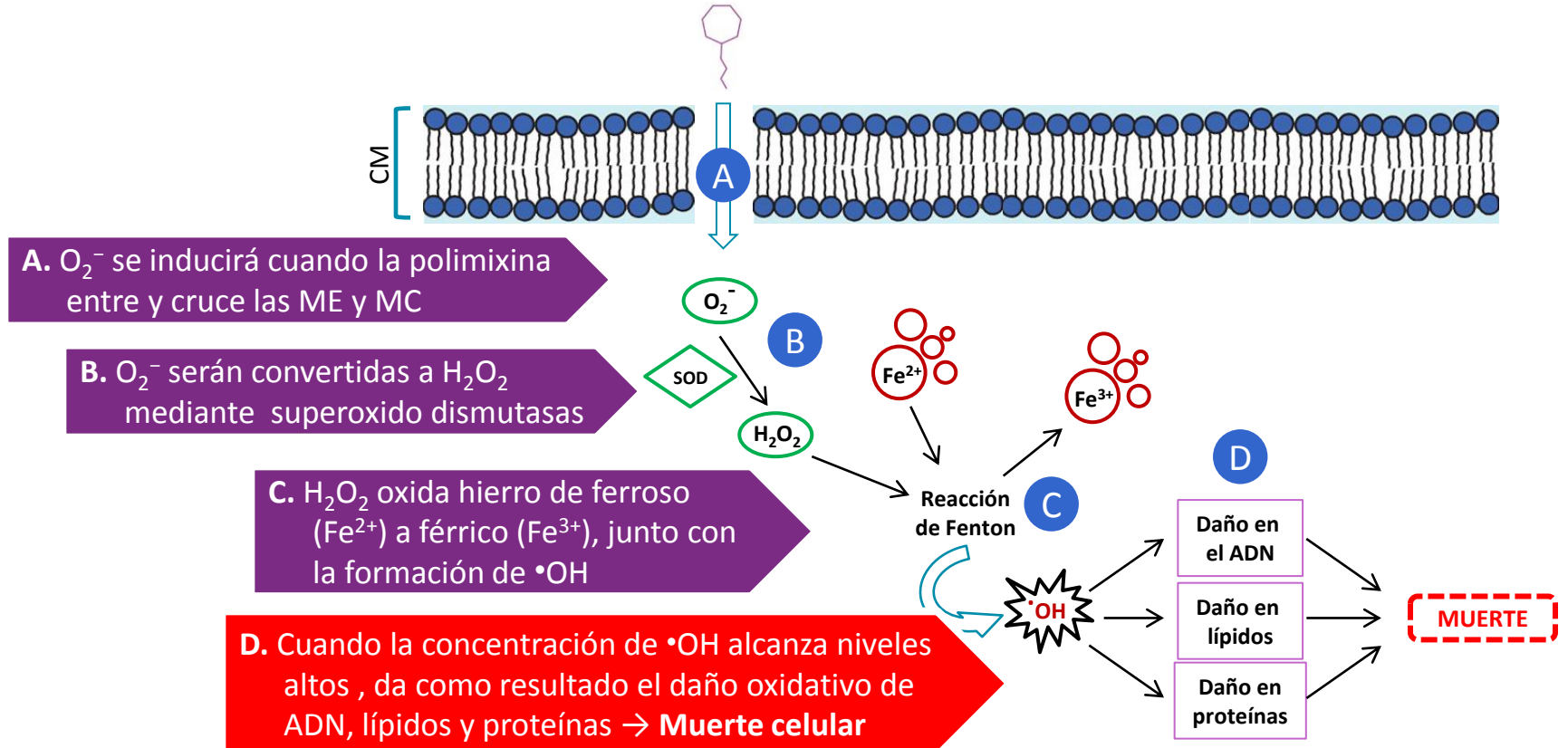
Desbalance osmótico



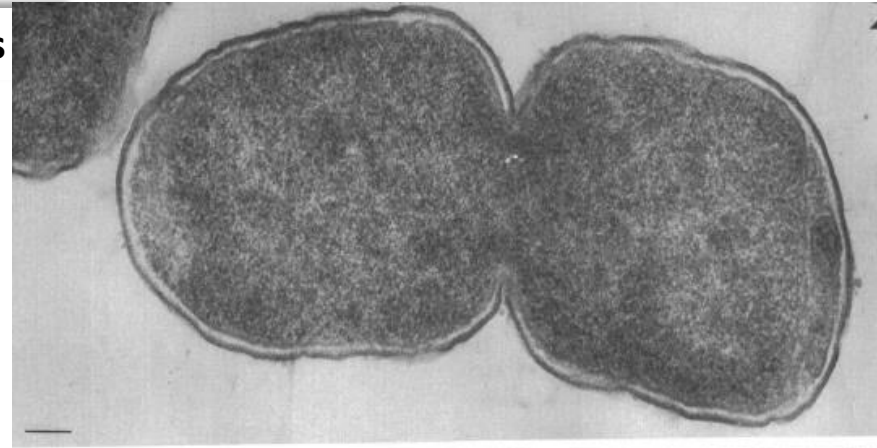
MUERTE

Vía de muerte por radicales hidroxilo

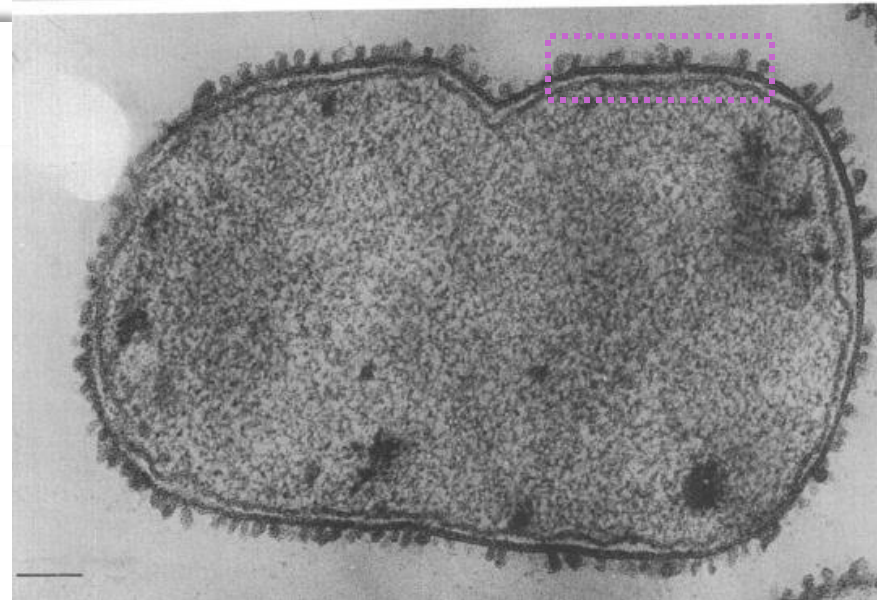
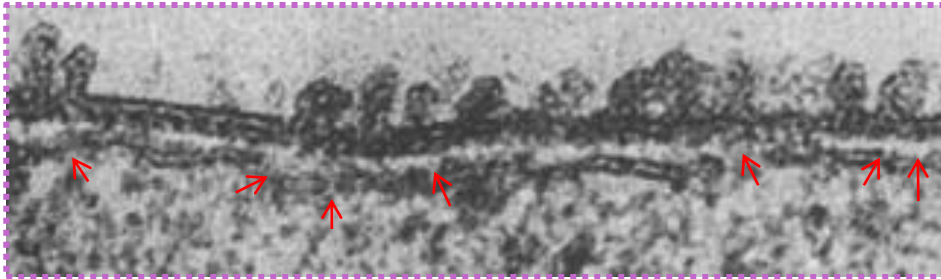
La polimixina induciría la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), incluyendo superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y radicales hidroxilo ($\cdot OH$) en BGN



E. coli no tratadas



Célula tratada con 25 µg/ml de polimixina B por 30 min

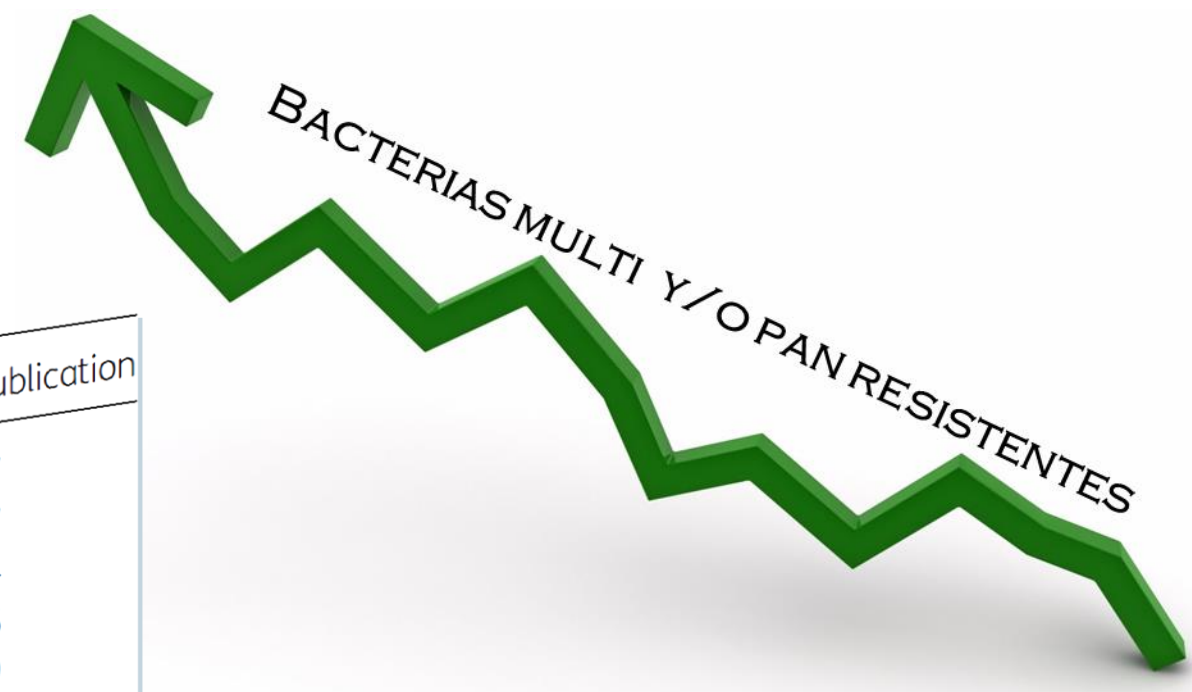


J Bacteriol **97**:448-52 (1969)

La MC parece estar dañada, y parte del material citoplasmático se libera en formas fibrosas a través de las grietas

¿Por qué estamos hablando de colistin?

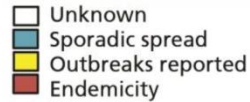
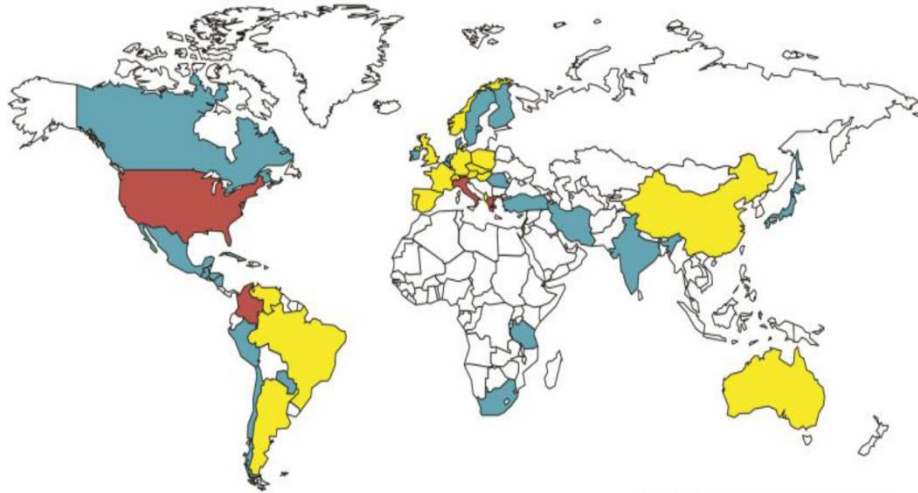




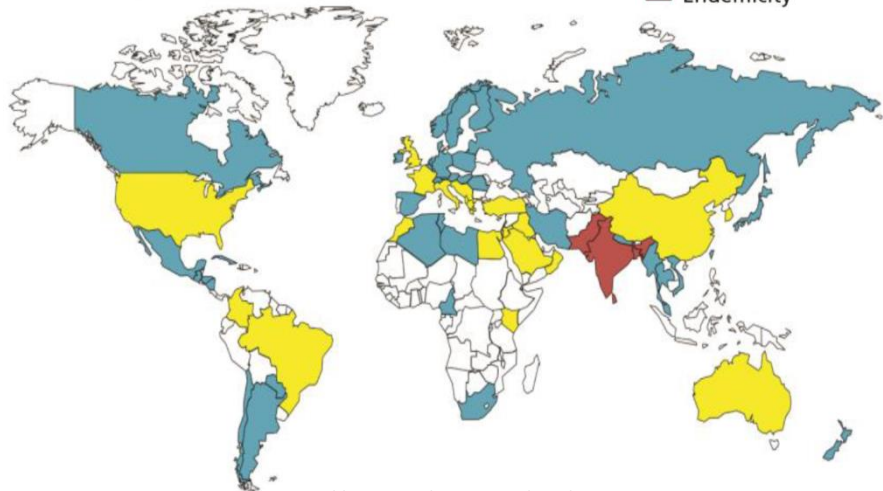
Antibiotic	Year of first publication
Colistin	1947
Chloramphenicol	1947
Nitrofurantoin	1954
Minocycline	1966
Fosfomicin trometamol	1969
Mecillinam	1975
Temocillin	1981



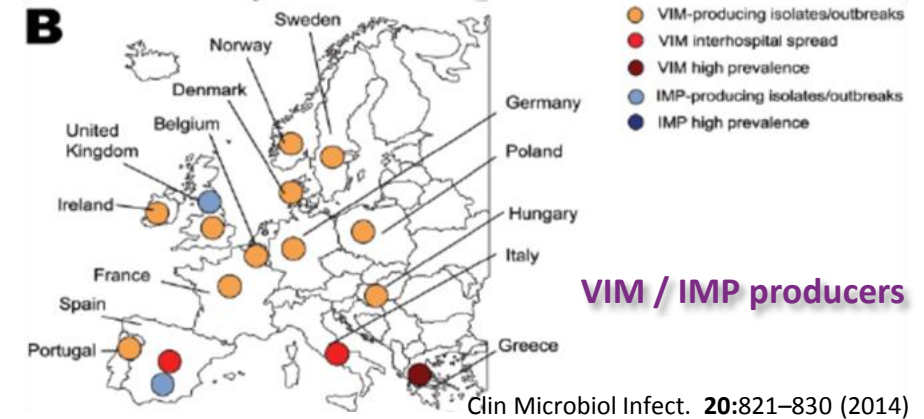
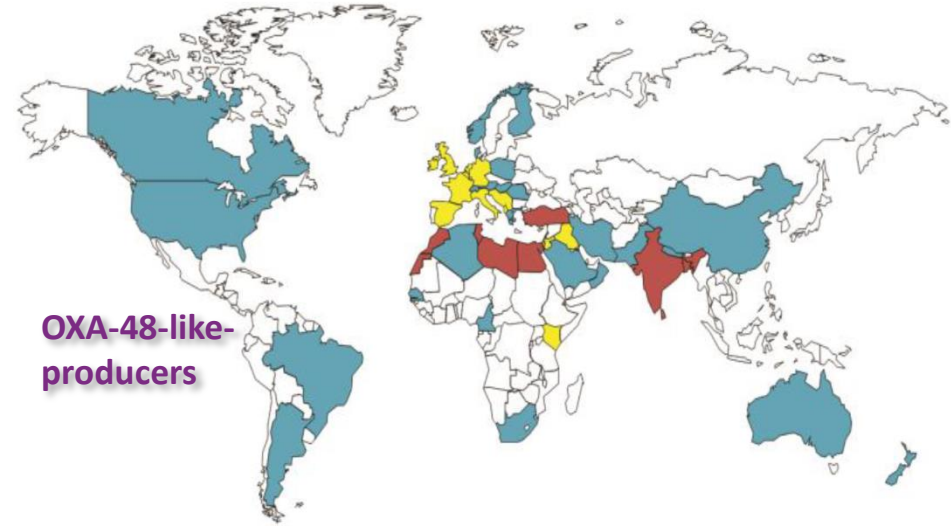
KPC-producers



NDM-producers



OXA-48-like-producers



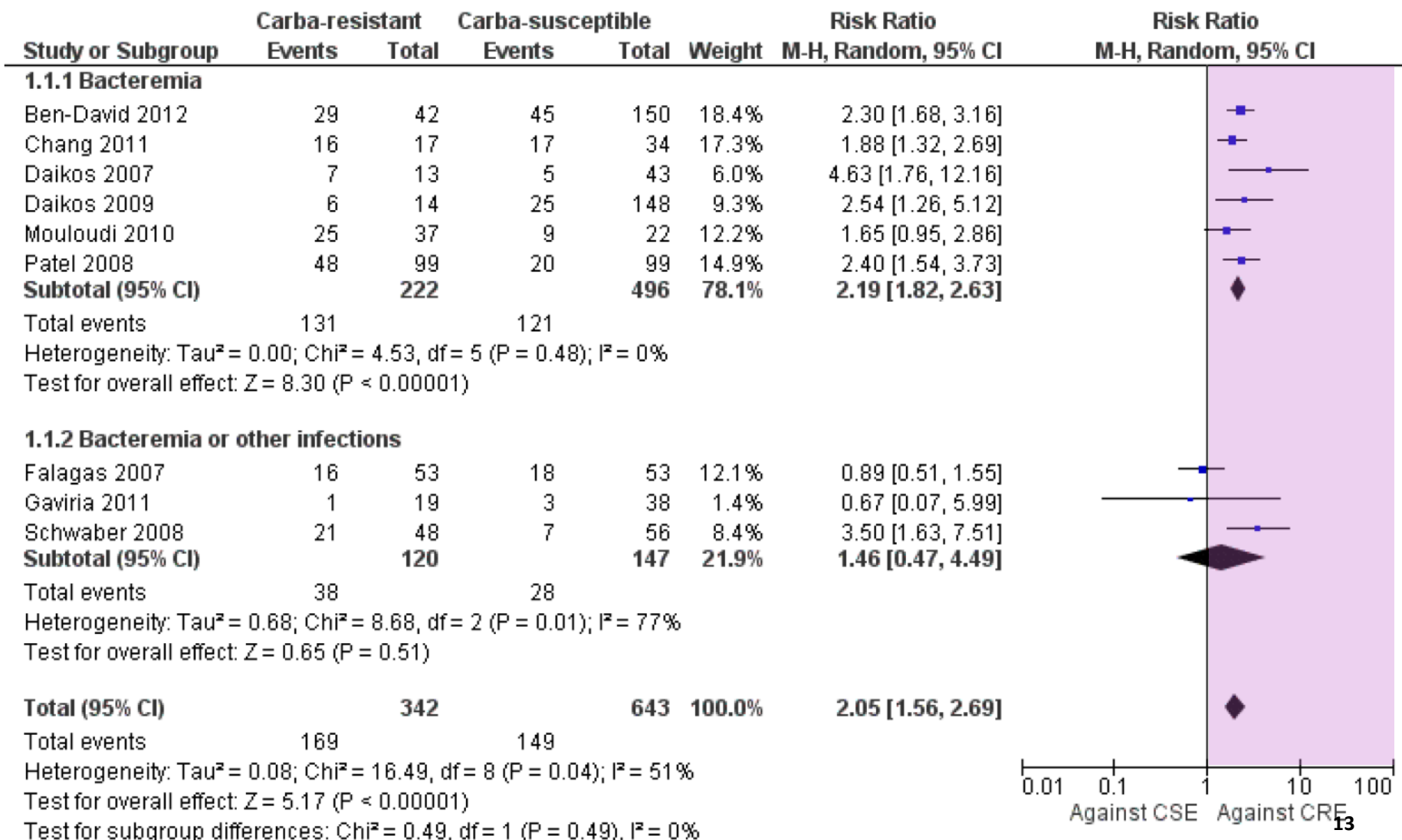
VIM / IMP producers

Clin Microbiol Infect. 20:821–830 (2014)

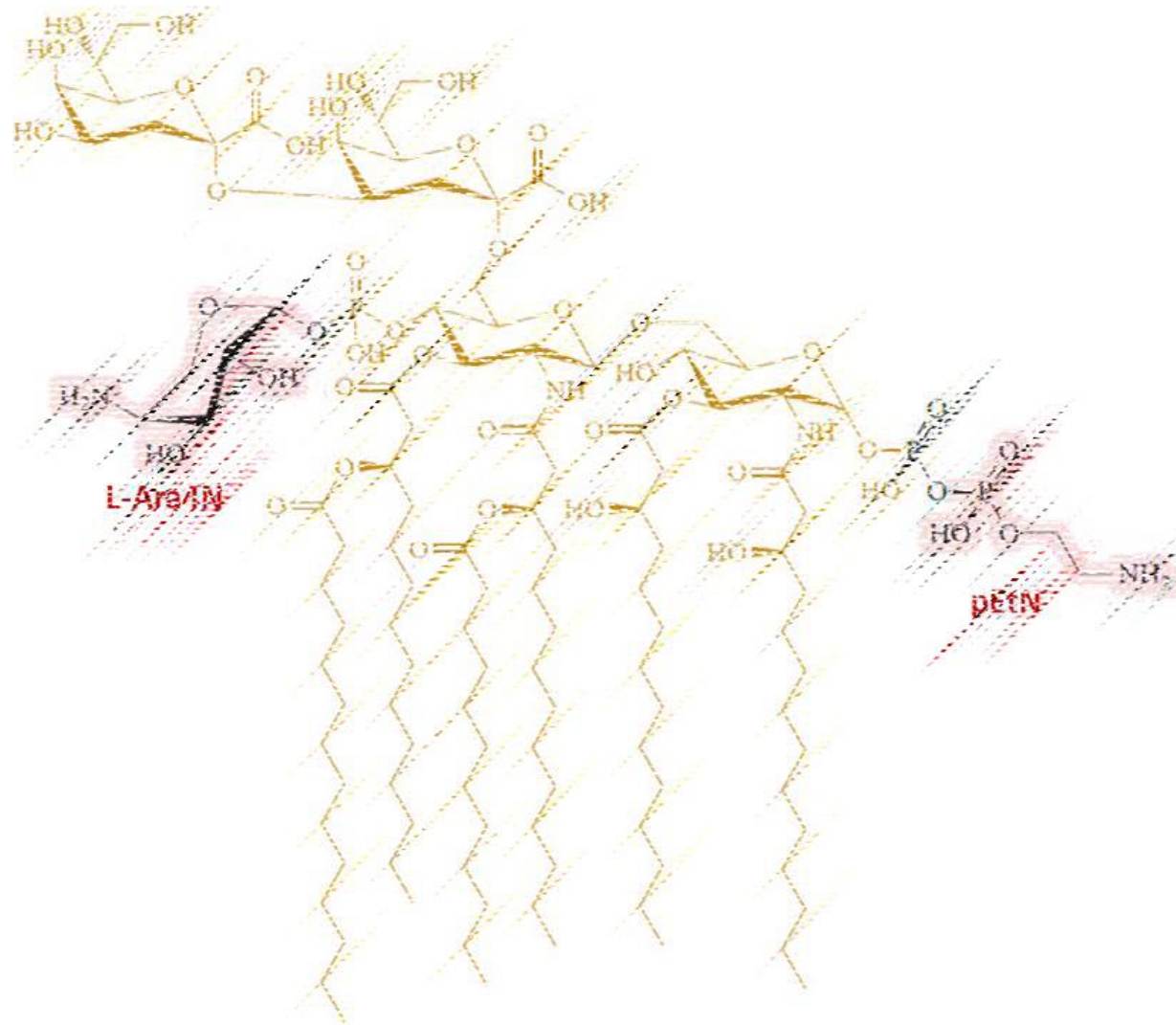
Perfil de sensibilidad de una *K. pneumoniae* pan-resistente

Antimicrobial Category	Antimicrobial Agent	MIC (mg/L)	EUCAST Interpretation	Genes previously associated with resistance [†]
Aminoglycosides	Gentamicin	>256	R	<i>rmtF, aac(6')-Ib-cr</i>
	Tobramycin	>256	R	
	Amikacin	>256	R	
	Netilmicin	>256	R	
AntiMRSA Cephalosporins	Ceftaroline	>32	R	<i>bla_{OXA-181}, bla_{CTX-M-15}</i>
Antipseudomonal Penicillins and Beta-lactamase Inhibitors	Ticarcillin/Clavulanate	>256	R	<i>bla_{OXA-181}</i>
	Piperacillin/Tazobactam	>256	R	
Carbapenems	Ertapenem	>32	R	<i>bla_{OXA-181}, ompK36 (ins aa135-136DT)</i>
	Imipenem	4	NS	
	Meropenem	8	R	
	Doripenem	4	R	
Non-extended Spectrum Cephalosporins	Cefazolin [*]	>32	R	<i>bla_{CTX-M-15}</i>
	Cefuroxime	>256	R	
Extended Spectrum Cephalosporins	Ceftriaxone, Cefotaxime	>32	R	<i>bla_{CTX-M-15}</i>
	Ceftazidime	32	R	
	Cefepime	32	R	
Cephameycins	Cefoxitin [*]	128	R	<i>bla_{OXA-181}</i>
	Cefotetan [*]	32	NS	
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	>32	R	<i>gyrA (Ser83Ile), parC (Ser80Ile), qnrB ompK35 inactivation</i>
Folate-pathway Inhibitors	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	8	R	<i>dfrA12, dfrA14[‡]</i>
Glycylcyclines	Tigecycline	4	R	<i>acrAB[‡]</i>
Monobactams	Aztreonam	32	R	<i>bla_{OXA-181}, bla_{CTX-M-15}</i>
Penicillins	Ampicillin	>256	R	<i>bla_{SHV-36}</i>
Penicillins and Beta-lactamase Inhibitors	Amoxicillin/Clavulanate	>256	R	<i>bla_{OXA-181}</i>
	Ampicillin/Sulbactam	>256	R	
Phenicols	Chloramphenicol	128	R	<i>catB1, ompK35 inactivation,</i>
Phosphonic acids	Fosfomicin	64	R	<i>fosA,</i>
Polymyxins	Colistin	128	R	<i>mgrB inactivation</i>
Tetracyclines	Tetracycline [*]	32	R	<i>acrAB[‡], ompK35 inactivation, tetC</i>
	Doxycycline [*]	32	R	
	Minocycline [*]	32	R	

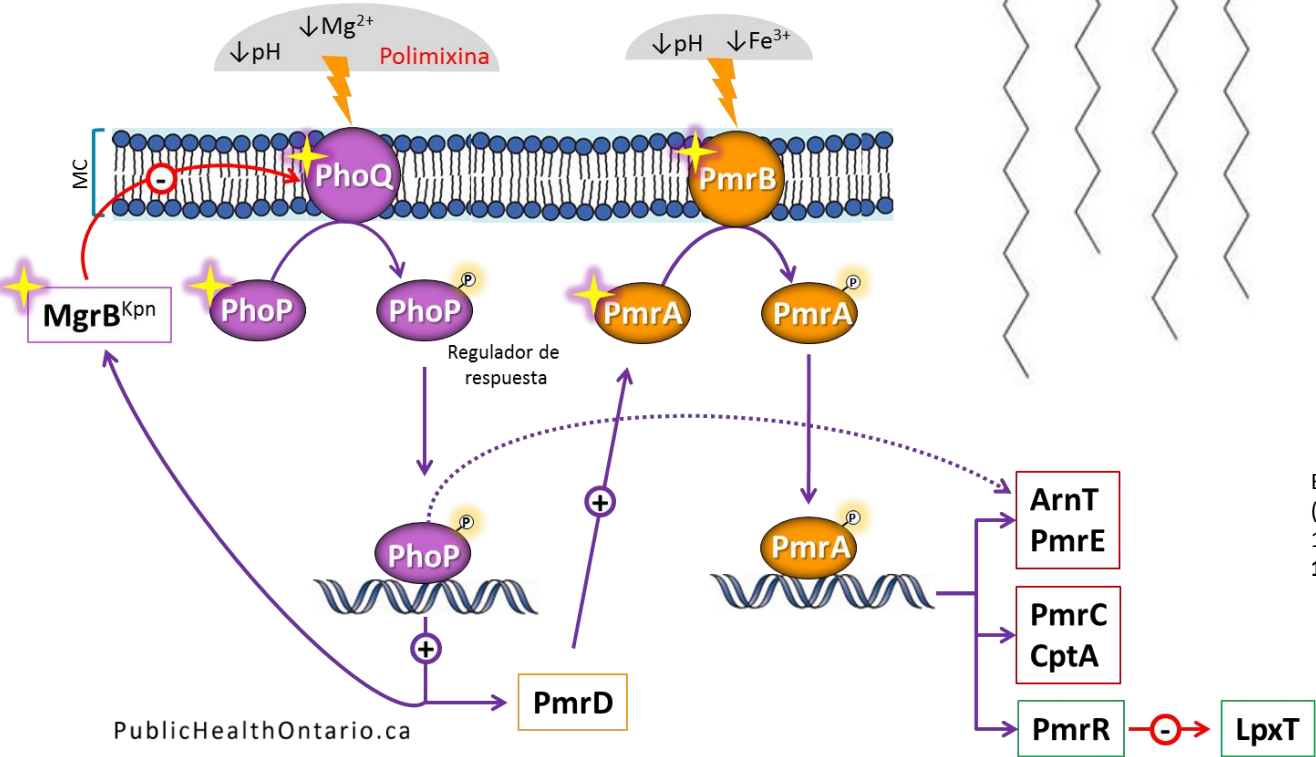
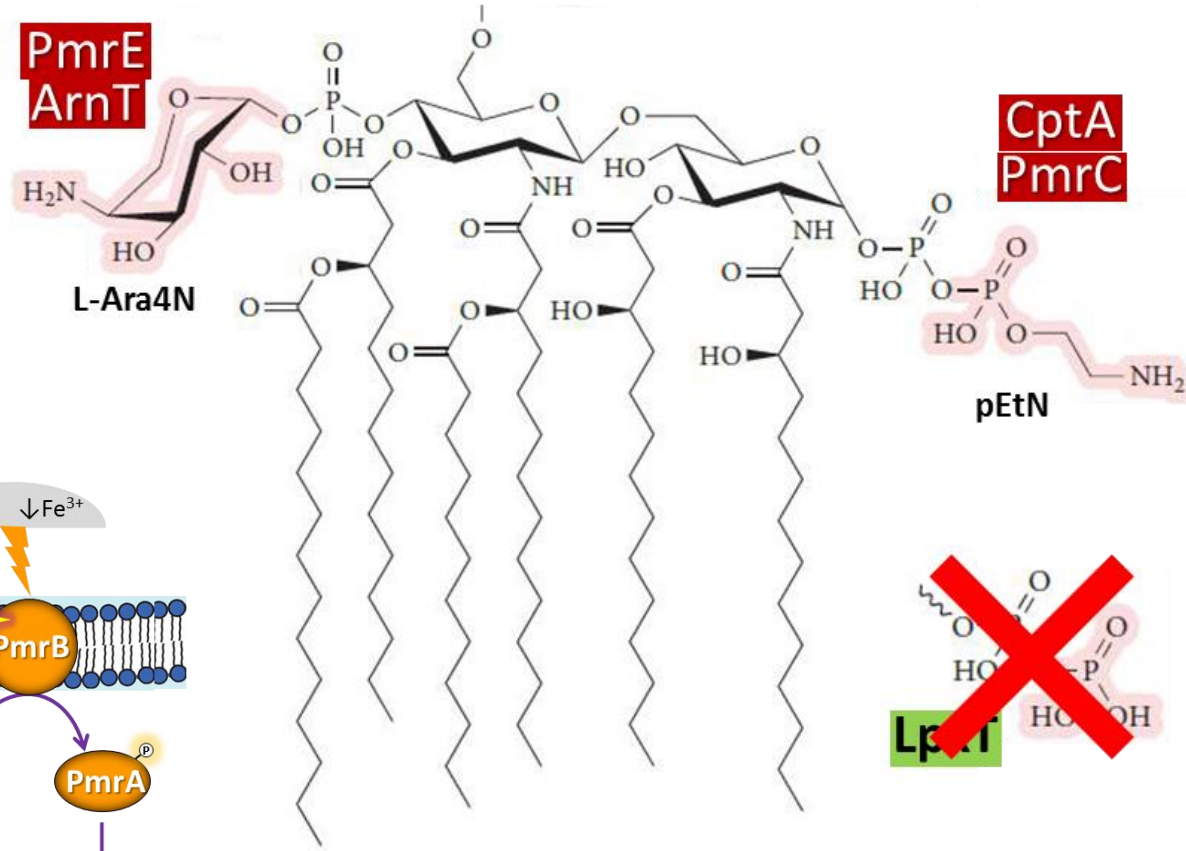
Riesgo de muerte para pacientes infectados con CRE vs. CSE



Mecanismos de resistencia a polimixinas



Resistencia cromosómica

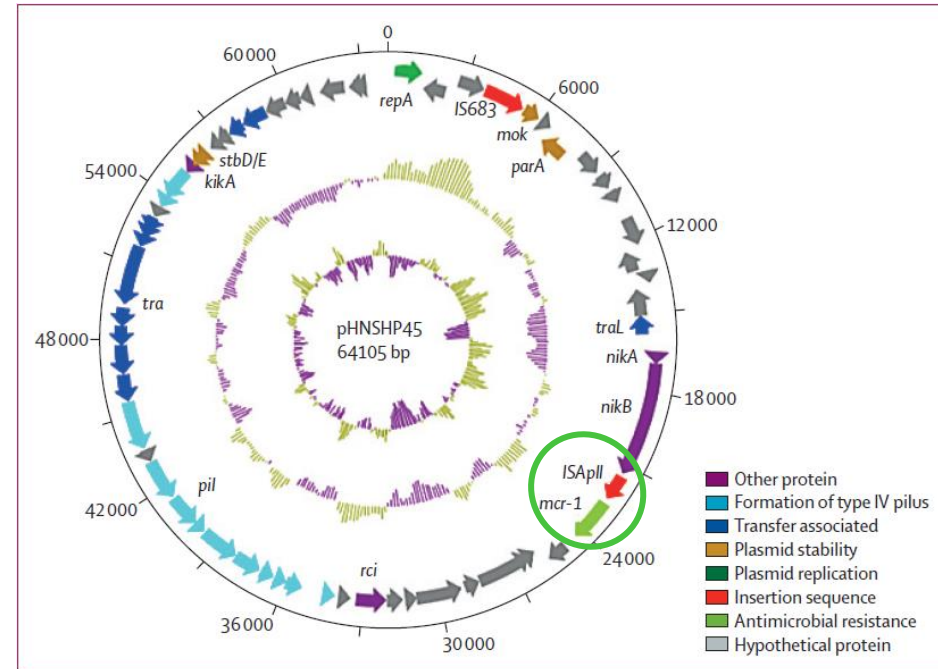
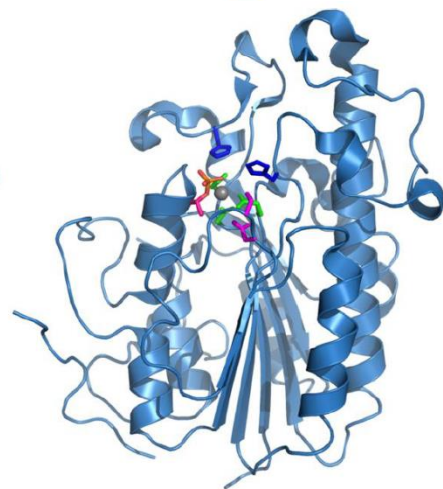
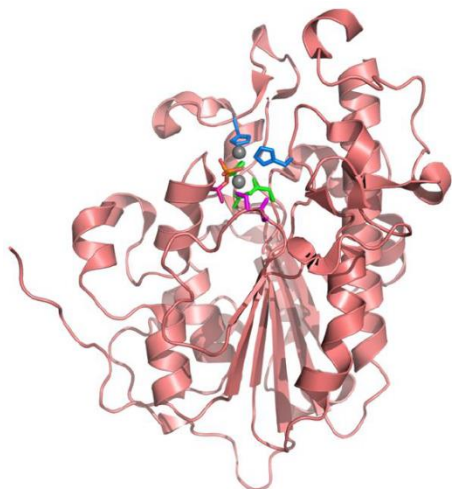
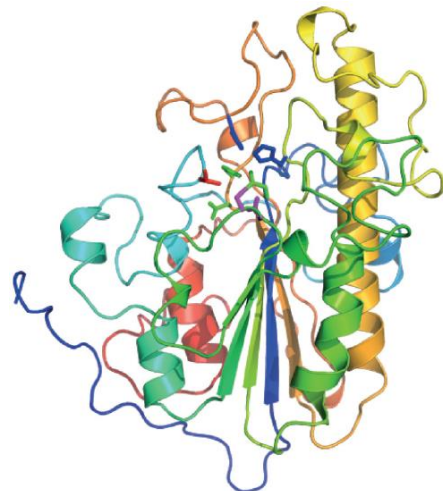


Biomed Res Int. 2015;679109. doi: 10.1155/2015/679109 (2015); Front Microbiol. 5:643. doi: 10.3389/fmicb.2014.00643 (2014); Nat Rev Microbiol. 11(7):467-81. doi: 10.1038/nrmicro3047 (2013)

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study

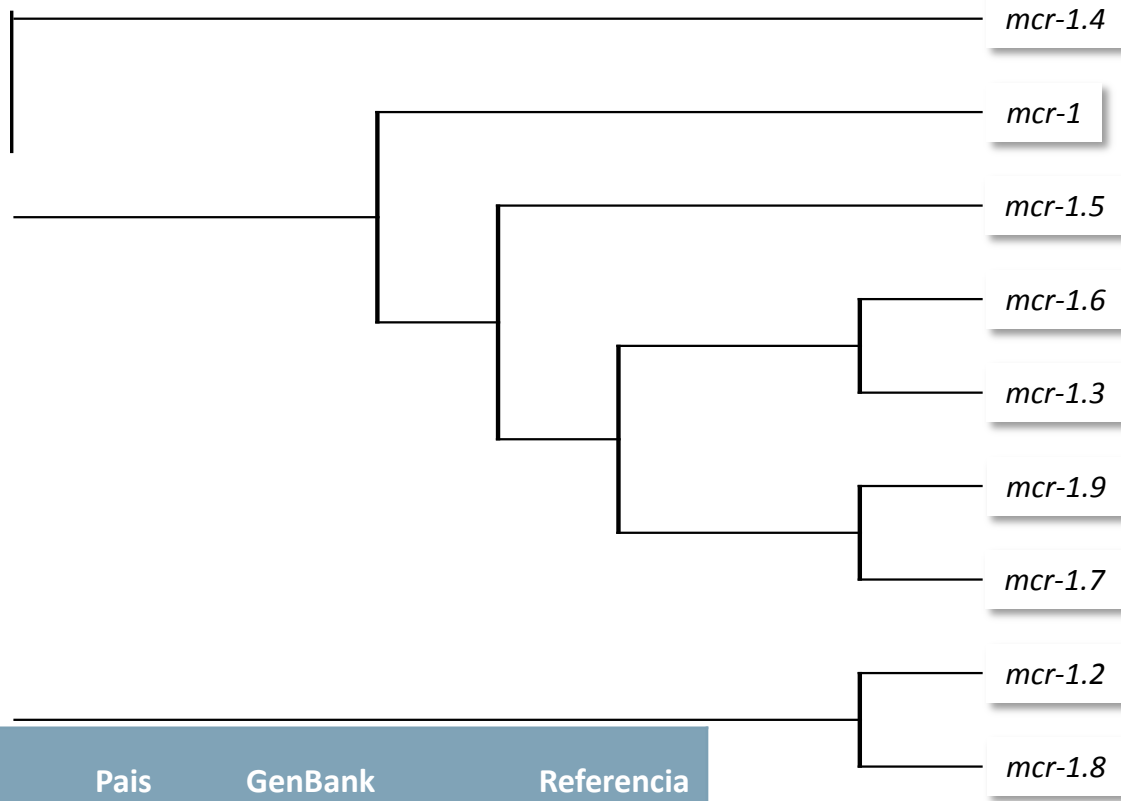
Yi-Yun Liu*, Yang Wang*, Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spencer, Yohei Doi, Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang, Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv, Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu, Jianzhong Shen

MCR-1 se alineó estrechamente con pEtN-transferasas encontradas en *Paenibacillus sophorae*, *Enhydrobacter aerosaccus*, *Moraxella catarrhalis* y *Dichelobacter nodosus* (54 a 63% de identidad)



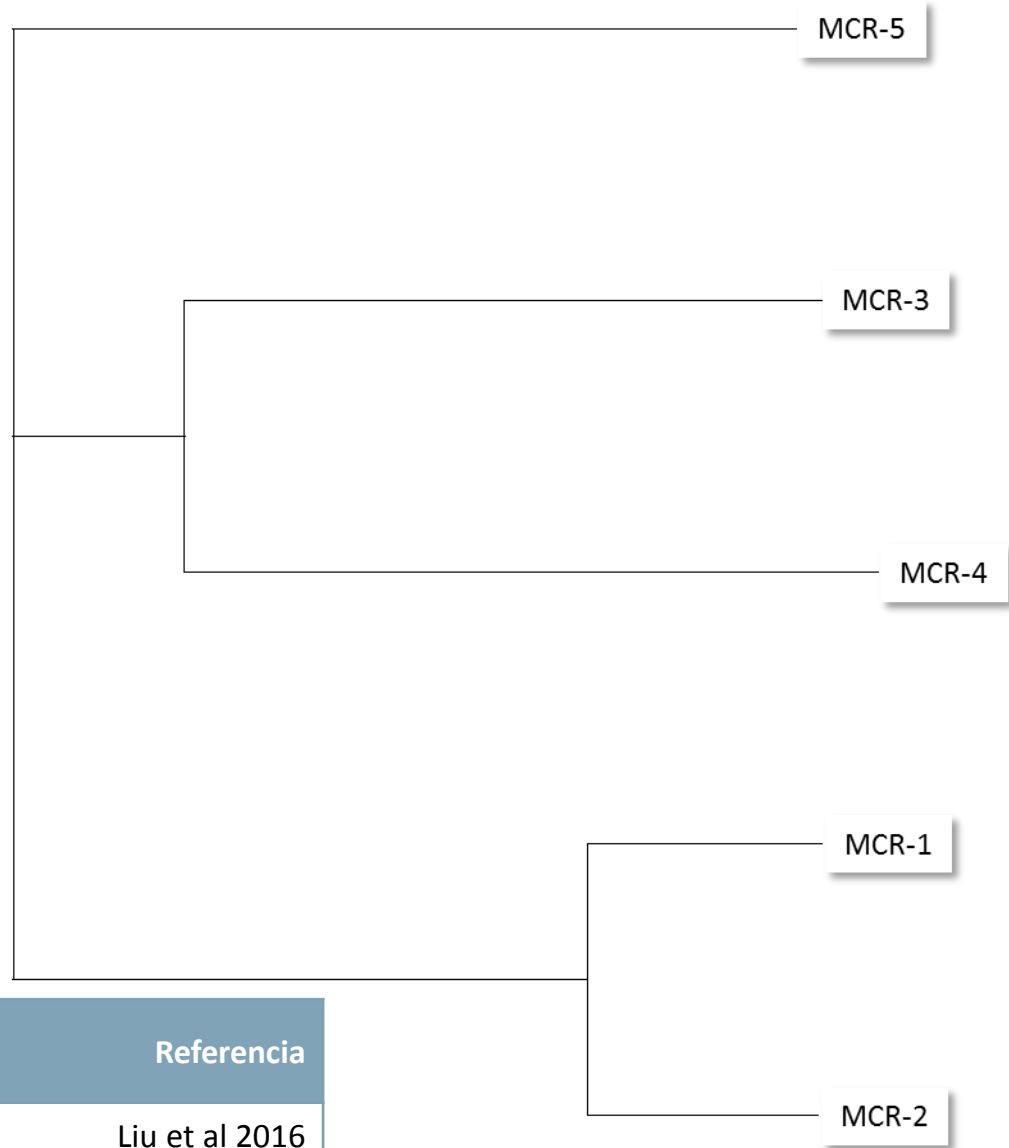
pHNSHP45 (IncI2, 64,105 bp) *E. coli* SHP45
***mcr-1* → 1,626-pb, localizado en cercanía de una IS (GenBank KP347127)**

Variantes del gen *mcr-1*



Variante	Aminoácido	Especie	Pais	GenBank	Referencia
<i>mcr-1</i>	-	<i>E. coli</i>	China	KP347127	Liu et al 2016
<i>mcr-1.2</i>	Q3L	<i>K. pneumoniae</i>	Italy	KX236309	Di Pilato et al 2016
<i>mcr-1.3</i>	I38V	<i>E. coli</i>	China	KU934208	Yang et al 2017
<i>mcr-1.4</i>	D440N	<i>E. coli</i>	China	KY041856	No publicado
<i>mcr-1.5</i>	H452Y	<i>E. coli</i>	Argentina	KY283125	Tijet et al 2017
<i>mcr-1.6</i>	R536H	<i>S. enterica</i>	China	KY352406	Lu et al 2017
<i>mcr-1.7</i>	A215T	<i>E. coli</i>	China	KY488488	No publicado
<i>mcr-1.8</i>	Q3R	<i>E. coli</i>	Brunei	KY683842	No publicado
<i>mcr-1.9</i>	V413A	<i>E. coli</i>	Portugal	NG_055582	No publicado

Alelos del gen *mcr*

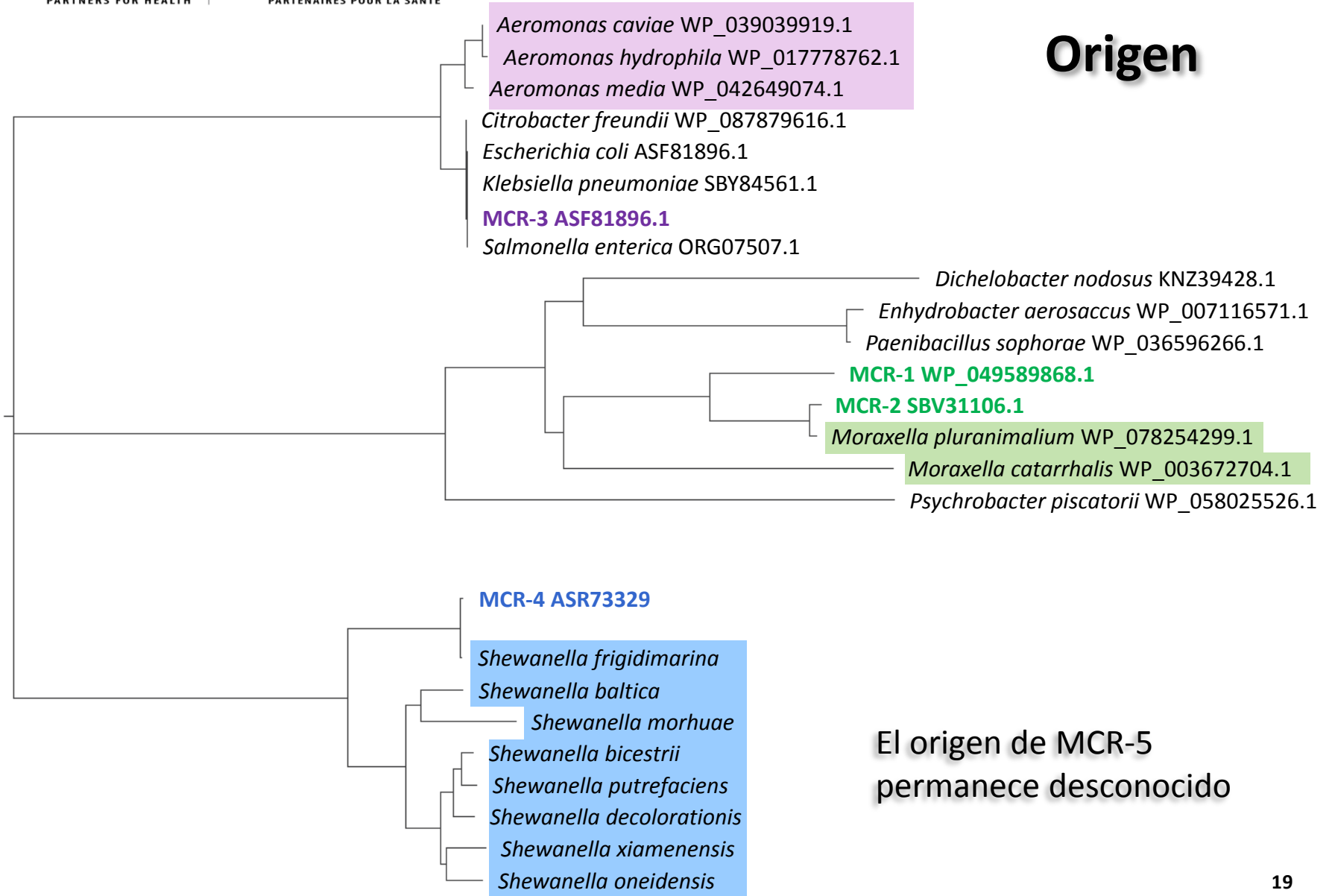


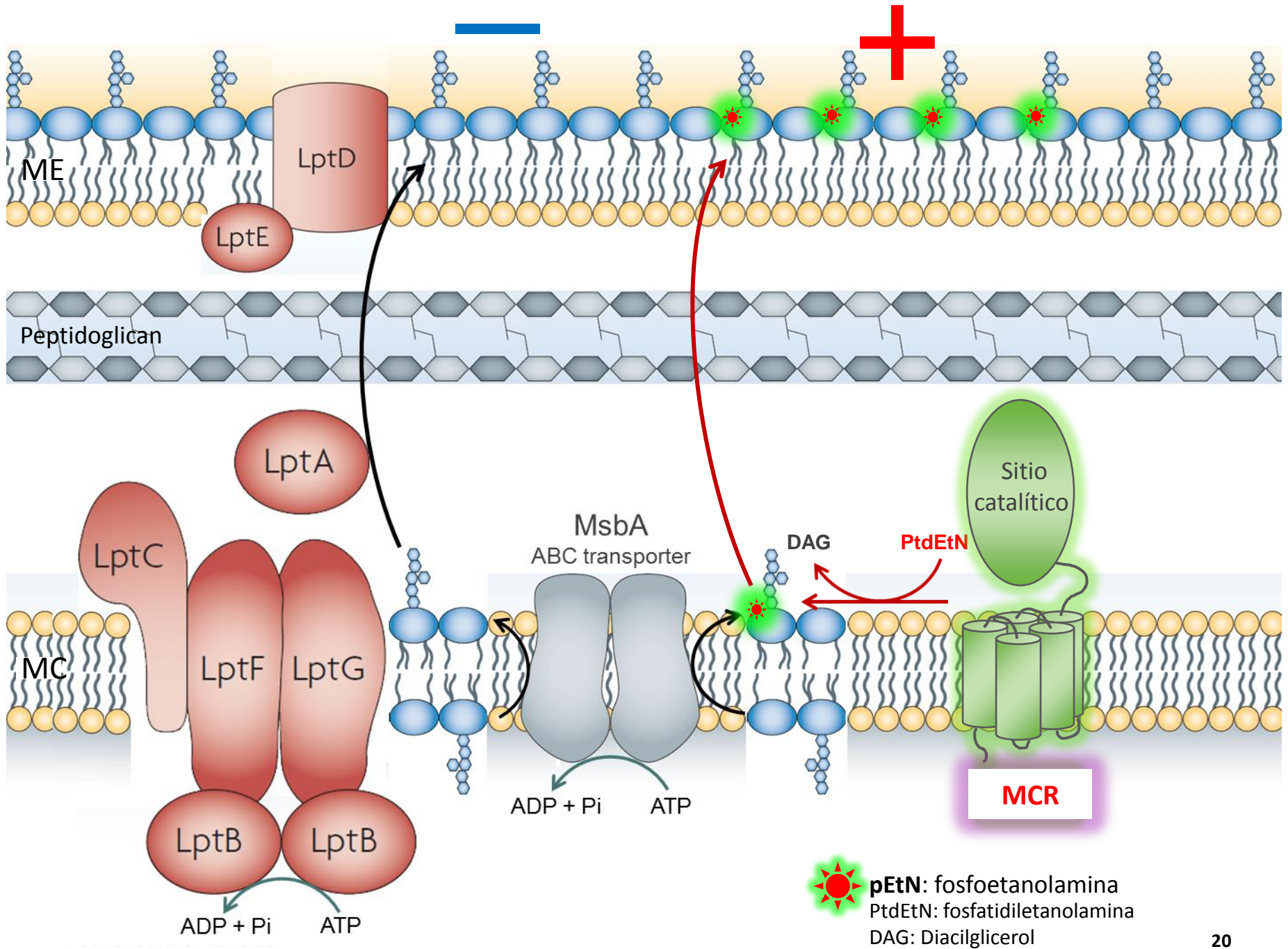
	MCR-3	MCR-4	MCR-5	MCR-1	MCR-2
MCR-3	100	-	-	-	-
MCR-4	45.62	100	-	-	-
MCR-5	34.72	33.71	100	-	-
MCR-1	34.30	31.61	36.11	100	-
MCR-2	34.62	32.50	35.29	81.23	100

Variante	Especie	Pais	GenBank	Referencia
<i>mcr-1</i>	<i>E. coli</i>	China	KP347127	Liu et al 2016
<i>mcr-2</i>	<i>E. coli</i>	Bélgica	NG_051171	Xavier et al 2016
<i>mcr-3</i>	<i>E. coli</i>	China	KY924928	Yin et al 2017
<i>mcr-4</i>	<i>S. enterica</i>	Italia	MF543359	Carattoli et al 2017
<i>mcr-5</i>	<i>S. enterica</i>	Alemania	NG_055658	Borowiak et al 2017

Xavier et al. 2016. Euro Surveill. **21(27)**:pii=30280; Yin et al. 2017. mBio **8**:e00543-17; Carattoli et al 2017. Euro Surveill. **22(31)**:pii=30589; Borowiak et al 2017. J Antimicrob Chemother. doi: 10.1093/jac/dkx327

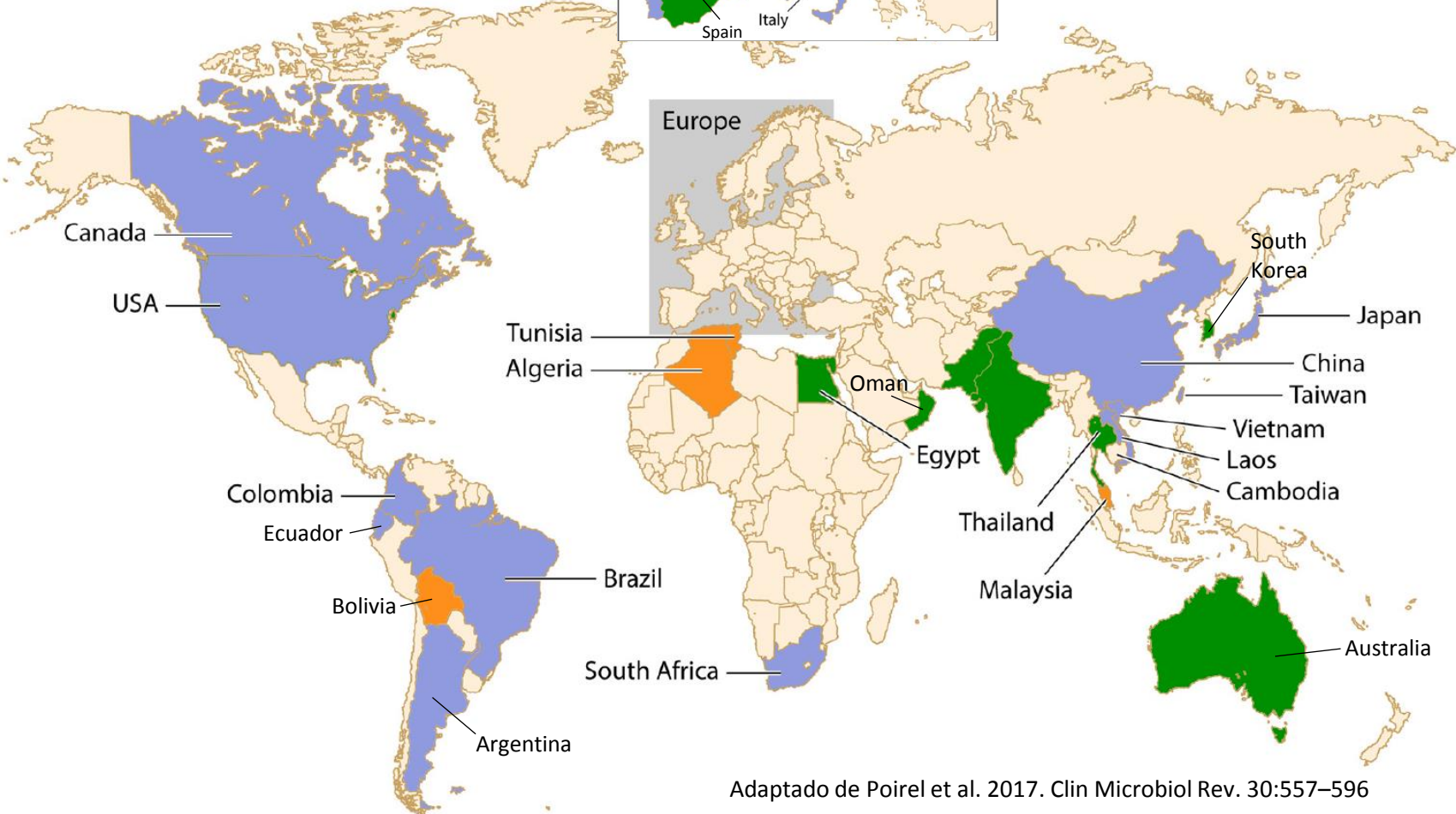
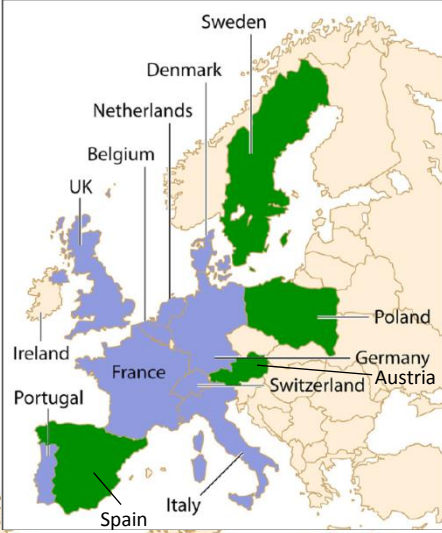
Origen



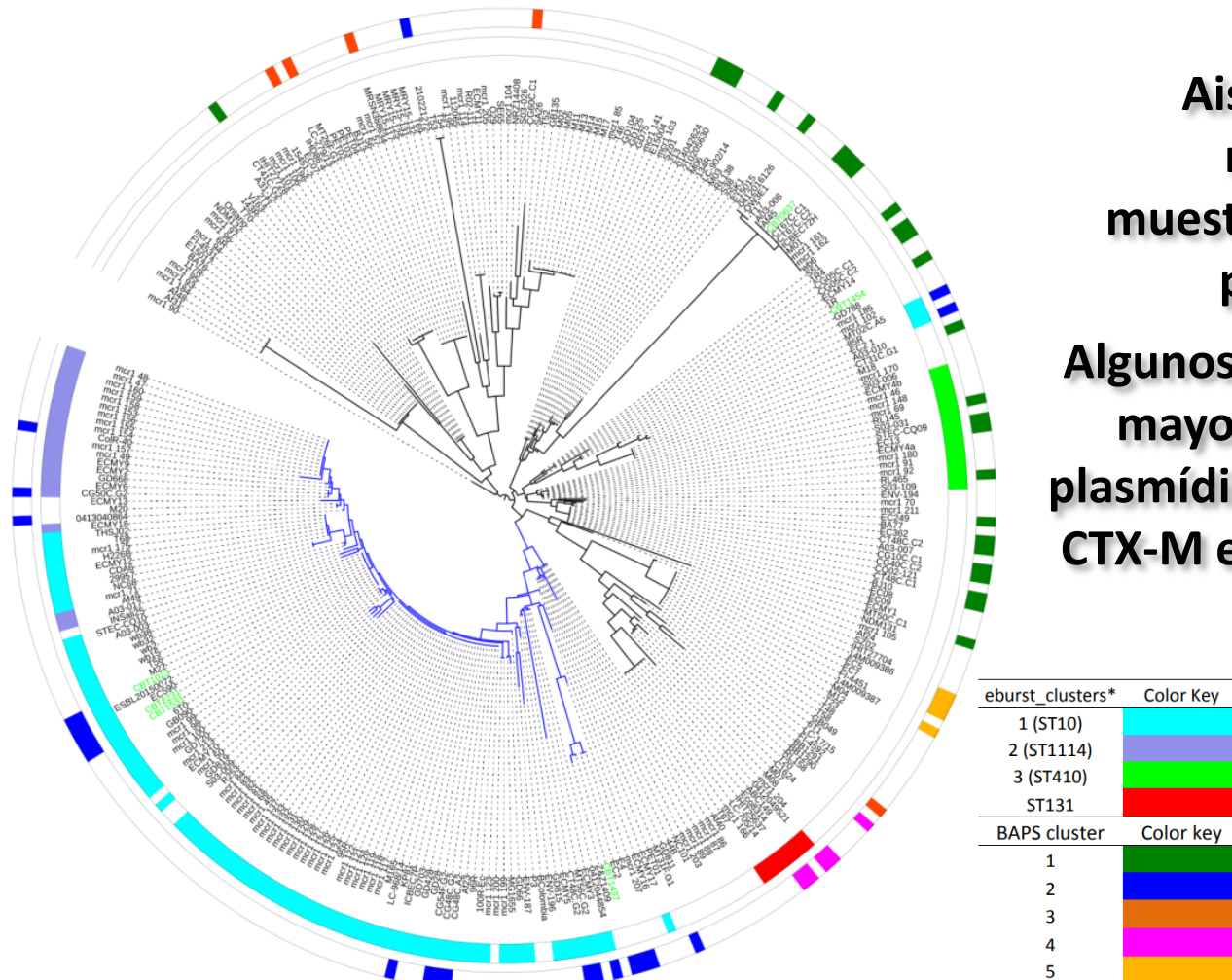


- Reports of MCR-1-producing isolates in humans
- Reports of MCR-1-producing isolates in animals
- Reports of MCR-1-producing isolates in both humans and animals

Distribución geográfica del gen *mcr-1*
(actualizado a Nov 2017)



Filogenia de 312 *E. coli* portadores de *mcr-1*



Aislamientos de *E. coli* ST10 se recuperan con frecuencia de muestras intestinales de animales para alimento y de humanos

Algunos estudios han mostrado una mayor prevalencia de genes AMR plasmídicos en ST10, incluidos genes CTX-M en comparación con otros ST

Grupos de incompatibilidad de plásmidos portadores de *mcr-1* y su distribución por regiones geográficas

	IncF	IncFI	IncFIB	IncFII	IncHI1	IncHI1A/ IncHI1B/ IncFIA	IncHI2	IncI2	IncI2/ IncX4	IncP	IncX3/ IncX4	IncX4	IncY	repB (p0111)	Total plasmids		Chromosome
Africa	0	0	1	0	0	0	4	8	0	0	0	1	0	0	14	6.4%	0
Asia	1	3	0	0	0	2	7	50	0	1	1	29	2	0	96	43.8%	2
Europe	0	0	2	1	1	0	33	5	0	3	0	44	0	1	90	41.1%	4
North-America	1	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	1	0	0	7	3.2%	0
Oceania	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0.9%	0
South-America	0	0	0	0	0	0	0	7	1	0	0	2	0	0	10	4.6%	0
Total (% of total)	2 (0.9)	3 (1.4)	3 (1.4)	1 (0.5)	1 (0.5)	2 (0.9)	45 (20.5)	76 (34.7)	1 (0.5)	4 (1.8)	1 (0.5)	77 (35.2)	2 (0.9)	1 (0.5)	219 (100)	100.0%	6



En resumen...

- Si bien posee alta toxicidad y su dosificación no es óptima, colistin es una de las últimas opciones para el tratamiento de bacterias Gram-negativas multi-resistentes
- La aparición de MCR en enterobacterias es preocupante (diseminación horizontal de la resistencia)
- Prevenir la propagación de colistin^R en Enterobacterias:
 - Minimizar el uso de colistin en humanos y alimentos
 - Vigilar su distribución y diseminación a través de pruebas de detección y prácticas agresivas de control de infecciones



