

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

**Departament de Genètica i Microbiologia**

**Unitat Docent de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau**

**MECANISMES DE RESISTÈNCIA ALS  
β-LACTÀMICS EN  
ENTEROBACTERIS, 1994-1996**

**Tesi doctoral**

**Montserrat Sabaté i Pina**

**Barcelona, 2001**

“The history of the medicine”

- 2000 B.C.- Here, eat this root.
- 1000 A.C., That root is heathen. Here, say this prayer.
- 1850 A.D.- That prayer is superstition. Here, swallow this poison.
- 1920 A.D.- That potion is snake oil. Here, swallow this pill.
- 1945 A.D.- That pill is ineffective. Here, take this penicillin.
- 1955 A.D.- Oops..bugs mutated. Here, take this tetracycline.
- 1960-2000- 39 more “oops”... Here, take this more powerful antibiotic.
- 2001 A.D.- The bugs have won! Here, eat this root.

Anonymous

## ABREVIATURES

A	Adenina
BLEA	-Lactamasa d'espectre ampliat
C	Citosina
C3G	Cefalosporina de tercera generació
CAI	<i>Coding adaptation index</i>
CIM	Concentració inhibidòria mínima
G	Guanina
IEF	Isoelectroenfocament
In	Integró
IR	Repetició invertida
IS	Seqüència d'inserció
Kb	Kilobases
kDa	Kilodaltons
LPS	Lipopolisacàrid
orf	<i>Open reading frame</i>
pb	Parells de bases
PCR	Reacció en cadena de la polimerasa
PFGE	Electroforesi en camp pulsatiu
pI	Punt isoelèctric
T	Timina
Tnp	Transposó
TnpA	Transposasa

## AGRAÏMENTS

Al doctor Prats, cap del Servei de Microbiologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i tutor d'aquesta tesi, per mostrar-me el món de la investigació i per transmetre'm els seus coneixements i les seves inquietuds científiques, així com pels seus consells i les seves crítiques constructives, que han estat un estímul al llarg d'aquests anys.

Al doctor Ferran Navarro, director d'aquesta tesi, pel suport, pels consells i la confiança dipositada en mi que han permès la realització d'aquest treball.

Al doctor Jordi Barbé, per la seva col·laboració, els seus consells i les seves suggerències que han contribuït a enriquir aquest treball.

A la doctora Beatriz Mirellis i la doctora Elisenda Miró, membres del grup d'antibiòtics, pel seu suport, els consells i l'ajut rebut durant aquests anys.

A la Rox i la Clara, per a qui no tinc paraules suficients per mostrar-los el meu agraïment i la meva gran estimació. Simplement dir-vos moltes gràcies per tot, tant de bo en aquest món hi hagués unes poquetes persones més com vosaltres: segur que seria molt millor!

Als companys del laboratori, la Montse Español (gràcies per la teva ajuda incondicional en qualsevol moment, la teva paciència infinita i la teva valuosa companyia), a la Laura (per la seva empenta, la seva actitud sempre tan positiva i la seva tendresa), a la Paquita i l'Ester (pel seu grau de maduresa), a la Pilar, a la Jussara (*ai corasion*). A la Sílvia, l'Aurora i tota la gent del laboratori. A la Nuriet i a la Gemma dues grans amigues, que malgrat les dificultats que han tingut per trobar feina en aquest món tan difícil com és la biologia, poc a poc van trobant el seu petit foradet.

No voldria deixar d'esmentar també dues persones molt apreciades per mi i penso que per molta més gent, pel seu bon caràcter, la seva amabilitat i simpatia: el Cándido i el doctor Barrios.

A les de seros, perquè sense aquell preparatori que fan quan comencen a parlar de dinars, just en aquella hora tan crítica, no hagués estat possible anar a dinar amb tanta gana.

A la Roseta (la Carme), perquè tot i la distància mai et podràs desfer d'aquesta pesada. Moltes gràcies per donar-me ànims sempre i per sempre has estat allà quan t'he necessitat.

A la Glòria, una gran persona, carinyosa i autèntica a qui li desitjo molta sort en el seu futur negoci!

A la gent del quart pis de Microbiologia de Bellaterra, gràcies per fer tan agradable el meu pas pel vostre laboratori. Sempre que escolto Catalunya Ràdio i sobretot el programa *Alguna pregunta més* me'n recordo molt, de vosaltres!

A tots els amics de sempre: la Carmina, el Juanjo, l'Helena, el Miquel, la Lurdes, El Franc, la Mercè, la Rosa, la M<sup>a</sup>Fe, la Valle, la Carolina, el Tomás, la Pepi, la Marta B ..., als amics de la facultat: la Marta R, l'Eva, la Susana, la Mar, el Moisés, la Toñi, l'Ana, la Rosa ... i a tots els amics en general!

A la meva família, a la meva futura neboda (la Júlia) i no podria faltar-hi la *Nina* (la gosseta més carinyosa del món). Sense tots ells i la seva gran injecció de carinyo, això no hagués estat possible. Moltes gràcies!

<b>1. INTRODUCCIÓ</b> .....	1
<b>1.1. La família <i>enterobacteriaceae</i></b> .....	3
<b>1.2. Antibiótics <math>\beta</math>-lactàmics</b> .....	6
<b>1.2.1. Estructura i classificació dels <math>\beta</math>-lactàmics</b> .....	8
<b>1.2.2. Mecanisme d'acció dels antibiótics <math>\beta</math>-lactàmics</b> .....	11
<b>1.3. Resistència antimicrobiana</b> .....	13
<b>1.3.1. Mecanismes de resistència antimicrobiana</b> .....	13
<b>1.3.2. Resistència natural i resistència adquirida</b> .....	14
<b>1.4. Les <math>\beta</math>-lactamases</b> .....	15
<b>1.4.1. Origen de les <math>\beta</math>-lactamases</b> .....	15
<b>1.4.2. Mecanisme d'acció de les <math>\beta</math>-lactamases</b> .....	16
<b>1.4.3. Classificació de les <math>\beta</math>-lactamases</b> .....	17
<b>1.4.4. Distribució de les <math>\beta</math>-lactamases</b> .....	20
<b>1.4.4.1. <math>\beta</math>-Lactamases cromosòmiques</b> .....	20
<b>1.4.4.2. <math>\beta</math>-Lactamases plasmídiques</b> .....	22
I. -Lactamases d'ampli espectre (TEM, SHV, PSE, OXA).....	23
II. -Lactamases d'espectre ampliat (BLEA) (TEM, SHV, OXA, CTX-M).....	25
III. -Lactamases resistents als inhibidors (IRT).....	27
IV. -Lactamases plasmídiques AmpC.....	27
V. Carbapenemases plasmídiques.....	28
<b>1.5. Elements mòbils</b> .....	29
<b>1.5.1. Elements transposables: seqüències d'inserció, transposons compostos i transposons de la família Tn3</b> .....	29
<b>1.5.1.1. Seqüències d'inserció (IS)</b> .....	30
<b>1.5.1.2. Transposons (Tn)</b> .....	30
<b>1.5.2. Els integrons</b> .....	32
<b>1.5.2.1. Definició dels integrons</b> .....	32
<b>1.5.2.2. Estructura de l'<i>attI</i> i l'<i>attC</i></b> .....	36

1.5.2.3. Classificació dels integrons.....	38
1.5.2.4. Tipus de gens casset descrits.....	44
<b>2. OBJECTIUS.....</b>	<b>48</b>
<b>3. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....</b>	<b>49</b>
<b>3.1. Caracterització de les <math>\beta</math>-lactamases implicades en la disminució de la sensibilitat o resistència a les cefalosporines de tercera generació (C3G) en enterobacteris sense <math>\beta</math>-lactamasa cromosòmica induïble (articles I, II i IV).....</b>	<b>51</b>
<b>3.2. Caracterització d'una nova <math>\beta</math>-lactamasa d'espectre ampliat (article III).....</b>	<b>56</b>
<b>3.3. Estudi de l'entorn genètic del gen codificador de la <math>\beta</math>-lactamasa CTX-M-9 (article V).....</b>	<b>63</b>
3.3.1. Caracterització de l'entorn genètic de <i>bla</i> <sub>CTX-M-9</sub> .....	63
3.3.2. Comparació amb els integrons compostos .....	67
3.3.3. L'integró In60 i la seva dispersió.....	69
<b>4. CONCLUSIONS.....</b>	<b>73</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>77</b>
<b>6. ARTICLES I-V.....</b>	<b>93</b>