

# Resistencia bacteriana mediada por el gen *bla*<sub>KPC</sub> en *Klebsiella pneumoniae*

Pérez Moncada Valeria <sup>1</sup>, Escobar Pérez Javier Antonio <sup>2</sup>, Álvarez Aldana Adalucy <sup>3</sup>

## RESUMEN

*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria oportunista que produce infecciones hospitalarias causando altas tasas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, su tratamiento se ha visto limitado debido a la resistencia frente a diversos antibióticos incluyendo los de amplio espectro que son los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Con base en lo anterior el objetivo del presente trabajo es recopilar información sobre los elementos implicados en la resistencia bacteriana en *Klebsiella pneumoniae* y para ello se empleo la base de datos NCBI donde se encontraron artículos relevantes sobre los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, modo de acción, enzimas encargadas de hidrolizar estos antibióticos además de los genes involucrados en su expresión y los mecanismos involucrados en la movilización de genes y por tanto su relación en la diseminación entre bacterias.

**Palabras clave:** *Klebsiella pneumoniae*, resistencia, Beta-lactámicos, antibióticos.

1. Semillero Microorganismos de Importancia en Salud Humana y Animal “Obvio Microbio”. Programa de Microbiología. Universidad Libre Pereira. [valeria-perez@unilibre.edu.co](mailto:valeria-perez@unilibre.edu.co)
2. Director del laboratorio de Genética Molecular Bacteriana El bosque. [escobarjavier@unbosque.edu.co](mailto:escobarjavier@unbosque.edu.co)
3. Docente Investigador. Programa de Microbiología Universidad Libre Pereira. [adalucy.alvarez@unilibre.edu.co](mailto:adalucy.alvarez@unilibre.edu.co). \*Líder Semillero Obvio Microbio.

# Bacterial resistance mediated by the blaKPC gene in *Klebsiella pneumoniae*.

## ABSTRACT

*Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic bacterium that produces hospital infections causing high morbidity and mortality rates worldwide, its treatment has been limited due to resistance to various antibiotics including broad-spectrum  $\beta$ -lactam antibiotics. Based on the above, the objective of this work is to gather information on the elements involved in bacterial resistance in *Klebsiella pneumoniae* and for this purpose the NCBI database was used where relevant articles were found on  $\beta$ -lactam antibiotics, mode of action, enzymes responsible for hydrolyzing these antibiotics in addition to the genes involved in their expression and the mechanisms involved in the mobilization of genes and therefore their relationship in the dissemination between bacteria.

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*, resistance, Beta-lactams, antibiotics.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas de mayor amenaza en la salud pública son las infecciones hospitalarias producidas por bacterias resistentes como son las enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*), las cuales han causado una alta tasa de morbilidad y mortalidad debido a la rápida diseminación que se ha dado por todo el mundo (1).

En los últimos años una de las especies bacterianas con mayor aislamiento en hospitales ha sido *Klebsiella pneumoniae*, su rápida diseminación se ha visto influenciada por mecanismos de resistencia a los diferentes antibióticos  $\beta$ -lactámicos donde se incluyen los carbapenémicos que son los de último recurso para control de este patógeno oportunista, de acuerdo con esto la OMS (organización mundial de la salud) anuncia que *Klebsiella pneumoniae* es uno de los patógenos emergentes que necesitan de nuevos tratamientos para mayor control (6).

El objetivo de esta revisión bibliográfica es obtener información sobre las características generales de *klebsiella pneumoniae*, enfocado en el mecanismo de resistencia frente a los diferentes antibióticos  $\beta$ -lactámicos, genes involucrados en el proceso y los elementos que permiten su rápida diseminación.

## METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda ~~donde~~ en ~~se empleó~~ la base de datos de NCBI utilizando las palabras *Klebsiella pneumoniae*,  $bla_{KPC}$ , Tn4401 y los términos en español “antibióticos”, “ $\beta$ -lactámicos”, “resistencia” “elementos genéticos móviles, transposones, Tn4401, y los términos en inglés, “ $\beta$ -lactams”, “resistance”, “Mobile genetic elements” donde se empleó el conector booleano AND.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se pueden evidenciar algunos de los artículos más relevantes del tema, la tabla se clasifica de acuerdo al título, autores, revista y año de publicación y un el tema de cada artículo.

**Tabla 1.** Algunos de los artículos relacionados con la resistencia bacteriana en *Klebsiella pneumoniae*.

| TITULO  | REVISTA y AÑO   | RESUMEN   |
|---|---|---|
| Resistencia a los antibióticos $\beta$ -lactámicos Carbapenems mediada por el gen blaKPC en <i>K.pneumoniae</i> . | Brise, S, Grimont, F, Grimont, <i>Revista de Investigación Agraria y Ambiental</i> , 6, p. 109 (5).         | Se describe la resistencia a $\beta$ -lactámicos mediada por bla <sub>KPC</sub> en <i>Klebsiella pneumoniae</i> ' |
| $\beta$ -Lactams and $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview   | Bush, K. and Bradford, <i>Cold Spring Harb Perspect Med</i> .2016: vol 6,8 (10).                            | $\beta$ -lactamasas con funciones inhibitorias en antibióticos $\beta$ -lactámicos                                |
| A review on $\beta$ -lactam antibiotic drug resistance  | Zango U, Ibrahim M, Abdurrahman S, & Muhammad.Medcrave. 2019, Volume 3 Issue 2 (13).                        | Se resumen los antibióticos $\beta$ -lactámicos   |
| Chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance   | Fernandes, R., Amador, P , <i>Reviews in Medical Microbiology</i> : January 2013 - Volume 24 : p 7-17 (14). | Estructura química de los antibióticos $\beta$ -lactámicos, modo de acción y los mecanismos de resistencia        |
| Functional characterization of Tn4401, a Tn3-based transposon involved in blaKPC gene mobilization                | Cuzon G, Naas T, Nordmann P, <i>Antimicrob Agents Chemother</i> . 2011 Nov;55(11):5370-3 (45).              | Describe la localización de KPC y su mecanismo de movilización.   |
| Prevalencia de bacterias Gram negativas portadoras del gen blaKPC en hospitales de Colombia.                      | Pacheco R, Osorio L, Correa AM, Villegas MV <i>Biomédica</i> . 2014,vol 34 (41).                            | Se describe la prevalencia del gen bla <sub>KPC</sub> y su limitada disponibilidad de antibióticos                |

## DISCUSIÓN

*Klebsiella pneumoniae* es un bacilo Gram negativo no móvil, fermentador de lactosa, anaerobio facultativo y miembro de la familia Enterobacteriaceae. Mide alrededor de 0,3 a 1  $\mu$ m de diámetro y 0,6-6  $\mu$ m de longitud (3). *K pneumoniae* tiene un genoma que oscila entre 6,00 a 14,87 Mpb y alberga entre 5000 a 14000 genes y tiene un porcentaje de GC de 57,2 % (4).

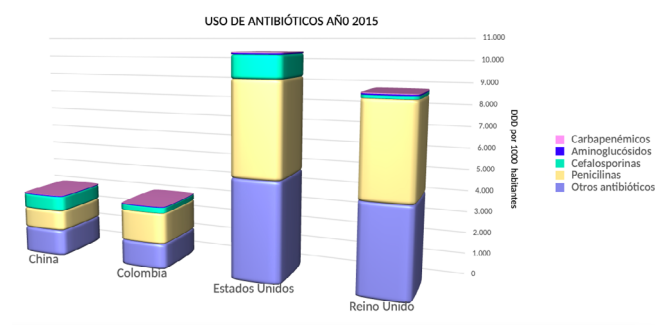
esta bacteria puede albergar gran cantidad de plásmidos y se ha reportado que puede transportar mas de 5 genes de resistencia (5). Es un patógeno oportunista que hace parte de la microbiota del tracto gastrointestinal, boca y piel en mamíferos así como en suelos, agua y plantas (6). Clínicamente *K. pneumoniae* es uno de los miembros más importantes del género *Klebsiella* ya que producen varias infecciones hospitalarias y altas tasas de mortalidad (5–7) que

están estrechamente relacionadas a la multiresistencia que esta bacteria presenta a diferentes familias de antibióticos como las quinolonas, aminoglicósidos y los  $\beta$ -lactámicos (8).

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos son los agentes bacterianos más utilizados para el tratamiento de enfermedades infecciosas a nivel mundial (Figura 1). Estos antibióticos se han desarrollado desde la década de 1920 cuando se descubrió la penicilina, con el fin de aumentar cada vez más su espectro en especies bacterianas y combatir la resistencia (9-11). Estos antibióticos se diferencian entre sí por la presencia de los anillos  $\beta$ -lactámicos, los cuales deben estar unidos a otros anillos secundarios para que puedan actuar; a esta asociación se le conoce como núcleo. El núcleo del  $\beta$ -lactámico al unirse con algunas cadenas lineales determina los diferentes tipos de antibióticos en esta familia (Figura 2). De acuerdo con la estructura del antibiótico se da el mecanismo de acción, la afinidad de receptores o la resistencia enzimática de  $\beta$ -lactamasas (12).

El primer grupo de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos son las penicilinas. Este grupo fue el primer  $\beta$ -lactámico que se usó clínicamente. Estructuralmente las penicilinas son bicíclicas, derivados del ácido 6-aminopenicilánico o 6-APA, se componen de un dipéptido cerrado formado por la L-cisteína y la D-valina, dando como resultado el anillo  $\beta$ -lactámico y el anillo tiazolidínico. Las penicilinas pueden

dividirse en naturales y semisintéticas. Las penicilinas naturales son las que no sufren ningún tipo de modificación; generalmente las penicilinas naturales son efectivas contra bacterias Gram positivas susceptibles a la penicilinasasa. Las penicilinas semisintéticas son aquellas que se modifican en el laboratorio donde se extrae el grupo R y se adhiere un grupo R de interés. Este tipo de penicilinas son efectivas contra bacterias Gram negativas y no son resistentes a las penicilinasas (13,14).

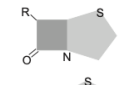
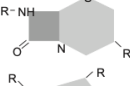

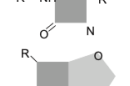
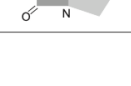


**Figura 1.** Imagen propia Reporte del uso de los antibióticos en China, Colombia, Estados Unidos y el Reino Unido. Año 2015, se incluyen  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y otros antibióticos DDD. Dosis diaria definida (10-11).

El segundo grupo de los  $\beta$ -lactámicos son las cefalosporinas derivadas de los ácidos 7-amino-cefalosporánicos. Este grupo de  $\beta$ -lactámicos son mucho más estables que las penicilinas y más resistentes a las penicilinasas. Las cefalosporinas se clasifican en 4 generaciones. Las de ‘primera generación’ tienen una actividad más amplia frente a bacterias Gram

positivas que a Gram negativas, después se desarrollaron las de segunda generación, las cuales tienen un espectro frente a bacterias susceptibles a las cefalosporinas de primera generación, pero con un impacto mayor frente a las bacterias Gram negativas. En las cefalosporinas de tercera generación hay menor efectividad en las bacterias Gram positivas que las cefalosporinas de primera generación, mayor actividad que las cefalosporinas de primera y segunda generación frente a los microorganismos Gramnegativos, especialmente los que tienen  $\beta$ -lactamasas. Por último, están las cefalosporinas de cuarta generación, estas tienen un espectro más amplio frente a Gram negativos en comparación con los de tercera generación, y con mayor estabilidad frente a las  $\beta$ -lactamasas y a microorganismos con múltiples patrones de resistencia (15,16).

Los monobactámicos son otro grupo de los  $\beta$ -lactámicos, estructuralmente son monocíclicos (Figura 2), resistentes a las  $\beta$ -lactamasas. Tienen actividad frente a bacterias Gram negativas aerobias y facultativas y poca eficiencia contra organismos Gram positivos y bacterias anaerobias (16).

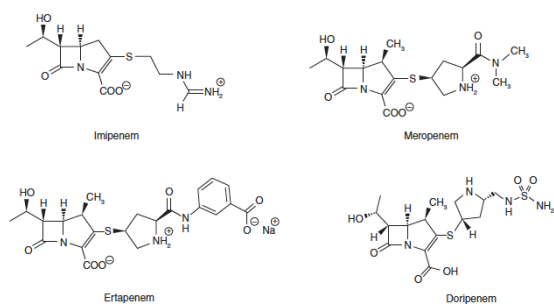
|   |                         |                                   |                    |
|---|-------------------------|-----------------------------------|--------------------|
|  | Anillo tiazolidínico    | Ácido 6-aminopenicilánico         | PENICILINAS        |
|  | Anillo dihidrotiacínico | Ácido 7 $\alpha$ -cefalosporínico | CEFALOSPORINAS     |
|  | Anillo pirrolínico      | Carbapenemo                       | CARBAPENEMAS       |
|  | Ninguno                 | Monobactamo                       | MONOBACTÁMICOS     |
|  | Anillo oxazolidínico    | Clavamo/oxapenamó                 | ÁCIDO CLAVULÁNICO* |

**Figura 2.** Estructura química de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (9).

El último grupo de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos son los carbapenémicos. Estos antibióticos son actualmente los de mayor espectro, poseen alta actividad frente a las bacterias Gram negativas y Gram positivas; son resistentes a las enzimas  $\beta$ -lactamasas y actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular. Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos se desarrollaron a partir de estudios realizados en 1960 sobre los inhibidores de la  $\beta$ -lactamasa, a partir de allí se proporcionó una serie de moléculas que influyeron profundamente en la quimioterapia con antibióticos. Esto dio origen a otras investigaciones donde se encontraron los ácidos olivánicos en caldos de fermentación de *Streptomyces olivaceus* y a partir de allí se identificaron varios miembros de la familia de carbapenémicos.

El primer carbapenémico fue la tienamicina, descubierto en 1988, este antibiótico tiene buena actividad antimicrobiana pero los problemas que presenta es que es inestable en soluciones acuosas, sensible a pH superiores a 8 y es altamente reactivo

a sustancias nucleofílicas, debido a estos inconvenientes se desarrolló la N-formimidoil Tienamicina o el imipenem, un derivado con características mucho más estables conservando las características antibacterianas de la tienamicina, el imipenem fue el primer antibiótico de uso clínico aparecido en el mercado, presenta una desventaja y es que es susceptible a la actividad hidrolítica de la enzima DHP-1 (enzima renal dehidropeptidasa) y por tanto se asoció la cilastatina como un inhibidor de esta enzima, con base en esto en 1997 salió al mercado el meropenem, antibiótico con gran actividad contra organismos Gram positivos y Gram negativos y estables a DHP-1. A partir de 2001 se empiezan a comercializar otros carbapenémicos como el Ertapenem, un antibiótico eficaz contra bacterias Gram negativas productoras de  $\beta$ -lactamasas. A partir de 2009 se comercializa el doripenem estable a DHP, que posee un amplio espectro frente a las bacterias Grampositivas y Gramnegativas (15,17–20).



**Figura 3.** Clasificación química de los carbapenémicos (20).

La diferencia de estos carbapenémicos se da por las sustituciones de las cadenas laterales que se dan en la posición del carbono 1 y 2 (Figura 3). En el imipenem los hidrogeniones del carbono 1 no tienen ningún tipo de sustitución y por ende se da la sensibilidad a la DHP-1 y en el carbono 2 una cadena lateral (imino-metil-amino-etil-tio) la cual hace que se diferencien este grupo de antibióticos. El meropenem al igual que Ertapenem y doripenem poseen en el carbono 1 un metilo (1- $\beta$ -metil-carbapenemasa) que les da estabilidad frente a DHP-I renal, en el carbono 2 el meropenem presenta un grupo hidrofóbico dimetil-carbamoil-pirrolidin-tio.

En el ertapenem el carbono 2 posee un grupo carboxifenil amino-carbamoil-pirrolidin-tio, tiene capacidad de provocar la lisis de la pared celular de microorganismos aerobios, anaerobios, Gram positivos y Gram negativos, este antibiótico es estable frente a la hidrólisis por una variedad de  $\beta$ -lactamasas, incluidas las penicilinasas, las cefalosporinasas y las  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado. En el doripenem en la posición del carbono 2 esta sustituida por una cadena lateral de sulfamoil-aminometil-pirrolidin-tio, su actividad es de dos a 16 veces más potente que el imipenem y comparable al ertapenem y al meropenem (21–23)

El mecanismo de acción los antibióticos  $\beta$ -lactámicos se da principalmente por dos procesos; la inhibición de la síntesis de la pared celular y la autólisis, donde



su objetivo es el peptidoglicano. El anillo  $\beta$ -lactámico de estos antibióticos presentan una similitud en la estructura de los componentes de la pared celular (acil-D-alanin-D-alanina) y al unirse a estas cadenas del peptidoglicano bloquea la enzima PBP (penicillin binding protein) encargada de su síntesis final y por tanto no se puede formar completamente la pared celular. El segundo método de acción se da gracias a la enzima autolisina presente en algunas bacterias que esta implicada en la degradación (23,24). La eficiencia de los antibióticos disminuye considerablemente cuando la bacteria produce mecanismos de resistencia para evadir su efecto, muchas veces estos antibióticos tienen gran influencia en la variación genética de las bacterias ya que estas pueden sufrir mutaciones, recombinaciones, transposición de genes o intercambios de genes (25).

La resistencia en bacterias puede darse de manera natural/intrínseca o adquirida. La resistencia natural es cuando todas las cepas de un mismo grupo bacteriano son resistentes y su presencia se ha dado desde antes del uso de antibióticos, entre otras palabras han sido mecanismos permanentes determinados genéticamente. La resistencia adquirida se debe a cambios genéticos de la bacteria generalmente por mutaciones cromosómicas, mecanismos de recombinación (Transformación, conjugación o transducción) o mecanismos de transferencia los cuales pueden estar mediados generalmente por plásmidos,

transposones e integrones (26). La resistencia adquirida se puede dar inducible o constitutiva. La resistencia inducible se da cuando el gen que codifica la enzima (como por ejemplo la  $\beta$ -lactamasa AmpC) se activa cuando entra en contacto con inductores ( $\beta$ -lactámicos), por otro lado esta la resistencia constitutiva, la expresión es muy baja y no muestra resistencia, cuando hay cambios genéticos en la bacteria el gen AmpC empieza a expresarse y a conferir resistencia a la mayoría de  $\beta$ -lactámicos (27).

De manera general existen tres procesos por los que una bacteria puede adquirir resistencia a los antibióticos. La primera es por la producción de enzimas, que provocan la hidrólisis del antibiótico, un ejemplo de ello es el caso de las  $\beta$ -lactamasas con los  $\beta$ -lactámicos. La segunda se da por modificaciones en el sitio blanco como por ejemplo la alteración de las PBP y por tanto la pérdida de afinidad en la unión entre el  $\beta$ -lactámico y la proteína, de esta manera se evita la inhibición de la síntesis del peptidoglicano. El tercer mecanismo se da por alteraciones de la permeabilidad y bombas de expulsión en este punto la bacteria al sufrir mutaciones en las porinas (canales de difusión que se encuentran en la membrana externa) se disminuye el paso del antibiótico hacia el interior de la bacteria (12,28).

Como se menciono anteriormente uno de los mecanismos de resistencia a los antibióticos se da gracias a enzimas, en



bacterias Gram negativas la producción de  $\beta$ -lactamasas es la mas prevalente. estas enzimas como su nombre lo indica actúan sobre antibióticos con anillos  $\beta$ -lactámicos, estas hidrolizan el enlace amida del anillo y por tanto hace que pierda su actividad. Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas producto de bacterias con peptidoglicano, se han descrito mas de 190 enzimas  $\beta$ -lactámicas y es uno de los mayores problemas de resistencia bacteriana frente a antibióticos. De acuerdo a Bush-Jacoby las  $\beta$ -lactamasas generalmente pueden clasificarse en tres grupos de acuerdo a su grupo funcional, el primero y segundo son serina- $\beta$ -lactamasas (SBL), es decir que poseen serina en su

sitio activo y el tercer grupo son metalo- $\beta$ -lactamasas (MLB) las cuales poseen moléculas de zinc en su sitio activo. Otra de las clasificaciones para las  $\beta$ -lactamasas es la de Ambler que se fundamenta en la estructura molecular y su secuencia de aminoácidos, las cuales se pueden clasificar en 4 grupos (A,B,C y D), las clases A, C y D poseen serina en su zona activa- SBL en su sitio activo y la clase B son MLB, es decir que tienen moléculas de zinc en su zona activa que pueden ser inhibidas por EDTA (tabla 2) (29–32)

**Tabla 2.** Clases de  $\beta$ -lactamasas y sus principales representantes, modificado. (30,32,33)

| Bush-Jacoby | Ambler | Características |   |
|-------------|--------|-----------------|---|
| 1           | C      | SLB             | En esta clase se encuentran cefalosporinasas codificadas por los genes AmpC. Degradan penicilinas y cefalosporinas.   |
| 2           | A      |                 | Esta clase de $\beta$ - lactamasas posee un residuo glutamato conservado necesario para su actividad hidrolítica donde se incluyen las TEM, SHV, CTX-M, IMI, KPC.   |
|             | D      |                 | Tienen la capacidad de hidrolizar oxacilina, algunas penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. En este grupo entran las BLEEs.  |
| 3           | B      | MLB             | Son MBL dependientes de zinc para su actividad catalítica, tienen amplio espectro de actividad que incluye carbapenémicos. Son resistentes a la acción de inhibidores de $\beta$ -lactamasas excepto los monobactamicos, en este grupo se encuentran las VIM, IMP, NDM. |

Las carbapenemasas son enzimas con amplio espectro que tienen la capacidad de hidrolizar los  $\beta$ -lactámicos mas potentes específicamente los carbapenémicos. De acuerdo con la clasificación de Ambler (tabla 1) las carbapenemasas entran en

los grupos A, D y B su clasificación se da por el mecanismo hidrolítico en el sitio activo, carbapenemasas de serina y metalo  $\beta$ -lactamasas.(36)

Las carbapenemasas de clase A o también llamadas como carbapenemasas de serina son las de mayor diversidad y distribución, las carbapenemasas de clase A se distribuyen en 5 grupos (tabla 3) que son las NMC-A (not-metallo enzyme carbapenemase), IMI (imipenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase), SME (por “Serratia marcescens enzyme”), GES (Guiana extended spectrum) y por ultimo KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemase) que es la enzima con capacidad hidrolítica contra todos los  $\beta$ -lactámicos, la cual es inhibida por acido

clavulánico, tazobactam y acido borónico, la KPC se ha vuelto las carbapenemasa dominante de clase A y se han descrito clásicamente en *K pneumoniae* y en algunas Enterobacterias alrededor del mundo. Las de clase B metalo  $\beta$ -lactamasas tienen capacidad de hidrolizar carbapenémicos en excepción del aztreotam. Por último están las carbapenemasa de clase D o las oxacilinasas (tabla 3) , estas enzimas tienen capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos (34–36).

**Tabla 3.** Clasificación de las carbapenemasas (37,38).

| Carbapenemasas          | Clase | Modo de inhibición                                 | Modo de acción            |
|-------------------------|-------|--|---------------------------|
| NMC, SME, IMI, GES, KPC | A     | clavulanato, tazobactam, sulbactam, acido borónico | serina                    |
| OXA                     | D     | NaCl   |                           |
| IMP, VIM, SPM, GIM, SIM | B     | EDTA, acido dipicolínico                           | metaló $\beta$ -lactamasa |

La mayoría de bacteria productoras carbapenemasas corresponden a la familia de las enterobacteriaceae. La mayoría de las enzimas KPC hidrolizan cefalosporinas y los carbapenémicos, pueden ser inhibidas por acido clavulánico y tazobactam. De acuerdo con algunas cifras otorgadas por la OMS en el año 2014 *Klebsiella pneumoniae* resistente a los antibioticos carbapenémicos se han diseminado en todo el mundo donde su principal mecanismo de resistencia se ha dado por la enzima KPC y en 2017 se publica un reporte de las

bacterias que necesitan de manera urgente nuevos antibióticos entre estas *Klebsiella pneumoniae* (39,40).

El primer reporte de KPC se realizo en 1996 en aislados de *Klebsiella pneumoniae* identificados en Carolina del Norte (Estados Unidos)(41). En América del Sur se realizo el primer reporte de KPC-2 en Colombia en el año 2006 por dos aislamientos de *K pneumoniae* recolectados en la ciudad de Medellín, a partir de este año se han reportado nuevos aislados en el mismo

país pero en diferentes bacterias como en *Pseudomona aeruginosa* en el 2007, ya fue en 2011 donde se publico el primer reporte de brote por KPC-3. En otros países también se ha reportado la presencia de KPC en *K pneumoniae* y otras enterobacterias como *Escherichia coli* y *Pseudomonas* spp. Las enzimas más comunes son las KPC-3 y KPC-2 siendo esta ultima la mas predominante, esta diseminación entre bacterias se da a partir de genes de origen cromosómico o plasmídicos y es un gran problema porque presenta amenaza para nuevos tratamientos (42,43).

La enzima KPC presenta un tamaño de 293 aa (43) y es codificada por el gen *blaKPC* que presenta un tamaño de 882 Pb (44). actualmente se han reportado 29 alelos del gen *blaKPC* que difieren entre si por uno a tres aminoácidos lo cual hace que cambien en la eficiencia de hidrolisis frente a  $\beta$ -lactámicos(45). cuando el gen *blaKPC* se expresa le confiere la capacidad de producir enzimas que permiten hidrolizar los carbapenémicos. Generalmente se localiza en plásmidos movilizados generalmente por el transposón Tn4401 el cual puede incluir el material genético en cualquiera parte del genoma huésped ya que no presenta ningún punto específico de inserción y de esta manera se da su diseminación (44).

Los plásmidos son elementos genéticos que pueden replicarse independientemente del cromosoma del hospedador, motivo por el cual también se les conoce como

replicones, casi todos los plásmidos que se conocen son DNA bacteriano, la mayoría son circulares, aunque también se han visto unos de forma lineal. Su tamaño puede ser muy variado ya que pueden oscilar de 1000 a más de 1.000.000 de pares de bases, su peso molecular puede estar entre  $2 \times 10^6$  a  $10^8$ .

Los plásmidos tienen capacidad de portar información genética para gran variedad de funciones no esenciales para el crecimiento de la bacteria, pero si información que le confiere propiedades particulares que a veces resultan importantes para su adaptación como los genes de resistencia a uno más antibióticos. La capacidad de dos diferentes tipos de plásmidos para replicarse en la misma célula esta controlada por genes plasmídicos, cuando un plásmido se trasfiere a otra bacteria que ya porta otro plásmido, el segundo plásmido puede que no se mantenga y se puede perder por tanto se dice que son incompatibles (Inc), Los plásmidos que se encuentran en una célula presentan un determinado número de moléculas plasmídicas, lo cual se denomina como número de copias las cuales pueden ser varias de acuerdo a la bacteria, unas presentan de 1-3 copias otros más de 100 copias. El número de copias se controla por los genes del plásmido y por interacciones entre el hospedador y el plásmido. El mecanismo de transferencia de los plásmidos se puede dar de manera vertical, es decir de célula madre a célula hija o por transferencia horizontal como son los procesos de

conjugación transferencia de plásmidos F+ a bacterias que no los posee (plásmidos F-) a través de Philipps, esta transmisibilidad es codificada por genes de la región tra.

Los plásmidos pueden clasificarse de acuerdo a su tamaño, el número de copias en la bacteria o por el tipo de genes como es el caso de los plásmidos de resistencia (Plásmidos R) que portan genes que brindan resistencia a las bacterias inclusive un solo plásmido puede conferir resistencia a múltiples antibióticos como es el caso de *Klebsiella pneumoniae* que produce  $\beta$ -lactamasas para inactivar los  $\beta$ -lactámicos. Los plásmidos de resistencia generalmente portan 4 genes importantes que son de los de replicación, de partición y control de número de copias, de transferencia conjugativa y genes que les confiere ventajas de virulencia y resistencia (33,46,47).

El orden de los genes en un cromosoma no siempre se mantiene en el mismo lugar, algunos de estos pueden movilizarse dentro del genoma, a esta acción se le conoce como transposición, la transposición de estos elementos se ve ligada a la presencia de elementos genéticos móviles llamados elementos transponibles. Los elementos transponibles son segmentos de ADN que pueden moverse de una posición del genoma a otra, o inclusive de plásmido a plásmido estos portan la información que se requiere para que se dé el proceso de transposición además de los genes que pueden codificar para otras funciones como

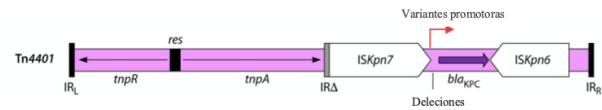
la resistencia a antibióticos, El proceso de transposición se da gracias a la enzima “transposasa”(TnpA) la cual es codificada por el propio elemento genético móvil y es la que permite el reconocimiento del sitio blanco, reconocer los extremos del transposón y permitir la integración del elemento en el sitio blanco del genoma sin que exista una homología en las secuencias. Hay tres tipos de elementos transponibles en bacterias que son los bacteriófagos, las secuencias de inserción y los transposones (48).

Los transposones son segmentos de DNA que además de portar información para transposición (SI) también incluye genes que le otorgan propiedades a la bacteria portadora como la resistencia a los antibióticos. Los transposones se les denomina como Tn y son mucho más grandes que las Secuencias de Inserción (SI), los Tn pueden clasificarse en transposones compuestos y no compuestos/Tn3, Los transposones compuestos se caracterizan por presentar dos IS en ambos lados del gen de resistencia que portan, como este posee secuencias de inserción en el proceso de integración también finaliza con repeticiones invertidas, es probable que estos transposones compuestos se formen cuando se integra una secuencia de inserción cerca de otra y al momento de su movilización reconoce los extremos de cada secuencia portando de esta manera los genes que se encuentran dentro de estas dos.

Los transposones no compuestos no poseen secuencias de inserción, pero si repeticiones invertidas, poseen además gen de Transposasa (TnpA), gen de resolvasa (tpnR) además de los genes o el gen de resistencia. Un ejemplo de este tipo de transposón es el Tn4401 (Figura. 4) el cual pertenece a la familia Tn3, este mecanismo de movilización se caracteriza por llevar el gen  $bla_{KPC}$  una  $tntA$  y una  $tnpR$ , dos SI además de estar flanqueado por dos repeticiones invertidas de 39pb y dos TSD de 5pb. La frecuencia de Transposición de Tn4401 es de  $4,4 \times 10^{-6}$ /célula receptora.

Se han determinado 8 isoformas del transposón Tn4401 (a-h) , las cuales se diferencian por deleciones corriente arriba del gen  $bla_{KPC}$ . Las isoformas **a, c, d, e y h** presentan deleciones de 99 pb, 215 pb, 68 pb, 255 pb, 255 pb y 188 pb, la isoforma b no presenta deleciones, una variante recientemente descrita también como “isoforma d” presenta una deleción de 5,3 Kb que incluye parte del gen  $bla_{KPC}$ , la isoforma e contiene el gen  $tnpA$  truncado y  $tnpR$ , ISKpn7 y Tn4401 IR-L están ausentes (44, 55-57,58). Tal parece que dependiendo de la isoforma de Tn4401 se asocian a diferentes plásmidos que albergan KPC. A partir de algunos aislamientos realizados de *K pneumoniae* y otras especies en algunas regiones como china, argentina, Brasil y chile, se han encontrado elementos móviles no portadores del gen  $bla_{KPC}$  en el transposón Tn4401 (NTEKPC), es importante resaltar que estos NTEKPC no se han visto asociados a cepas de

*K pneumoniae* incluyendo ST258, a diferencia del Tn4401 que exclusivamente porta  $bla_{KPC}$  en ST258 (45,49,50).



La movilidad de estos elementos genéticos móviles puede darse de manera conservativa o no conservativa. En la movilidad conservativa la transposasa corta la SI en los extremos y de esta manera se mantienen unidos hasta encontrar la secuencia blanca, al encontrarla la transposasa corta el ADN objetivo y las secuencias de inserción son ligados en esta secuencia. En la movilidad no conservativa o replicativa ( un ejemplo de esto son los Tn3) la transposasa hace un corte a cada extremo de la SI y en la secuencia diana, después se integra la SI en el genoma aceptor y se forma una estructura entrecruzada donde se cataliza por la enzima resolvasa permitiendo la separación de las hebras y de esta manera deja una copia de la SI o del transposón en cada hebra (51–53).

Los transposones pueden dividirse en grupos de acuerdo al sitio activo de la transposasa, el cual se diferencia por aminoácidos que se reúnen en el sitio activo, en todos los casos el transposón se inserta en el ADN mediante hidrolisis que liberan los grupos 3' del ADN (su nombre técnico es clivaje de donante) esto sucede mediante ataques nucleofílicos en los dos extremos 3' de cada terminal del transposón sobre

los enlaces fosfodiéster en las cadenas del ADN blanco, los extremos 3' generados se fusionan con el ADN objetivo, llamado transferencia de cadena.

La transposasa posee dos dominios, uno que se une específicamente a los terminales del transposón a una región de 20 Pb y está el dominio catalítico, las ADN transposasas más comunes son: (I) las que tienen dominios catalíticos similares a RNasa H, en su sitio activo hay un dominio con 3 aminoácidos conservados que son aspartato (D), aspartato(D) y glutamato (E) (DDE o DDD) que realiza la hidrólisis del enlace fosfodiéster 3'O-P y usa como cofactor catión magnesio donde se producen extremos 3 hidroxil y 5'fosfato. (II) la transposasa con dominios catalíticos HUH utiliza nucleófilos de tirosina (el nucleófilo es un grupo OH) que rompe el enlace fosfotyrosina. (el nombre "HUH" hace referencia a dos histidinas conservadas y catalíticamente requeridas que coordinan un único cofactor de iones metálicos divalentes (III) la serina transposasa ataca el fosfato y se forma un covalente 5' (intermediario de dos fosfoserina) y un 3' libre del grupo OH, para que se lleve a cabo la catálisis se necesita de múltiples residuos de arginina en el sitio activo, cuando el grupo OH queda libre se da la transferencia de la hebra donde cada subunidad corta una de las 4 hebras del ADN recombinante formando un tetrámero, la transferencia se da cuando hay una rotación de subunidades donde uno de estos dímeros gira 180° alrededor de la otra. (IV) Las transposasa de tirosina son las que mueven la mayoría

de los transposones conjugativos, estas transposasas usan en su sitio activo residuos de tirosina para atacar el fosfato presente y de esta manera formar enlaces 3'-fosfotirosina (49,54,55).

## CONCLUSIÓN

La resistencia bacteriana es un problema a nivel mundial con reportes de un alto número de infecciones hospitalarias causadas por *Klebsiella pneumoniae* y otras enterobacterias, esta capacidad de transmisión de resistencia entre bacterias está estrechamente relacionada con la capacidad de poseer el gen blaKPC que al expresarse produce enzimas KPC que inhiben el mecanismo de acción de las  $\beta$ -lactamasas, este gen se transfiere por el Tn4401, un mecanismo de movilización encontrado en plásmidos que no necesitan de un sitio específico para su inserción, por tanto es importante conocer cuáles son los factores involucrados en esta resistencia para tomar medidas alternas en cuanto a la inhibición de resistencia bacteriana.



## Referencias bibliográficas

1. Deshpande LM, Jones RN, Fritsche TR, Sader HS. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing enterobacteriaceae: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004). *Microb Drug Resist.* 2006 Dec 16;12(4):223–30.
2. Jones RN. Global epidemiology of antimicrobial resistance among community-acquired and nosocomial pathogens: A five-year summary from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). Vol. 24, *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. Copyright © 2002 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue,
3. Brisse S, Grimont F, Grimont PAD. The Genus *Klebsiella* BT - The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors. New York, NY: Springer New York; 2006. p. 159–96. Available from: [https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X\\_8](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X_8)
4. *Klebsiella pneumoniae* (ID 815) - Genome - NCBI. 7.
5. Akingbade O, Ogiogwa J, O I, Okonko I, Okerentugba P, C H, et al. Plasmid Profile of Isolated *Klebsiella* species in a tertiary Hospital in Ogun State, Nigeria. *World Appl Sci J.* 2013 Jan 1;21:371–8.
6. Sumathy J. A Study on The Enterobacteriaceae Pathogen *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Sewage And Drinking Water Environment. 2018;4(November):1–5.
7. Jamil I, Zafar A, Qamar MU, Ejaz H, Akhtar J, Waheed A. Multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* causing urinary tract infections in children in Pakistan. *African J Microbiol Res.* 2014 Jan 21;8:316–9.
8. Campos J, Ferech M, Lázaro E, de Abajo F, Oteo J, Stephens P, et al. Surveillance of outpatient antibiotic consumption in Spain according to sales data and reimbursement data. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2007 [cited 2021 Mar 20];60(3):698–701. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/60/3/698/735299>
9. Bush K, Bradford PA.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016 Aug 1;6(8):a025247.
10. MIDAS® - IQVIA [Internet]. [cited 2021 Apr 4]. Available from: <https://www.iqvia.com/solutions/commercialization/brand-strategy-and-management/market-measurement/midas>



11. Suárez C, Gudiol F. Beta-lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):116–29.
12. Zango UU, Ibrahim M, Abdurrahman S, Shawai A, Shamsuddin IM. A review on  $\beta$ -lactam antibiotic drug resistance. *MOJ Drug Des Dev Ther* [Internet]. 2019 [cited 2020 Sep 17];3(2):52–8. Available from: <http://medcraveonline.com>
13. Fernandes R, Amador P, Prudêncio C.  $\beta$ -Lactams: Chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. *Rev Med Microbiol*. 2013;24(1):7–17.
14. Page MGP. Beta-lactam antibiotics. In: *Antibiotic Discovery and Development*. Boston, MA: Springer US; 2012. p. 79–117.
15. Seija V, Vignoli R. Principales grupos de antibioticos. 2006;22.
16. Marcela K, Monge M. CARBAPENÉMICOS: TIPOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANOS. Vol. 70, *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 2013.
17. Gobernado M, Acuña C. Sociedad Española de Quimioterapia Revisión Ertapenem [Internet]. Vol. 20, Septiembre. 2007 [cited 2020 Sep 22]. Available from: <https://seq.es/seq/0214-3429/20/3/277.pdf>
18. Muro M, Alcalá Z. CARBAPENEMASAS: UN MECANISMO DE RESISTENCIA BACTERIANA FRENTE LAS CARBAPENEMAS, ANTIBIÓTICOS DE ÚLTIMO RECURSO [Internet]. [cited 2020 Sep 22]. Available from: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MANUELA MURO DE ZARO ALCALA.pdf>
19. Salamanca HU De. y Microbiología Clínica. 2010;28(Supl 2):53–64.
20. Falco A, Aranaga C. Resistencia a los antibióticos beta-lactámicos Carbapenems mediada por el gen blaKPC en *Klebsiella pneumoniae*. *Rev Investig Agrar y Ambient*. 2015 Dec 15;6:109.
21. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, et al.  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. Vol. 431, *Journal of Molecular Biology*. Academic Press; 2019. p. 3472–500.
22. Fresnadillo Martínez MJ, García García MI, García Sánchez E, García Sánchez JE. Los carbapenems disponibles: Propiedades y diferencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Sep 1;28(SUPPL. 2):53–64.
23. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2020 Sep 11];27(1):44–52. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X08000177>

24. Alós JI. Antibiotic resistance: A global crisis [Internet]. Vol. 33, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2015 [cited 2020 Sep 23]. p. 692–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X14003413>
25. Mestre RC, Ana D, Álvarez B, Yero M. Revista Cubana de Medici ... Revista Cubana de Medicina Militar Revista Cubana de Medici .... Rev Cuba Med Mil [Internet]. 2009 [cited 2020 Sep 23];32(Cid):1–5. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572003000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000100007)
26. Martínez Rojas DDV. Betalactamasas tipo AmpC: Generalidades y métodos para detección fenotípica. Rev la Soc Venez Microbiol [Internet]. 2009 [cited 2020 Sep 23];29(2):78–83. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562009000200003](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000200003)
27. Pérez D. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sist Nac Salud [Internet]. 2016 [cited 2020 Sep 23];22(3):57–67. Available from: <https://www.msbs.gob.es/gl/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
28. Kobayashi Y, Takahashi I, Nakae T. Diffusion of  $\beta$ -lactam antibiotics through liposome membranes containing purified porins. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 1982 Nov [cited 2020 Oct 19];22(5):775–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6295267>
29. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. Crit Care [Internet]. 2010 [cited 2020 Oct 19];14(3):224. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20594363>
30. Li R, Medchemcomm /, Tehrani KHME, Martin NI. MedChemComm  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations: an update. Cite this Med Chem Commun. 2018;9:1439.
31. Bonomo RA.  $\beta$ -Lactamases: A focus on current challenges. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;7(1):1–16.
32. Alejandro R, Ortiz M. Análisis de los elementos genéticos involucrados en la movilización del gen blaNDM-1 en bacterias multirresistentes colombianas [Internet]. 2017 [cited 2020 Oct 5]. Available from: <http://bdigital.unal.edu.co/59253/7/RicaurteA.MárquezOrtiz.2017.pdf>
33. Walsh TR. Emerging carbapenemases: A global perspective. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2010 Nov [cited 2020 Oct 24];36(SUPPL. 3):S8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857910700042>

34. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The versatile  $\beta$ -lactamases [Internet]. Vol. 20, Clinical Microbiology Reviews. 2007 [cited 2020 Oct 24]. p. 440–58. Available from: <https://cmr.asm.org/content/20/3/440>
35. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. MINIREVIEW A Functional Classification Scheme for-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure [Internet]. Vol. 39, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. 1995 [cited 2020 Oct 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC162717/pdf/391211.pdf>
36. Sahuquillo-Arce JM. Carbapenemases: A worldwide threat to antimicrobial therapy. World J Pharmacol. 2015 Jan 1;4:75.
37. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, present, and future. Vol. 55, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Antimicrob Agents Chemother; 2011. p. 4943–60.
38. WHO Publishes List of Bacteria for Which New Antibiotics Are Urgently Needed [Internet]. Vol. 38, Saudi Medical Journal. 2017 [cited 2021 Mar 21]. p. 444. Available from: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
39. OMS. Antimicrobial resistance Global Report on Surveillance [Internet]. Vol. 17, World Health Organization. 2014 [cited 2021 Mar 21]. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf;jsessionid=CA5F6437AC56134249C79E652DE7AAA6?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=CA5F6437AC56134249C79E652DE7AAA6?sequence=1)
40. Pacheco R, Osorio L, Correa AM, Villegas MV. Prevalencia de bacterias Gram negativas portadoras del gen blaKPC en hospitales de Colombia. Biomédica [Internet]. 2014 Apr 1;34(Sup1 SE-Artículos originales):81–90. Available from: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1642>
41. Ocampo AM, Vargas CA, Sierra PM, Cienfuegos AV, Jiménez JN. Caracterización molecular de un brote de Klebsiella pneumoniae resistente a carbapenémicos en un hospital de alto nivel de complejidad de Medellín, Colombia. Biomedica [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 26];35(4):496–504. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v35n4/v35n4a07.pdf>
42. MULTISPECIES: carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase KPC-2 [Bac - Protein - NCBI [Internet]. [cited 2020 Oct 27]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WP\\_004199234.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WP_004199234.1)

43. Sánchez B M, Msc B, Muñoz R, Esp M, Gutiérrez N. Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Bacterial Resistance to Antibiotics: Mechanisms of Transfer*. 2012 Jan 17;
44. Cuzon G, Naas T, Nordmann P. Functional characterization of Tn4401, a Tn3-based transposon involved in bla KPC gene mobilization. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2011 [cited 2020 Oct 27];55(11):5370–3. Available from: <http://aac.asm.org/>
45. Martinko JM, Madigan MT PJ. Brock: *Biología de los Microorganismos*. 8a Edición. Capella Isabella, editor. PRENTICE HALL, INC; 2003. p. 1096.
46. Marina L, Forero L. *Genética bacteriana: conjugación*. [cited 2020 Oct 29];1–7. Available from: <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap 12.pdf>
47. Roy PH. Genetic Mechanisms of Transfer of Drug Resistance. In: *Antimicrobial Drug Resistance* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2009 [cited 2020 Oct 29]. p. 53–64. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-59745-180-2\\_5](http://link.springer.com/10.1007/978-1-59745-180-2_5)
48. Plasterk RHA. Transposable Elements. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition* [Internet]. Elsevier; 2013 [cited 2020 Nov 2]. p. 146–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123749840015709>
49. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Molecular and genetic decoding [Internet]. Vol. 22, *Trends in Microbiology*. 2014 [cited 2020 Nov 22]. p. 686–96. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966842X14001930>
50. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance [Internet]. Vol. 31, *Clinical Microbiology Reviews*. 2018 [cited 2020 Nov 2]. Available from: <http://cmr.asm.org/>
51. Makałowski W, Gotea V, Pande A, Makałowska I. Transposable elements: Classification, identification, and their use as a tool for comparative genomics. In: *Methods in Molecular Biology* [Internet]. Humana, New York, NY; 2019 [cited 2020 Oct 29]. p. 177–207. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-9074-0\\_6](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-9074-0_6)
52. Martínez LGM. *Genética Bacteriana y Mecanismos de la Transferencia Horizontal Genética* Concepto de especie bacteriana. *Genet Bact* [Internet]. 2013 [cited 2020 Oct 29];1:5. Available from: [https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-07/T2\\_Texto Clase 2-Genética y Transm Horiz-Centron 2020.pdf](https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-07/T2_Texto Clase 2-Genética y Transm Horiz-Centron 2020.pdf)

53. Reyes JA, Melano R, Cárdenas PA, Trueba G. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American Enterobacterales [Internet]. Vol. 24, Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2020 [cited 2020 Nov 22]. p. 231–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1413867020300234>
54. Hickman AB, Dyda F. Mechanisms of DNA Transposition. Mob DNA III. 2015;529–53.