

Artículo de revisión

INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD EN PACIENTES ONCOLÓGICOS: RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.

Pérez Machado Luis Felipe. José Ignacio Moncayo Ortiz. Jorge Javier Santacruz Ibarra. Yina Marcela Guaca González.¹

Resumen

Introducción: Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) son aquellas infecciones que el paciente adquiere mientras recibe tratamiento y en quien la infección no se había manifestado ni estaba en periodo de incubación en el momento de ingreso. Las IAAS son causadas por bacterias, hongos y virus. Por su parte, la resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos sufren cambios que no permiten la acción de los medicamentos empleados para tratar las infecciones. Debido a esto, la emergencia y rápida diseminación de infecciones por microorganismos resistentes a los antimicrobianos se considera un problema de salud pública que se asocia con la estancia hospitalaria, morbimortalidad y altos costos para el sistema de salud. En adición a esta problemática, las complicaciones infecciosas constituyen una de las causas más importantes de morbimortalidad en los pacientes oncológicos. Actualmente, las mortalidades más altas se encuentran asociadas a enterobacterias y *P. aeruginosa*. Es por esto, que el conocimiento adecuado de las infecciones en los pacientes oncológicos y su correcto manejo y prevención son determinantes para reducir sus complicaciones. **Método:** búsqueda de literatura en bases de datos indexadas.

Resultados: En esta revisión se discute la importancia del estudio de las IAAS, las principales bacterias Gram negativas causantes de IAAS en pacientes oncológicos, el uso de antimicrobianos y los principales mecanismos de resistencia antimicrobiana. **Conclusión:** El estudio y entendimiento de la resistencia antimicrobiana en los procesos infecciosos de pacientes oncológicos, como las IAAS, son indispensables para el control, manejo y prevención de estas infecciones, con el fin de mejorar los tratamientos de los pacientes.

Palabras clave: Resistencia, IAAS, cáncer, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*.

2. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

Abstract

Introduction: The infections associated with health care (IAAS) are those infections that the patient acquires while receiving treatment and in whom the infection had not manifested or was not in the incubation period at the time of admission. The IAAS are caused by bacteria, fungi and viruses. On the other hand, resistance to antimicrobials occurs when microorganisms undergo changes that do not allow the action of the drugs used to treat infections. Due to this, the emergence and rapid spread of infections by microorganisms resistant to antimicrobials is considered a public health problem that is associated with hospital stay, morbidity and mortality and high costs for the health system. In addition to this problem, infectious complications are one of the most important causes of morbidity and mortality in cancer patients. Currently, the highest mortalities are associated with enterobacteria and *P. aeruginosa*. This is why the adequate knowledge of infections in cancer patients and their proper management and prevention are crucial to reduce their complications. **Methods:** A literature search was performed in indexed databases.

Results: In this review we discuss the importance of the study of HAIs, the main Gram negative bacteria that cause IAAS in cancer patients, the use of antimicrobials and the main mechanisms of antimicrobial resistance.

Conclusion: The study and understanding of antimicrobial resistance in the infectious processes of cancer patients, such as HAIs, are essential for the control, management and prevention of these infections, in order to improve patient treatments.

Key words: Resistance, IAAS, cancer, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*.

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

Introducción

Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), antes conocidas como infecciones nosocomiales, son todas aquellas infecciones relacionadas a la atención en salud, sin importar su contexto, entre los cuales se encuentran los hospitales, centros de hospitalización prolongada, instalaciones comunitarias, entre otros. Una IAAS es una infección localizada o sistémica desencadenada por una reacción adversa a la presencia de uno o más agentes infecciosos o sus toxinas, sin que haya evidencia de su previa presencia al momento de ingresar en el centro de atención en salud respectivo. Convencionalmente, se considera que una infección es una IAAS si se manifiesta al menos 48 horas después del ingreso [1].

Las IAAS se presentan tanto en países desarrollados como en naciones en desarrollo; diariamente aproximadamente 1,4 millones de pacientes adquieren IAAS. La CDC estima, que tan solo en Estados Unidos anualmente hay 99.000 muertes asociadas a IAAS. Las mayores morbilidades se dan entre pacientes hospitalizados en Unidades de Cuidado Intensivo (UCI)[1].

La resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos usados para

curar las infecciones dejen de ser eficaces. Este es un fenómeno muy preocupante porque las infecciones provocadas por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos tanto para los pacientes como para la sociedad.

Para lograr una identificación tratamiento y prevención exitosa de las infecciones, es importante conocer a profundidad los mecanismos de resistencia presentes en los patógenos comúnmente encontrados en los pacientes oncológicos. Aun así, a medida que las modalidades terapéuticas continúen evolucionando, la resistencia a antimicrobianos continúe aumentando y nuevos patógenos sean descubiertos, el manejo de las infecciones continuará presentando retos en los años venideros [2, 3].

Definición del Problema

A pesar de que, en las últimas décadas, los avances en el cuidado de los pacientes oncológicos han resultado en un aumento de la supervivencia, las complicaciones debidas a infecciones siguen siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad. Estudios han demostrado que alrededor del 60% de las muertes de pacientes oncológicos están relacionadas con infecciones. A pesar de que existen pocos datos sobre la

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

mortalidad infecciosa en pacientes con tumores en órganos sólidos, se estima que aproximadamente el 50% de estos pacientes tienen como causa primaria de muerte una infección [2, 4].

Las infecciones en pacientes oncológicos son una problemática mundial, por lo que se han desarrollado sistemas de vigilancia que buscan determinar la frecuencia de las principales infecciones, el comportamiento de la resistencia, el uso y consumo de antimicrobianos, la relación que existe entre los pacientes y los patógenos y finalmente, el comportamiento genético y las características moleculares de los aislamientos bacteriano, con el fin de hacer una detección temprana de los perfiles de resistencia e implementar mejores y más rápidas medidas de control [5, 6].

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública provocado por una gran cantidad de factores entre los que se destaca el uso indiscriminado de fármacos. Aunque es difícil el cálculo cuantitativo del impacto total de la resistencia a antimicrobianos en la salud, sí se puede inferir que la morbilidad y la mortalidad presentan un aumento cuando hay retrasos en la administración de tratamientos eficaces contra las infecciones causadas por patógenos resistentes. Además, los tiempos de hospitalización, la administración de procedimientos y medicamentos, conllevan al aumento en términos

económicos para el sistema de salud y para el paciente por la pérdida de productividad.

Debido al aumento de la transmisión de enfermedades infecciosas entre la población y a través de fronteras geográficas y la importancia para las generaciones futuras, la resistencia a los antimicrobianos ha sido catalogada como un “mal” público para la salud a nivel mundial.

Adicionalmente, la resistencia a los antimicrobianos en bacterias Gram negativas, es un problema en continuo aumento tanto dentro como fuera de las instituciones hospitalarias. La proporción de resistencia en Enterobacteriaceae a cefalosporinas de tercera generación ha venido en aumento desde la década de los 80, principalmente en *Klebsiella pneumoniae* y *E.coli*. La proporción de multidrogo resistencia (*multidrug resistant* - MDR) en *Pseudomonas aeruginosa* se ha multiplicado más de 3 veces desde 1993 y la proporción de especies de *Acinetobacter* resistentes a carbapenemas ha pasado de cero en 1986 hasta más del 20% en la última década [6].

Materiales y métodos

Para la realización de este artículo, se realizó una búsqueda de literatura en bases de datos como PubMed, ScienceDirect, donde se tuvo en cuenta únicamente artículos de revisión, y Scielo. Para ello se emplearon los términos *antibiotic resistance*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P.*

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

aeruginosa y *A. baumannii*. Se realizó la búsqueda de la resistencia antimicrobiana para cada bacteria, obteniéndose para *E. coli* 5945 resultados en PubMed, 6554 resultados en ScienceDirect y 6340 resultados en Scielo; para *K. pneumoniae* 1119 resultados en PubMed, 1585 resultados en ScienceDirect y 4760 resultados en Scielo; para *P. aeruginosa* 12058 resultados en PubMed, 3286 resultados en ScienceDirect y 4000 resultados en Scielo; finalmente, para *A. baumannii* 1532 resultados en PubMed, 646 resultados en ScienceDirect y 1200 resultados en Scielo. Se tomaron en cuenta artículos que describieran los mecanismos de resistencia empleados por estas bacterias frente a los principales grupos de antimicrobianos empleados para el tratamiento de IAAS que incluyeran los genes implicados en la obtención de dicha resistencia y que tuvieran relación con pacientes oncológicos.

Discusión

PRINCIPALES BACTERIAS CAUSANTES DE IAAS

1. *Escherichia coli*: *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo increíblemente diverso que posee la habilidad de colonizar y sobrevivir en numerosos nichos, tanto ambientales como en animales hospederos. Esta bacteria a menudo forma relaciones simbióticas con su

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

hospedero al colonizar la mucosa intestinal, proporcionando nutrientes, generando señales de regulación inmunes e inclusive protección contra patógenos [7]. Sin embargo, *E. coli*, se ha convertido en un patógeno bien adaptado a través de la obtención y pérdida de genes. Algunas especies patógenas de *E. coli* causan diarrea (*E. coli* patógena intraintestinal), mientras que otras causan infecciones extraintestinales (*E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC)). Estos grupos de *E. coli* patógena se clasifican en siete biotipos entre los cuales se encuentran: *E. coli* entéropatogena (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (ECEA), uropatogena (UPEC) y *E. coli* K1 causante de meningitis neonatal (NMEC) [8].

E. coli es uno de los microorganismos más importantes en la epidemiología clínica y la principal causa de infecciones en el tracto urinario, tanto IAAS, como adquiridas en la comunidad. Además, posee una gran capacidad de diversificación que le permite la formación de nuevos grupos

genéticos y clones. La incidencia mundial de infecciones por esta bacteria ha ido en aumento, afectando a millones de personas y presentando niveles de morbilidad y mortalidad considerables en casos de complicaciones y sepsis [9]. En Colombia, los datos que han sido reportados por 35 instituciones que pertenecen a la red de vigilancia del grupo para el control de la resistencia antimicrobiana en Bogotá (GREBO) en el 2010, indican que *E. coli* ocupa el primer lugar en frecuencia de microorganismos aislados en servicios no UCI y el quinto lugar en UCI.

Adicionalmente, se ha reportado que *E. coli* adquiere sus mecanismos de resistencia por transferencia horizontal de elementos genéticos móviles, codificando enzimas que mutan sitios de reconocimiento del antimicrobiano para impedir su unión, o sistemas que disminuyen la concentración intracelular del mismo [10]. El mecanismo de resistencia más frecuente es el mediado por β -lactamasas, capaces de hidrolizar antibióticos derivados de las penicilinas. Las β -lactamasas pueden ser de amplio espectro (BlaE) o β -lactamasas de espectro extendido (BlaEE) [11-13]. Los

mecanismos de resistencia presentados en *E. coli* pueden ser transferidos simultáneamente con otros genes que confieren resistencias a otro tipo de antibióticos.

Los principales genes involucrados en la resistencia a antibióticos que codifican proteínas que protegen la DNA girasa son *qnrA*, *qnrB* y *qnrS*. La resistencia a sulfonamidas y al trimetoprim está mediada por el gen *drf* que codifica una enzima que evita la acción del trimetroprim, los genes *Sul1*, *Sul2* y *Sul3* codifican dihidropteroato sintasa (DHPS) mil veces menos sensible a la acción de las sulfonamidas [14].

La primera β -lactamasa fue identificada en *Escherichia coli* inclusive antes del lanzamiento de la penicilina para su uso médico. La producción de β -lactamasas en patógenos Gram negativos es el factor de contribución más importante a la resistencia de β -lactámicos [10]. Los cuatro principales grupos de β -lactámicos son las penicilinas, cefalosporinas, monobactamicos y carbapenémicos. Todos poseen un anillo β -lactámico, el cual puede ser hidrolizado por β -lactamasas, obteniendo compuestos sin ninguna actividad antimicrobiana. La

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

constante exposición de cepas bacterianas a los β -lactámicos ha resultado en la sobreproducción y mutación continua de β -lactamasas, que ahora son capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos [10]. Estas nuevas enzimas son llamadas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cuales permanecen en el espacio periplasmático donde atacan al antimicrobiano antes de que este alcance su sitio de acción.

Muchas bacterias Gram negativas poseen β -lactamasas cromosómicas, las cuales pudieron haber evolucionado como proteínas protectoras contra las β -lactamasas producidas naturalmente por organismos del ambiente. Las β -lactamasas han incrementado en número y diversificación principalmente por el uso indiscriminado de antimicrobianos β -lactámicos en tratamientos que no los necesitan [10].

Existen cuatro familias principales de β -lactamasas TEM (Temoneira), SHV (Sulfidril Variable), CTX-M (Cefotaxima) y OXA (Oxacilina).

- TEM: Su nombre proviene del apellido

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

Temoneira, que pertenecía al primer paciente de quién se aisló la cepa portadora de esta enzima en 1965 [15]. Existen dos variantes, TEM-1 y TEM-2, las cuales solo se diferencian en un aminoácido, la lisina que sustituye a la glutamina en la posición 37 de la β -lactamasa TEM-2. TEM-1 es la enzima más común, presentándose preferentemente en la familia *Enterobacteriaceae* [16].

Actúan hidrolizando el anillo β -lactámico de penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos.

Actualmente existen más de 130 tipos de β -lactamasas TEM originadas por mutaciones puntuales del gen bla_{TEM} , y aparecen unas cuantas nuevas cada semana [10]. La mayoría se encuentran en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*.

- SHV: Fue descrita por primera vez en 1972 por Pitton, por lo que se le conoce también como

- Pit-2 [17]. Se la designó *SulfHidril Variable* (SHV) por su comportamiento al ser inhibida por paracloro-mercurio-benzoato. Estas β -lactamasas provienen de la enzima SHV-1, universalmente encontrada en *K. pneumoniae*. Estas enzimas confieren resistencia a una gran cantidad de penicilinas de amplio espectro como ampicilina, ticarcilina y piperacilina, pero no cefalosporinas sustituidas. Hasta la fecha más de 50 β -lactamasas tipo SHV han sido descritas [10].
- CTX-M: es una familia de β -lactamasas, de alrededor 80 enzimas, que hidroliza preferiblemente cefotaximas. Han sido aisladas de una gran variedad de enterobacterias. No tienen mucha relación con las enzimas TEM ni SHV. Además de su rápida acción hidrolizante cabe notar que son inhibidas más fuertemente por sustancias como el tazobactam y no por el sulbactam y el clavulanato [10].
 - OXA: Esta familia de enzimas hidrolizantes de oxacilina que ha sido encontrada ampliamente en *P. aeruginosa*, confieren resistencia a ampicilina y cefalosporinas, se caracterizan por su gran actividad hidrolítica contra oxacilina y cloxacillín y por ser poco inhibidas por el ácido clavulánico [10].
- La propagación de la producción de β -lactamasas puede ser mediada por cromosomas o plásmidos, inclusive pueden encontrarse genes codificantes en transposones e integrones. Un ejemplo de esto, son los genes para TEM, que se encuentran en transposones, mientras los que codifican SHV se aíslan principalmente de cromosomas, pero también se pueden encontrar en plásmidos. Los genes para los demás tipos de β -lactamasas se encuentran generalmente en integrones.
- Las quinolonas son los antimicrobianos que han tenido mayor desarrollo en los últimos años. Poseen buena actividad

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

contra organismos Gram negativos y alguna contra Gram positivos. La adición de un grupo piperacínilo en posición 7 y un átomo de flúor en posición 6 produjo las fluoroquinolonas [18]. Estas poseen un espectro más amplio de actividad, así como propiedades farmacocinéticas más convenientes para el tratamiento de infecciones sistémicas. El flúor confiere actividad contra microorganismos Gram positivos y el anillo piperacínico contra especies Gram negativas aerobias [19, 20].

Las fluoroquinolonas son medicamentos antimicrobianos que se unen con topoisomerasa tipo II (DNA girasa y topoisomerasa IV) para inhibir la religación del ADN luego del corte enzimático. Son medicamentos muy útiles, especialmente para infecciones del tracto urinario por enterobacterias [21]. Estos antimicrobianos se encuentran entre los antimicrobianos más comúnmente prescritos gracias a su amplio espectro de actividad, por esto se ha presentado un aumento a nivel mundial de resistencia a estos medicamentos en patógenos Gram negativos.

La resistencia antimicrobiana a quinolonas es mediada por la

mutación de genes cromosómicos que codifican DNA girasa y/o topoisomerasa IV, o por la mutación de genes que regulan la expresión de bombas de eflujo (Kim, 2009). Aun así, se ha demostrado que la resistencia a estos antimicrobianos puede mediarse mediante plásmidos que otorgan resistencia a múltiples fármacos, a través de los determinantes *qnr*, siendo los principales *qnrA*, *qnrB*, *qnrC* y *qnrS* [21, 22].

Además, se ha demostrado que la resistencia a esta familia de antimicrobianos depende de tres factores principales: acumulación secuencial de mutaciones puntuales en la DNA girasa y topoisomerasa IV, genes mediados por plásmidos que contienen los genes de la familia *qnr* (*plasmid-mediated quinolone resistance gene*) [11] y la disminución de la permeabilidad de la membrana externa debido a la disminución en la expresión de porinas evitando el ingreso del antibiótico al citoplasma [22-24].

Las sulfonamidas son antibióticos bacteriostáticos muy usados para el tratamiento de infecciones, son análogos estructurales del ácido para amino benzoico, el cual inhibe competitivamente la actividad

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

de la dihidropteroato sintasa, la enzima bacteriana que origina la incorporación del ácido paraamino benzoico en el ácido dihidropteróico, el precursor inmediato del ácido fólico, un metabolito importante para la síntesis de ADN. Una dihidropteroato sintasa de baja afinidad por sulfonamidas es codificada por un plásmido que tiene un gran potencial de transferencia a otros microorganismos. Además, se conocen los genes de resistencia a sulfonamidas *sul1*, *sul2* y *sul3*, los cuales sintetizan dihidropteroato sintasa resistente a sulfonamidas [25], debido a estos se ha reportado una alta prevalencia de resistencia a sulfonamidas en bacterias Gram negativas a nivel mundial [25].

2. *Klebsiella pneumoniae*: Es un bacilo Gram negativo no esporulado perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un patógeno oportunista, encontrado en humanos y otros mamíferos, colonizando el tracto gastrointestinal, la piel y en la nasofaringe [26]. Es causante común de neumonía, bacteriemia e infecciones del tracto urinario tanto en la comunidad como en los centros hospitalarios [27]. Este microorganismo presenta varios factores de virulencia

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

como: el antígeno capsular K, usado para evadir la fagocitosis y la activación del complemento, sideróforos que facilitan la captación de hierro del ambiente y de células eucariotas y por último, el pili, utilizado para la adherencia a otras células.

La NHSN (*National Healthcare Safety Network*) reportó en el año 2008 que la frecuencia de *K. pneumoniae* como agente causante de infecciones urinarias alcanza el 7.7%, de neumonías asociadas al ventilador el 7,5%, de bacteriemia asociada a catéter central el 4,9% y de infecciones de lugares quirúrgicos el 3,0%. Adicionalmente los aislamientos obtenidos presentaron resistencia a cefalosporinas de tercera generación, a fluoroquinolonas y a carbapenémicos [28]. Recientemente, un estudio realizado en Egipto, reportó que el 33,5% de las infecciones asociadas a catéter fueron causadas por bacterias Gram negativas, y entre estas la prevalencia de BLEE (β -lactamasas de espectro extendido) en *K. pneumoniae* es del 56%, y de igual manera en los Estados Unidos se ha reportado que el 10% de estos aislamientos poseen carbapenemas [29].

En Colombia, en el 2010 *K. pneumoniae* fue el principal patógeno aislado en UCI adultos, seguido de *S. aureus*, y el segundo microorganismo por fuera de UCI después de *E. coli*. Este patógeno despierta un gran interés epidemiológico gracias a su amplia distribución en el ambiente hospitalario, pero además por su perfil de multirresistencia a los principales antibióticos de amplio espectro usados en las instituciones médicas para el control de infecciones bacterianas complejas.

El principal mecanismo de resistencia presentado por *K. pneumoniae* es la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cuales hidrolizan diferentes tipos de antibióticos β -lactámicos, como penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación. Los genes que codifican estas enzimas pueden ser transferidos entre diferentes especies bacterianas por medio de elementos genéticos móviles. Las β -lactamasas más comunes para esta bacteria son las de tipo SHV, TEM y OXA [26, 30, 31]. Otro mecanismo de resistencia muy importante es la presencia de carbapenemasas, una familia de β -lactamasas muy versátil puesto que hidrolizan antibióticos carbapenémicos

tales como imipenem, meropenem, ertapenem e incluso la mayoría de β -lactámicos. La resistencia a β -lactámicos puede incrementar al presentarse una combinación de β -lactamasas y la pérdida de permeabilidad de la membrana externa. Cabe resaltar a la β -lactamasa NDM (*New Delhi metallo- β -lactamase*), puesto que posee actividad hidrolítica sobre todas las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Esta se identificó en aislamientos de *K. pneumoniae* y *E. coli* entre el 2008 y el 2009, sin embargo su diseminación ha sido muy exitosa debido a la presencia del gen *blaNDM* en diferentes tipos de plásmidos [32]. Otra carbapenemasa muy importante es la denominada KPC (carbapenemasa de *K. pneumoniae*), la cual tiene una aparición reciente, pero ha tenido una distribución mundial y se asocia a los brotes hospitalarios principalmente [33]. En Colombia fue identificada la variante KPC-2 en el año 2005, sin embargo más recientemente se reportó KPC-3 en un estudio en una institución de tercer nivel en Colombia [34].

También se han reportado en aislamientos de *K. pneumoniae* otro tipo de BLEE como VIM y CTX que confieren resistencia a

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

penicilinas, monobactamicos, cefalosporinas de primera y segunda generación [35, 36].

Cepas de *K. pneumoniae* productoras de β -lactamasas se encuentran asociadas a la resistencia a otros antimicrobianos como aminoglicósidos y fluoroquinolonas, mediados por múltiples mecanismos, incluyendo la adquisición de nuevos genes de metabolización de antibióticos, mutaciones de las proteínas de membrana o estructuras diana y la expresión de bombas de eflujo *ArcA – KocC* [37]. Para aminoglicósidos se presentan enzimas modificadoras de aminoglicósidos, las cuales son el mecanismo más importante en resistencia a aminoglicósidos en cepas de *K. pneumoniae* [38].

3. *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista, omnipresente y versátil, responsable de muchas enfermedades infecciosas en varios organismos incluidos insectos, animales, plantas y humanos. Puede encontrarse en ambientes muy variados, desde el suelo y el agua hasta en utensilios médicos. Esta bacteria es una causa importante de infecciones

crónicas y fatales en pacientes hospitalizados, especialmente en aquellos inmunocomprometidos, incluyendo las victimas de quemaduras, de fibrosis quística y pacientes con cáncer o SIDA [39].

Las infecciones asociadas a aislamientos multirresistentes de *P. aeruginosa* aumentan la morbilidad, mortalidad, necesidad de intervenciones quirúrgicas, largas estancias hospitalarias y mayores costos de tratamiento [40, 41]. *P. aeruginosa* es una de las bacterias más importantes con reportes de múltiples resistencias a antimicrobianos, incluyendo β -lactámicos, carbapenémicos, aminoglicósidos y fluoroquinolonas [42]. Debido a su resistencia antimicrobiana tanto intrínseca como adquirida, solo una gama limitada de medicamentos es efectiva para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*. Entre estos medicamentos, los carbapenémicos son los β -lactámicos más potentes contra bacilos Gram negativos, incluyendo *P. aeruginosa*, debido a su alta afinidad a proteínas de unión a penicilinas, su estabilidad frente β -lactamasas de espectro

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

extendido y a su permeabilidad en membranas bacterianas.

Esta bacteria puede desarrollar resistencia a los antimicrobianos por medio de dos mecanismos principales: por la adquisición de genes de resistencia a través de elementos génicos móviles (plásmidos, transposones e integrones insertados) y por procesos mutacionales de su genoma que alteran la regulación de proteínas constitutivas, lo que disminuye o aumenta su expresión.

El principal mecanismo de resistencia a antimicrobianos β -lactámicos se debe a la producción de β -lactamasas, principalmente las pertenecientes a las familias PSE, CARB y TEM, pero también se han detectado variantes de las familias SHV, CTX y OXA [43, 44]. Además, tiene una cefalosporina tipo AmpC inducible, que se expresa en bajas concentraciones en condiciones normales sin producir resistencia, pero cuando esta enzima se sobre expresa, proporciona resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, a excepción de carbapenémicos.

Por su parte, la resistencia a aminoglicósidos en *P. aeruginosa* está mediada por

enzimas modificadoras del antimicrobiano [45], de los tipos acetil, fosforil y nucleotidil transferasas, que pueden ser codificadas plasmídica o cromosómicamente. Los genes asociados a la resistencia a aminoglicósidos más comunes son *aac(6')-II*, *aac(3)-Ia*, *aac(3)-Ib*, *aac(3)-Ic*, *ant(2")-I*, *aph(3')-I* y *aph(3')-II*. Las aminoglicósido 6'-N-aciltransferasas [*aac(6')s*] son de particular interés porque pueden modificar medicamentos como la amikacina, gentamicina, netilmicina y tobramicina [45]. Estas enzimas confieren resistencia mediante la acetilación del antimicrobiano. Hasta la fecha, se han registrado 43 genes asociados a resistencia de aminoglicósidos por enzimas modificadoras, designados desde *aac(6')-Ia* hasta *aacA43*.

De acuerdo a varias fuentes a nivel mundial, se ha encontrado que alrededor del 20% a 35% de los aislamientos de *P. aeruginosa* presentan resistencia a fluoroquinolonas, a partir de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*, los cuales codifican DNA girasa A y topoisomerasa IV, respectivamente.

Simultáneamente se han reportado mutaciones en los genes *gyrB* y *parE*, aunque en menor frecuencia [46].

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

4. *Acinetobacter baumannii*: Es un cocobacilo Gram negativo, no fermentador de lactosa, que se encuentra distribuido ampliamente en el ambiente y se comporta como un patógeno oportunista, que puede ser responsable de infecciones en heridas no tratadas adecuadamente [47]. En las últimas décadas se ha convertido en un patógeno de mucha importancia clínica a nivel mundial por el aumento en el número de infecciones que produce en pacientes hospitalizados [47]. Causa infecciones principalmente en el tracto respiratorio, asociadas a ventilación asistida, y en el torrente sanguíneo, piel y tejidos blandos. Esta bacteria es un problema de importancia en las instituciones hospitalarias debido a que sus brotes son difíciles de controlar.

Posee una resistencia intrínseca a varias familias de antibióticos y la capacidad de adquirir fácilmente mecanismos de resistencia a β -lactámicos de amplio espectro como cefalosporinas de tercera y cuarta generación, aminoglicósidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas. Las resistencias intrínsecas incluyen penicilinas, amino-penicilinas, cefalosporinas de

primera y segunda generación y cloranfenicol. Sus mecanismos de resistencia son mediados por casi todos los mecanismos conocidos en bacterias: modificación del sitio de unión, inactivación enzimática, eflujo y disminución de la entrada de la molécula [48, 49].

Respecto a la resistencia a β -lactámicos, las β -lactamasas son el mecanismo de resistencia principal identificado para este organismo, con alrededor de 50 enzimas identificadas. *A. baumannii* posee intrínsecamente una oxacilinada de clase D, denominada OXA-51 y una cefalosporina tipo AmpC, ambas localizadas al interior del cromosoma. En la actualidad, se han llegado a describir 40 variantes de la oxacilinasa OXA-51 [50, 51]. EN condiciones normales de expresión, estas enzimas logran hidrolizar débilmente penicilinas como la ampicilina o la piperacilina, y carbapenémicos como el imipenem y el meropenem, pero no tienen actividad contra cefalosporinas de espectro extendido [52]. Aun así, pueden llegar a producir fenotipos resistentes mediante la sobreexpresión genética, debido a la inclusión de secuencias de inserción que

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

crean promotores transcripcionales fuertes [53].

En *A. baumannii*, la resistencia a carbapenémicos también está mediada por oxacilinas, codificadas por las familias de genes *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-27}, *bla*_{OXA-37}, *bla*_{OXA-40} y *bla*_{OXA-58}, por metalo-β-lactamasas tipo VIM y IMP, codificadas por los genes *bla*_{IMP-1}, *bla*_{IMP-2}, *bla*_{IMP-4}, *bla*_{IMP-5}, *bla*_{IMP-6} y *bla*_{IMP-11}; y *bla*_{VIM-2}, respectivamente [23].

La presencia de este conjunto de enzimas le confiere resistencia a todos los antibióticos β-lactámicos. La resistencia a cefalosporinas de tercera generación en *A. baumannii* está mediada por la adquisición de BLEE de clase A, que incluyen los tipo TEM, SHV, CTX-M, GES, SCO-1, PER y VEB [54, 55].

Se han reportado al menos 3 mecanismos de resistencia a aminoglucósidos en *A. baumannii*, siendo el más importante la modificación del antibiótico producida por 9 enzimas modificadoras diferentes, codificadas por los genes *aac(3')-Ia*, *aac(3')-Ila*, *aac(6')-Ib*, *aac(6')-Ih*, *aph(3')-Ia*, *aph(3')-VI*, *ant(2')-Ia* y *ant(3')-Ia* [56, 57]. Estos genes se hallan frecuentemente en plásmidos, transposones o integrones.

La resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas en *A. baumannii* es originada principalmente por mutaciones de los genes *gyrA* y *parC*, que codifican para las enzimas DNA girasa A y topoisomerasa IV, respectivamente. Finalmente, la resistencia a tetraciclinas está mediada por bombas de eflujo, TetA y TetB o proteínas de protección ribosomal TetM [55].

Antimicrobianos

El concepto del uso de sustancias químicas para el alivio de las enfermedades, particularmente las enfermedades infecciosas, se remonta al antiguo Egipto, Babilonia e inclusive la cultura Inca. Estos ejemplos de remedios antiguos incluyen la aplicación de mohos en cortes y heridas, y el consumo de rábanos, puerros, ajo y cebollas, hoy reconocidos por sus propiedades antimicrobianas [58].

La posibilidad que tiene un organismo de interferir con el crecimiento de otro ha sido sujeto de investigación intensa desde los inicios de la microbiología. En 1871, Sir John Burdon-Sanderson observó que un caldo nutritivo rápidamente se volvía turbio al estar en contacto con el aire, debido a las bacterias, pero si empezaba a crecer un hongo *Penicillium* en la superficie del medio, no ocurrían tantos cambios en él [58]. Así mismo, otros autores como William Roberts, John Tyndall y Joseph Lister, reportaron

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

observaciones similares con *Penicillium* [59-61]. Una de las primeras referencias del potencial terapéutico de la inhibición del crecimiento bacteriano por otros organismos fue descrita por Pasteur y Joubert, mediante la inhibición del ántrax por los organismos del aire [58].

A pesar de que se observaron un gran número de antagonismos microbianos, el concepto de que la causa se debía a un compuesto producido por un organismo que mataba o inhibía al otro no se desarrolló inmediatamente. No fue sino hasta los trabajos de Corneil y Babes, sustentados en los experimentos de Garre, que se estableció que el antagonismo microbiano se debía a la acción de una sustancia difusible producida por alguno de los organismos [58]. Para finales del siglo XIX, este fenómeno no solo era aceptado, sino que también se le dio un nombre: *antibiosis*.

Es de este modo, mediante el estudio de antagonismos microbianos, principalmente entre hongos y bacterias, que se llega a la implementación de la primera sustancia antimicrobiana conocida por el hombre, la penicilina.

Existen cinco modos principales de mecanismos de acción para los antimicrobianos. Aquí hay algunos ejemplos.

a. Interferencia de la síntesis de la pared celular: Los antimicrobianos β -lactámicos

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

como la penicilina y cefalosporina impiden las enzimas responsables de la formación del peptidoglicano [62].

b. Inhibición de la síntesis de proteínas: Las oxazolidinonas, un antimicrobiano reciente, interactúa con el sitio A del ribosoma bacteriano donde debería interferir el posicionamiento del aminoacil-tARN. Las tetraciclinas interfieren con la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad 30S al ribosoma, por lo que se debilita la interacción entre el ribosoma y el tARN. Los macrólidos se unen a la subunidad ribosomal 50S e inhiben la elongación de las cadenas peptídicas nacientes. El cloranfenicol se une a la subunidad 50S bloqueando la reacción de la peptidil transferasa. Finalmente, los aminoglicósidos la iniciación de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad ribosomal 30S [62].

c. Interferencia de la síntesis de ácidos nucleicos: La rifampicina interfiere con la ARN-polimerasa dirigida por ADN. Las quinolonas inhiben la síntesis de ADN mediante la interferencia de la topoisomerasa tipo II, la ADN girasa y la topoisomerasa tipo

IV durante el ciclo de replicación causando la ruptura de la doble hebra [62].

- d. Inhibición de rutas metabólicas: Las sulfonamidas y el trimetropim bloquean pasos claves en la síntesis de folato, el cual es un cofactor en la biosíntesis de nucleótidos, los bloques de construcción del ADN.
- e. Desorganización de la membrana celular: El sitio de acción primario es la membrana citoplasmática en bacterias Gram positivas o la membrana interna de las bacterias Gram negativas. Se tiene como hipótesis, que las polimixinas ejercen su efecto inhibidor al aumentar la permeabilidad de la membrana bacteriana, causando la fuga del contenido bacteriano. El lipopéptido cíclico daptomicina, muestra una actividad bactericida rápida al unirse a la membrana citoplasmática mediante la dependencia de calcio, lo que conduce a la salida de potasio de la célula y su consiguiente muerte [63].

La resistencia a los antimicrobianos versus el mecanismo de acción de los antimicrobianos se muestra en la figura 1 [62].

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

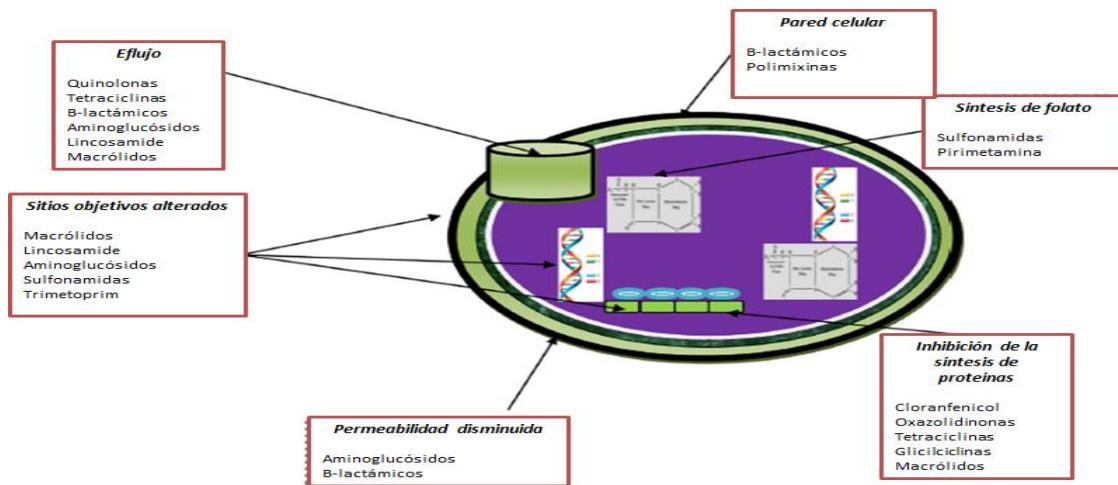


Figura 1. Resistencia a los antimicrobianos vs el mecanismo de acción de los antimicrobianos. (Tomada y adaptada de Shaikh, S., et al., *Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment*. Saudi J Biol Sci, 2015. 22(1): p. 90-101).

Mecanismos de resistencia a antimicrobianos:

La resistencia a los antimicrobianos es la reducción de la efectividad de un medicamento como un antimicrobiano o antineoplásico para curar una enfermedad o condición. Cuando el antimicrobiano no está destinado a matar o inhibir un patógeno, entonces el término es equivalente a la dosis de falla o la tolerancia al medicamento. Más comúnmente, el término se usa en el contexto de la resistencia que los patógenos han adquirido, es decir, la resistencia proviene de la evolución. Cuando un organismo es resistente a más de un medicamento, se le denomina multirresistente [64]. Las bacterias pueden poseer diferentes tipos de mecanismos de resistencia como la inactivación del fármaco, la modificación de la molécula diana, las mutaciones y la transferencia genética.

1. Inactivación del antimicrobiano

a. Hidrólisis: Muchos antimicrobianos poseen enlaces químicos, como las amidas y los ésteres, susceptibles a la hidrólisis. Muchas enzimas son conocidas por arruinar la actividad enzimática al hacer blanco y romper dichos enlaces. Estas enzimas por lo general pueden ser excretadas. Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) median la resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas de tercera generación y al aztreonam, pero no a los carbapenémicos [65].

b. Procesos redox: Las bacterias patógenas no suelen explotar la

- oxidación o reducción de los antimicrobianos. Sin embargo, existen unos cuantos ejemplos de esta estrategia [66, 67]. El primero es la oxidación de la tetraciclina por la enzima TetX. Otro ejemplo es *Streptomyces virginiae*, un productor del antimicrobiano estreptogramina tipo A virginiamicina M1, el cual se protege a si mismo de su propio antimicrobiano reduciendo un grupo cetona crítica a un alcohol en la posición 16.
2. Inactivación del antimicrobiano por transferencia de grupos: La familia más común de enzimas de resistencia son las transferasas. Estas enzimas inactivan los antimicrobianos (aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptogramina, macrólidos o rifampicina) por sustituciones químicas (adición de grupos adenilil, fosforil o acetil a la periferia de la molécula del antimicrobiano). Los antimicrobianos modificados poseen una capacidad deteriorada de unión a su molécula objetivo. Entre estas estrategias químicas se encuentran O-acetilaciones y N-acetilaciones [68, 69], O-fosforilaciones [62], O-nucleotidilaciones [70], O-ribosilaciones, O-glicosilaciones y tiol
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

transferencias. Todas estas modificaciones requieren como cosustrato ATP, acetil-CoA, NAD⁺, UDP-glucosa o glutatión para su actividad y por ello estos procesos solo se llevan a cabo en el citoplasma.

3. Resistencia antimicrobiana vía modificación del blanco: el segundo mayor mecanismo de resistencia es la modificación del sitio de acción del antimicrobiano, así este es incapaz de unirse correctamente. Aun así, es posible que mediante mutaciones ocurra un cambio en la molécula objetivo que reduzca la susceptibilidad de inhibición mientras se mantiene la función celular [71].

Genética de la resistencia antimicrobiana

1. Resistencia vía mutaciones: Existe un sustancial número de mecanismos bioquímicos de resistencia antimicrobiana basados en eventos mutagénicos, como lo son las mutaciones de las secuencias de genes que codifican el blanco de ciertos antimicrobianos (por ejemplo la resistencia a la rifampicina y a las fluoroquinolonas es causada por la mutación en los genes blanco de esas moléculas, RpoB y ADN-

- topoisomerasas, respectivamente) [72]. Las variaciones en la expresión del consumo de antimicrobianos o los sistemas de eflujo también pueden ser modificados por mutaciones (por ejemplo la expresión reducida o la completa ausencia de la porina OprD de *Pseudomonas aeruginosa* reduce la permeabilidad de la pared celular a carbapenémicos) [73].
2. Resistencia antimicrobiana vía transferencia horizontal de genes: uno de los principales mecanismos mediante los cuales se ha expandido la resistencia antimicrobiana es la transferencia horizontal de material genético. La resistencia puede ser transferida por mecanismos directos como la conjugación, la transformación o la transducción. En los últimos 15 años, las enzimas β -lactamasas que tienen un espectro extendido de actividad (BLEE) contra la mayoría de β -lactámicos, incluyendo cefalosporinas pero no carbapenémicos, han evolucionado. Una de estas es la CTX-M-15, encontrada inicialmente en *E. coli* pero ahora se puede hallar en otros miembros de las *Enterobacteriaceae* y se asocia
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

comúnmente con un linaje específico, el clon uropatogénico ST131 [74, 75] que se ha expandido a nivel mundial.

CONCLUSIONES

Es importante conocer y determinar la resistencia antimicrobiana de bacterias causantes de IAAS, sobretodo en pacientes oncológicos, debido a que éstos, por su condición, son más susceptibles a adquirir una IAAS. Tanto las infecciones como la resistencia antimicrobiana generan gastos y deterioran los programas de atención de la salud. Es por esto, que deben elaborarse protocolos para mantener la eficacia terapéutica mediante la detección y la identificación oportuna de los microorganismos causantes de IAAS y de los genes asociados a la resistencia a diferentes antimicrobianos empleados para el tratamiento de dichas infecciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Unahalekhaka, A. *Epidemiología de las infecciones asociadas a la atención en salud*. 2014; Available from: http://theifc.org/wp-content/uploads/2014/08/Spanish_ch3_PRESS.pdf.

2. Zembower, T.R., *Epidemiology of infections in cancer patients*. Cancer Treat Res, 2014. **161**: p. 43-89.
 3. Emmanouilides, C. and J. Glaspy, *Oportunistic infections in oncology patients*. Hematology /Oncology Clinics of North America, 1996. **10**(4): p. 841-861.
 4. Klastersky, J. and M. Aoun, *Opportunistic infections in patients with cancer*. Ann Oncol, 2004. **15 Suppl 4**: p. iv329-35.
 5. Luyt, C.-E., et al., *Antibiotic stewardship in the intensive care unit*. Critical Care, 2014. **18**.
 6. Shorr, A.F., *Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit*. Crit Care Med, 2009. **37**(4): p. 1463-9.
 7. Wiles, T.J., R.R. Kulesus, and M.A. Mulvey, *Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli*. Exp Mol Pathol, 2008. **85**(1): p. 11-9.
 8. Croxen, M.A. and B.B. Finlay, *Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(1): p. 26-38.
 9. Nicolas-Chanoine, M.H., X. Bertrand, and J.Y. Madec, *Escherichia coli ST131, an intriguing clonal group*. Clin Microbiol Rev, 2014. **27**(3): p. 543-74.
 10. Gupta, V., *An update on newer beta-lactamases*. Indian Journal of Medical Research, 2007. **126**(5): p. 417-427.
 11. Jacoby, G.A. and L.S. Munoz-Price, *The New beta-lactamases* The new england journal of medicine, 2005. **352**: p. 380-391.
 12. Perez, F., et al., *The Continuing Challenge of ESBLS*. Curr Opin Pharmacol, 2007. **7**(5): p. 459–469.
 13. Bush, K., G.A. Jacoby, and A.A. Medeiros, *A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995. **39**(6): p. 1211–1233.
 14. Blahna, M.T., et al., *The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic Escherichia coli in Europe and Canada*. J Antimicrob Chemother, 2006. **57**(4): p. 666-72.
 15. Datta, N. and P. Kontomichalou, *Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae*. Nature, 1965. **208**(5007): p. 239-241.
 16. Sirot, D., et al., *Resistance to Beta-Lactams in Enterobacteriaceae: Distribution of Phenotypes Related to Beta-Lactamase Production* Journal of International Medical Research, 1986. **14**(4): p. 193-199.
 17. Pitton, J., *Mechanism of bacterial resistance to*
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

- antibiotics. Rev Physiol, 1972. **65**: p. 15–93.
18. Cué, M., M. Morejón, and R. Salup, *Actualidad de las quinolonas*. Revista Cubana de Farmacia, 2005. **39(1)**.
19. Emmerson, A. and A. Jones, *The quinolones: decades of development and use*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **51**: p. 13–20.
20. Andersson, M. and A. MacGowan, *Development of the quinolones*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **51**: p. 1–11.
21. Michon, A., et al., *Plasmidic qnrA3 Enhances Escherichia coli Fitness in Absence of Antibiotic Exposure*. PLoS ONE, 2011. **6(9)**.
22. Kim, H.B., et al., *Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009. **53(2)**: p. 639–645.
23. Poirel, L. and P. Nordmann, *Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology*. Clin Microbiol Infect, 2006. **12(9)**: p. 826-36.
24. Okumura, R., et al., *Quinolone induction of qnrVS1 in Vibrio splendidus and plasmid-carried qnrS1 in Escherichia coli, a mechanism independent of the SOS system*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011. **55(12)**: p. 942–5945.
25. Arabi, H., et al., *Sulfonamide Resistance Genes (sul) M in Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and Non-ESBL Producing Escherichia coli Isolated From Iranian Hospitals*. Jundishapur Journal of Microbiology, 2015. **8(7)**.
26. Tzouvelekis, L.S., et al., *Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions*. Clin Microbiol Rev, 2012. **25(4)**: p. 682-707.
27. Broberg, C.A., M. Palacios, and V.L. Miller, *Klebsiella a long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter*. F1000Prime Reports, 2014.
28. Weiner, L.M., et al., *Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2016. **37(11)**: p. 1288-1301.
29. Doyle, J.S., et al., *Epidemiology of infections acquired in intensive care units*. Semin Respir Crit Care Med, 2011. **32(2)**: p. 115-38.
30. Sacha, P., et al., *Profiles of phenotype resistance to antibiotic other than β-lactams in Klebsiella pneumoniae ESBLs-producers, carrying blaSHV genes*. Folia Histochemica et Cytobiologica, 2010. **48(4)**: p. 663-666.
31. Sacha, P.T., et al., *Genetic similarity and antimicrobial*
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

- susceptibility of Klebsiella pneumoniae-producing carbapenemase (KPC-2) isolated in different clinical specimens received from University Hospitals in Northeastern Poland.* African Journal of Microbiology Research, 2012. **6(41)**: p. 6888-6892.
32. McDermott, H., et al., *Isolation of NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae in Ireland.* Euro Surveill, 2011.
33. Naas, T., et al., *Genetic structures at the origin of acquisition of the beta-lactamase bla KPC gene.* Antimicrob Agents Chemother, 2008. **52**(4): p. 1257-63.
34. Rodríguez, E.C., et al., *Diseminación de Klebsiella pneumoniae productoras de KPC-3 en hospitales de Bogotá durante un periodo de tres años.* Biomédica, 2014. **34**(0): p. 224.
35. Paterson, D.L. and R.A. Bonomo, *Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update.* Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(4): p. 657-86.
36. Jacoby, G.A., et al., *Temporal appearance of plasmid-mediated quinolone resistance genes.* Antimicrob Agents Chemother, 2009. **53**(4): p. 1665-6.
37. Kumar, V., et al., *Comparative genomics of Klebsiella pneumoniae strains with different antibiotic resistance profiles.* Antimicrob Agents Chemother, 2011. **55**(9): p. 4267-76.
38. Almaghrabi, R., et al., *Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains exhibit diversity in aminoglycoside-modifying enzymes, which exert differing effects on plazomicin and other agents.* Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(8): p. 4443-51.
39. Soheili, V., et al., *Investigation of Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing signaling system for identifying multiple inhibitors using molecular docking and structural analysis methodology.* Microb Pathog, 2015. **89**: p. 73-8.
40. Aloush, V., et al., *Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa: risk factors and clinical impact.* Antimicrob Agents Chemother, 2006. **50**(1): p. 43-8.
41. Carmeli, Y., et al., *Health and economic outcomes of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa.* American Medical Association, 1999. **159**: p. 1127-1132.
42. Hong, D.J., et al., *Epidemiology and Characteristics of Metallo-beta-Lactamase-Producing Pseudomonas aeruginosa.* Infect Chemother, 2015. **47**(2): p. 81-97.
43. Bert, F., *Identification of PSE and OXA beta-lactamase genes in Pseudomonas aeruginosa using PCR-restriction fragment length polymorphism.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2002. **50**(1): p. 11-18.
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

44. Martinez, E., et al., *Emerging and existing mechanisms cooperate in generating diverse beta-lactam resistance phenotypes in geographically dispersed and genetically disparate Pseudomonas aeruginosa strains*. *J Glob Antimicrob Resist*, 2013. **1**(3): p. 135-142.
45. Tada, T., et al., *novel 6'-n-aminoglycoside acetyltransferase AAC(6')-laj from a clinical isolate of Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. **57**(1): p. 96-100.
46. Cho, H.H., et al., *Correlation between virulence genotype and fluoroquinolone resistance in carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Lab Med*, 2014. **34**(4): p. 286-92.
47. Gould, I.M., *The epidemiology of antibiotic resistance*. *Int J Antimicrob Agents*, 2008. **32 Suppl 1**: p. S2-9.
48. Seifert, H., et al., *Antimicrobial susceptibility of Acinetobacter species*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1993. **37**(4): p. 750-753.
49. Vila, J., et al., *In vitro antimicrobial production of beta-lactamases of Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1993. **37**(1): p. 138-141.
50. Alsultan, A.A., et al., *Acinetobacter baumannii: emergence of four strains with novel bla(OXA-51-like) genes in patients with diabetes mellitus*. *J Chemother*, 2009. **21**(3): p. 290-5.
51. Koh, T.H., et al., *IMP-4 and OXA beta-lactamases in Acinetobacter baumannii from Singapore*. *J Antimicrob Chemother*, 2007. **59**(4): p. 627-32.
52. Heritier, C., et al., *Characterization of the naturally occurring oxacillinase of Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. **49**(10): p. 4174-9.
53. Turton, J.F., et al., *The role of ISAb1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006. **258**(1): p. 72-7.
54. Gordon, N.C. and D.W. Wareham, *Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: mechanisms of virulence and resistance*. *Int J Antimicrob Agents*, 2010. **35**(3): p. 219-26.
55. Dijkshoorn, L., A. Nemec, and H. Seifert, *An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 2007. **5**(12): p. 939-51.
56. Moniri, R., et al., *Molecular Epidemiology of Aminoglycosides Resistance in Acinetobacter Spp. with Emergence of Multidrug-Resistant Strains*. *Iranian Journal of Public Health*, 2010. **39**(2): p. 63-68.
57. Nemec, A., et al., *Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European*
1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

58. *Acinetobacter baumannii* clones. *J Med Microbiol*, 2004. **53**(Pt 12): p. 1233-40.
59. Kong, K.F., L. Schneper, and K. Mathee, *Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology*. *APMIS*, 2010. **118**(1): p. 1-36.
60. Lister, J., *XVI.—A Contribution to the Germ Theory of Putrefaction and other Fermentative Changes, and to the Natural History of *Torulæ* and Bacteria*. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 2013. **27**(03): p. 313-344.
61. Roberts, W., *Studies on Biogenesis*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1874. **164**: p. 457-477.
62. Tyndall, J., *The Optical Deportment of the Atmosphere in relation to the Phenomena of Putrefaction and Infection*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1876. **166**.
63. Shaikh, S., et al., *Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment*. *Saudi J Biol Sci*, 2015. **22**(1): p. 90-101.
64. Fisher, J.F. and S. Mobashery, *Enzymology of Bacterial Resistance*. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, 2010: p. 443-487.
65. Bonnet, R., *Growing Group of Extended-Spectrum - Lactamases: the CTX-M Enzymes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003. **48**(1): p. 1-14.
66. Grossman, T.H., et al., *Fluorocycline TP-271 Is Potent against Complicated Community-Acquired Bacterial Pneumonia Pathogens*. *mSphere*, 2017. **2**(1).
67. Yang, W., et al., *TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics*. *J Biol Chem*, 2004. **279**(50): p. 52346-52.
68. Vetting, M.W., et al., *A bacterial acetyltransferase capable of regioselective N-acetylation of antibiotics and histones*. *Chem Biol*, 2004. **11**(4): p. 565-73.
69. Schwarz, S., et al., *Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol*. *FEMS Microbiol Rev*, 2004. **28**(5): p. 519-42.
70. Brisson-Noel, A., et al., *Inactivation of lincosaminide antibiotics in *Staphylococcus*. Identification of lincosaminide O-nucleotidyltransferases and comparison of the corresponding resistance genes*. *The Journal Of Biological Chemistry*, 1988. **263**(31): p. 15880-15887.

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.

71. Spratt, B.G., *Resistance to Antibiotics Mediated by Target Alterations*. Science, 1994. **264**: p. 388-393.
72. Ruiz, J., *Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection*. J Antimicrob Chemother, 2003. **51**(5): p. 1109-17.
73. Wolter, D.J., N.D. Hanson, and P.D. Lister, *Insertional inactivation of oprD in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa leading to carbapenem resistance*. FEMS Microbiol Lett, 2004. **236**(1): p. 137-43.
74. Bush, K. and J.F. Fisher, *Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new beta-lactamases from gram-negative bacteria*. Annu Rev Microbiol, 2011. **65**: p. 455-78.
75. Woodford, N., E.J. Fagan, and M.J. Ellington, *Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum (beta)-lactamases*. J Antimicrob Chemother, 2006. **57**(1): p. 154-5.

1. Estudiantes de Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Tecnológica de Pereira.