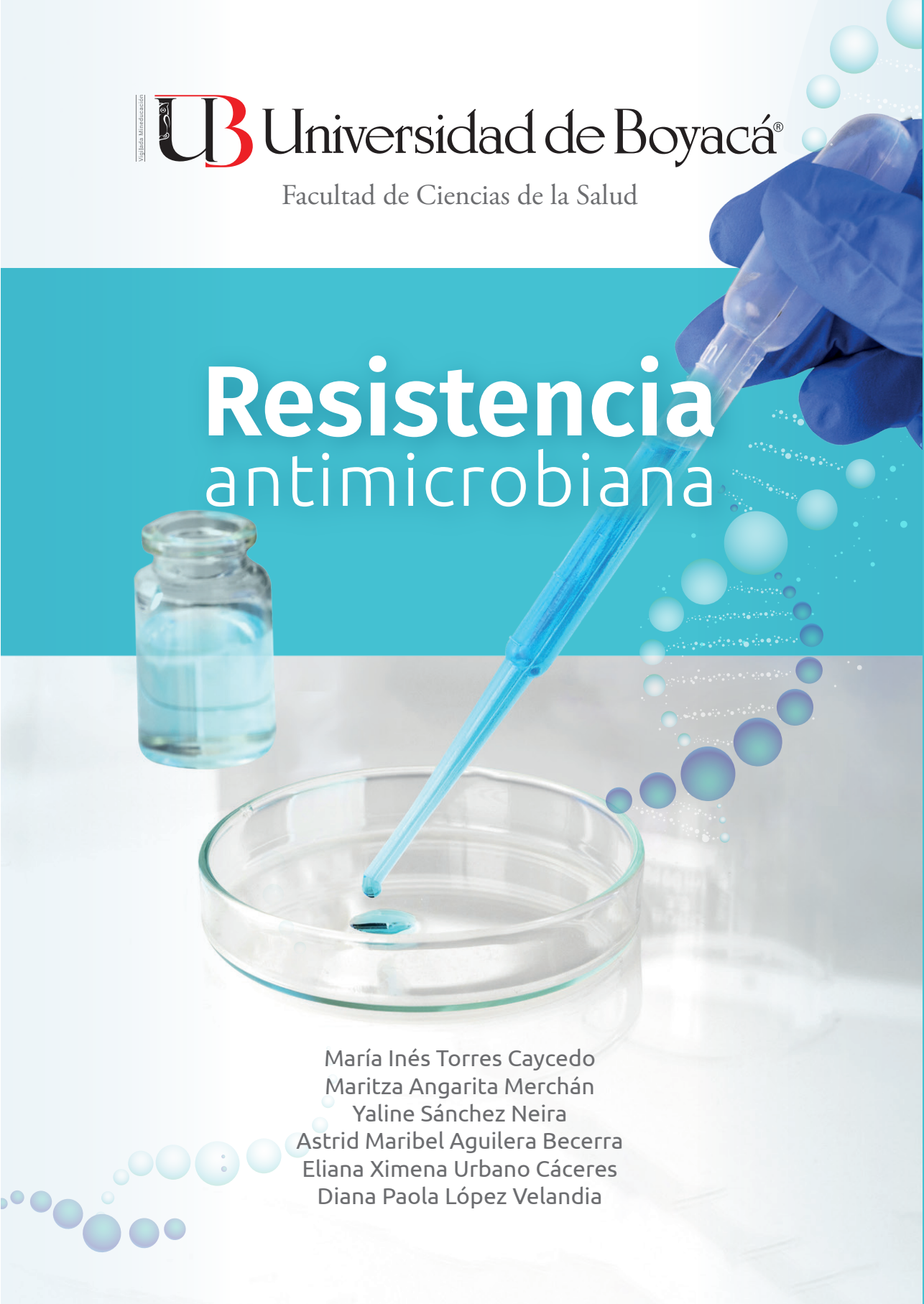


Resistencia antimicrobiana



María Inés Torres Caycedo
Maritza Angarita Merchán
Yaline Sánchez Neira
Astrid Maribel Aguilera Becerra
Eliana Ximena Urbano Cáceres
Diana Paola López Velandia

Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Torres Caycedo, María Inés, autora

Resistencia antimicrobiana / María Inés Torres Caycedo [y otros cinco]. -- Tunja: Ediciones Universidad de Boyacá, [2025].

160 páginas.

Incluye referencias bibliográficas al final de cada capítulo --
Texto en español con resumen en inglés.

ISBN 978-958-5120-69-3 (físico) -- 978-958-5120-67-9 (digital)

1. Resistencia a los medicamentos en microorganismos -
Prevención - Enseñanza 2. Microorganismos - Efecto de los
antibióticos 3. Antibióticos - Efectos fisiológicos I. Angarita
Merchán, Maritza, autora II. Sánchez Neira, Yaline, autora III.
Aguilera Becerra, Astrid, autora IV. Urbano Cáceres, Eliana
Ximena, autora V. López Velandia, Diana Paola, autora

CDD: 616.9041 ed. 23

CO-BoBN- a1145941

Resistencia antimicrobiana



María Inés Torres Caycedo

Maritza Angarita Merchán

Yaline Sánchez Neira

Astrid Maribel Aguilera Becerra

Eliana Ximena Urbano Cáceres

Diana Paola López Velandia

Presidente

Dr. Osmar Correal Cabral

Rectora

Dra. Rosita Cuervo Payeras

Vicerrector Académico

Ing. MSc. Carlos Rafael Lara Mendoza

**Vicerrector Proyección Institucional y
Administrativo y de Infraestructura**

Dr. Camilo Correal Cuervo

**Vicerrectora Investigación, Ciencia
e innovación**

Dra. Claudia Patricia Quevedo Vargas

Decana Facultad Ciencias de la Salud

Dra. Gloria Eugenia Camargo Villalba

**Directora del Centro de Investigaciones
para el Desarrollo "CIPADE"**

Dra. Elisa Andrea Cobo Mejía

© Los autores

María Inés Torres Caycedo

Maritza Angarita Merchán

Yaline Sánchez Neira

Astrid Maribel Aguilera Becerra

Eliana Ximena Urbano Cáceres

Diana Paola López Velandia

Gestión editorial, diseño y diagramación

División de Publicaciones

Director División de Publicaciones

Ing. D.G. Mg. Johan Camilo Agudelo Solano

Gestión editorial

Mg. Natalia Elizabeth Cañizalez Mesa

Corrección de texto y estilo

Lit. Mg. Diva Marcela Piamba Tulcán

Diseño y diagramación

D.G. Carolina Solórzano Pulido

© Ediciones Universidad de Boyacá

Carrera 2ª. Este N° 64-169

Tels.: 608 7452742 - 7450000 Ext. 15405

www.uniboyaca.edu.co

publicaciones@uniboyaca.edu.co

Tunja-Boyacá-Colombia

ISBN físico: 978-958-5120-69-3

ISBN digital: 978-958-5120-67-9

Esta edición y sus características gráficas son propiedad de la

UB Universidad de Boyacá®

Vigilada Mineducación

© 2025

Queda prohibida la reproducción parcial o total de este libro, por medio de cualquier proceso reprográfico o fónico, especialmente fotocopia, microfilme, offset o mimeógrafo (Ley 23 de 1982).

Presentación

Tengo al gusto de presentar la publicación “Resistencia Antimicrobiana” que es el resultado del trabajo del Grupo de Investigación del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico GRIBAC de la Universidad de Boyacá.

Las investigadoras María Inés Torres Caycedo, Maritza Angarita Merchán, Yaline Sánchez Neira, Astrid Aguilera Becerra, Eliana Ximena Urbano Cáceres y Diana Paola López Velandia, mediante investigación aplicada lograron tener “evidencia de la dinámica de circulación de los diferentes mecanismos de la Resistencia Antimicrobiana (RAM), del cambio epidemiológico y de las posibles opciones de manejo” de un grandísimo problema que afecta la salud pública de los colombianos.

Su esmerado trabajo no se limitó con la revisión de la literatura sino que realizaron una cuidadosa investigación con aislamientos bacterianos de tipo clínico tanto de humanos como de animales, y describen los ensayos de laboratorio para encontrar la respuesta de bacterias aisladas a diferentes sustancias biocidas de los 22 tipos de productos que normalmente se utilizan, tales como antibióticos, desinfectantes, conservantes, plaguicidas u otros como los que se usan en la agricultura.

La gran amenaza que se cierne sobre la humanidad es la resistencia bacteriana hoy día agrupadas en las Gram positivas y en las Gram negativas, porque a pesar de los avances científicos y tecnológicos se encuentran infecciones bacterianas multiresistentes que son de difícil tratamiento.

Esta investigación fue revisada y avalada por Comité de Bioética de la Universidad de Boyacá para asegurar la protección de las personas y de los animales y asegurar la confidencialidad de la información recolectada.

Estoy seguro que esta publicación va a ser de una gran utilidad para los profesores, investigadores y científicos del país y del exterior.

Osmar Correal Cabral
Presidente Universidad de Boyacá

Listado de abreviaturas

A: Alanina

a.C: Antes de Cristo

BLEE: Betalactamasas de espectro extendido

C: Cisteína

D: Aspartato

E: Glutamato

G: Glicina

I: Isoleucina

IAAS: Infecciones asociadas a la atención en salud

L: Leucina

LPS: Lipopolisacárido

M: Metionina

MBL: Metalobetalactamasas

N: Asparagina

NCA: no- *Candida albicans*

P: Prolina

PBP: Proteína unión a la penicilina

Q: Glutamina

R: Arginina

RAM: Resistencia Antimicrobiana

S: Serina

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

SCC mec: *Staphylococcal* Cassette Chromosome mec

V: Valina

VISA: *Staphylococcus aureus* resistente intermedia a la vancomicina

Y: Tirosina

Resumen

En el enfoque de una sola salud, la Resistencia Antimicrobiana (RAM) es una problemática vigente y de alto impacto, al ser un proceso biológico cíclico y bidireccional entre los ambientes humano, animal y ambiental. El grupo de Investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico (GRIBAC) de la Universidad de Boyacá, mediante investigación aplicada, aporta evidencia de la dinámica de la circulación de los diferentes mecanismos de RAM, del cambio epidemiológico y de las posibles opciones de manejo ante este problema de salud pública. En este documento se presentan resultados de investigación y estudio: de manera secuencial se describen las determinaciones fenotípicas y los genes relacionados con mecanismos de resistencia, perfiles de resistencia y determinantes genéticos de la RAM en aislamientos bacterianos de origen clínico humano y animal (capítulos 1 y 2); asimismo, se describen y se presentan ensayos de laboratorio de la respuesta de bacterias aisladas de alimentos y de origen clínico a sustancias biocidas, mediante mecanismos específicos relacionados con la tolerancia a estas sustancias (capítulo 3). Finalmente, la revisión de la literatura se complementa con el estudio de los principales mecanismos de resistencia de levaduras potencialmente patógenas, pertenecientes al género *Cándida*. Se concluye que la circulación de la RAM en los ambientes muestreados por el grupo de investigación es de potencial riesgo y se hace necesario dar continuidad a la búsqueda de estrategias de contención que integren la salud humana, animal y ambiental.

Palabras Clave: bacteria, bacterias Gram negativas, bacterias Gram positivas, farmacorresistencia microbiana, genes, ADN, transferencia horizontal de genes, compuestos químicos, biocida, resistencia, *Cándida*, fungemia, candidemia, una sola salud (Palabras validadas en DeCS: Descriptores en Ciencias de la Salud / MeSH)

Summary

In the one-health approach, Antimicrobial Resistance (AMR) is a current and high-impact problem, as it is a cyclical and bidirectional biological process between human, animal, and environmental environments. The Research Group of the Bacteriology and Clinical Laboratory Program (GRIBAC) of the University of Boyacá, through applied research, provides evidence of the dynamics of the circulation of the different mechanisms of antimicrobial resistance (AMR), the epidemiological change and possible Management options for this public health problem. Research and study results are presented, sequentially describing the phenotypic determinations and genes related to resistance mechanisms, resistance profiles, and genetic determinants of AMR in bacterial isolates of human and animal clinical origin (Chapters 1 and 2); Laboratory tests of the response of bacteria isolated from food and of clinical origin to biocidal substances are described and presented, addressing specific mechanisms related to tolerance to these substances (Chapter 3). Finally, through a review of the literature, it is complemented by the study of the main resistance mechanisms of highly pathogenic yeasts belonging to the genus *Candida*. It is concluded that the circulation of AMR in the environments sampled by the research group is of potential risk and it is necessary to continue to search for containment strategies that integrate human, animal and environmental health.

Key words: Bacteria, Gram-Negative Bacteria, Gram-Positive Bacteria, Drug Resistance, Microbial, Genes, DNA, Gene Transfer Horizontal, Chemical Compounds, biocide, resistance, *Candida*, Fungemia, Candidemia, One Health.

Presentación	3
Listado de abreviaturas.....	5
Resumen.....	7
Summary	9
Tabla de Contenido	10
Introducción a la resistencia antimicrobiana	13
Uso histórico de los antibióticos	17
Referencias	28
CAPÍTULO I. Mecanismos de resistencia bacteriana.....	33
Introducción	35
Mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas.....	37
Resistencia en enterococos	44
Resistencia en <i>Streptococcus pneumoniae</i> [S. pneumoniae].....	48
Resistencia en <i>Streptococcus</i> sp. a betalactámicos....	49
Mecanismos de resistencia en Gram negativos.....	50
Discusión	59
Conclusiones.....	62
Consideraciones Éticas	63
Referencias	64

CAPÍTULO II. Determinantes genéticos de la resistencia bacteriana 71

Introducción	73
Genes de resistencia en bacterias Gram negativas....	76
Gen ^{bla} VIM	82
Genes de resistencia en bacterias Gram positivas....	85
Materiales y métodos: investigaciones realizadas por GRIBAC	89
Resultados	91
Discusión	94
Conclusiones.....	96
Consideraciones éticas	98
Referencias	99

CAPÍTULO III. Mecanismos de tolerancia a biocidas y métodos de evaluación de la tolerancia..... 107

Introducción	109
Biocidas	110
Tolerancia / Resistencia a biocidas	116
Materiales y métodos.....	123
Resultados	125
Discusión	131
Conclusiones.....	133
Consideraciones éticas	134
Referencias	135

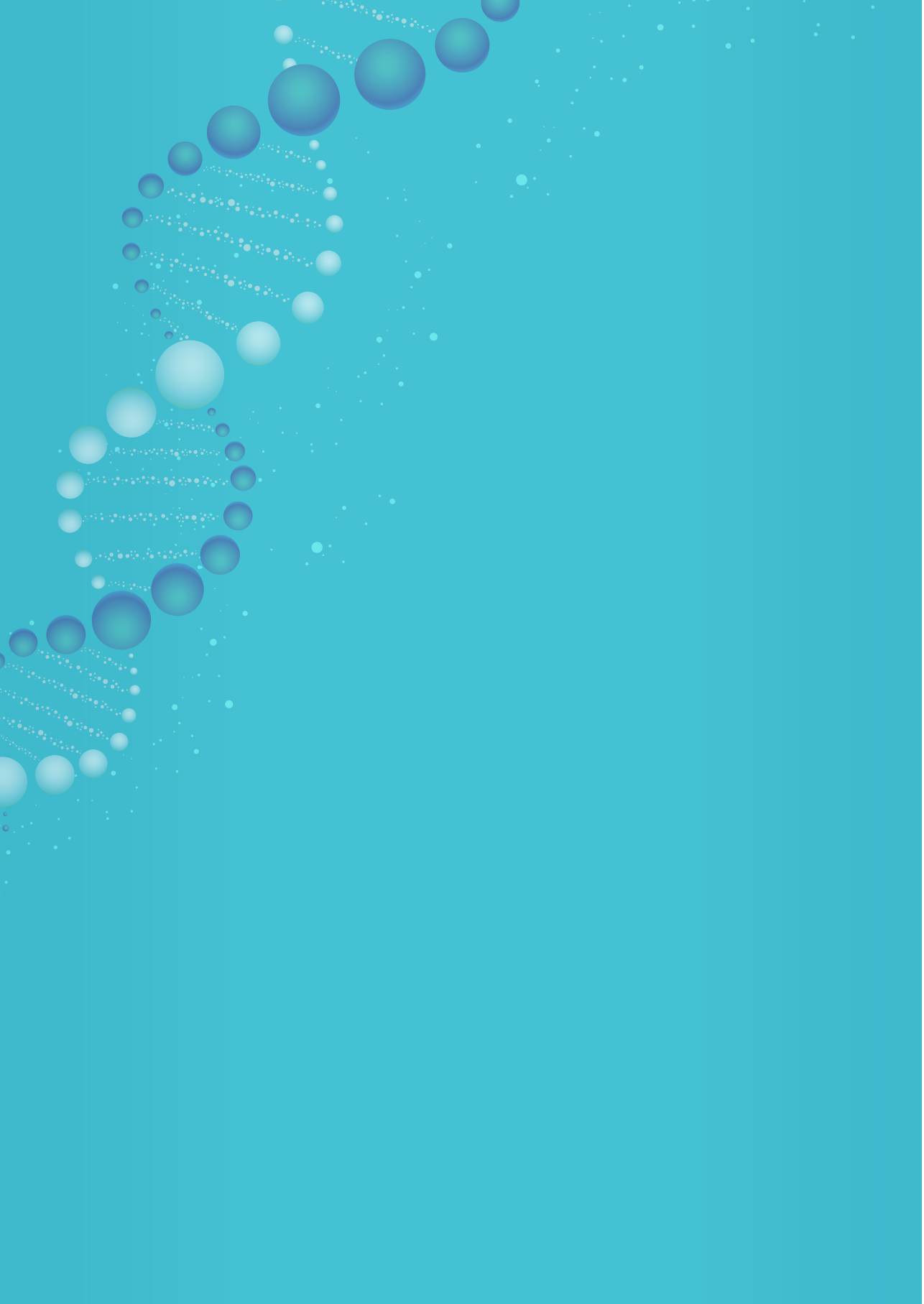
CAPÍTULO IV. Resistencia antimicrobiana en levaduras..... 141

Introducción	143
Alteración de las enzimas que permiten la síntesis del ergosterol	149
Conclusiones.....	155
Consideraciones éticas	155
Referencias	156



Introducción a la resistencia antimicrobiana





La evolución humana ha sido acompañada de manera permanente por microorganismos considerados primitivos, residentes en la microbiota del cuerpo y en múltiples ambientes. Su beneficio para la humanidad es evidente, a la vez que el riesgo y la amenaza que representan para la salud humana, animal y ambiental, al tener interacciones con resultados negativos (infecciones), por eso, además de estudiar su biología y determinar sus beneficios en el equilibrio de los ecosistemas que influyen en la conservación de la salud humana, animal y ambiental, se explora cuáles son las estrategias que contrarrestan los efectos negativos de su interacción; es por ello que, se han desarrollado sustancias con acción de inhibición en el crecimiento y control de las cargas microbianas, buscando mayor precisión en la actividad antimicrobiana, toda vez que, por la presión antibiótica o biocida, los microorganismos evolucionan y por medio de la maquinaria genética expresan procesos bioquímicos que contrarrestan la acción inhibitoria, conocida como la Resistencia Antimicrobiana (RAM).

De manera paralela al surgimiento de las infecciones y al cambio de perfiles epidemiológicos relacionados con las enfermedades infecciosas, se desarrollan las sustancias antibióticas y anti fúngicas; estas generan la constante exposición en el uso humano, veterinario, agrícola e industrial a las sustancias con efecto antibiótico o biocida, lo que conlleva la bioacumulación y el flujo permanente y bidireccional de trazas de las sustancias microbicidas en los diferentes ambientes en donde las acciones antropogénicas han involucrado estas aplicaciones (figura 1).

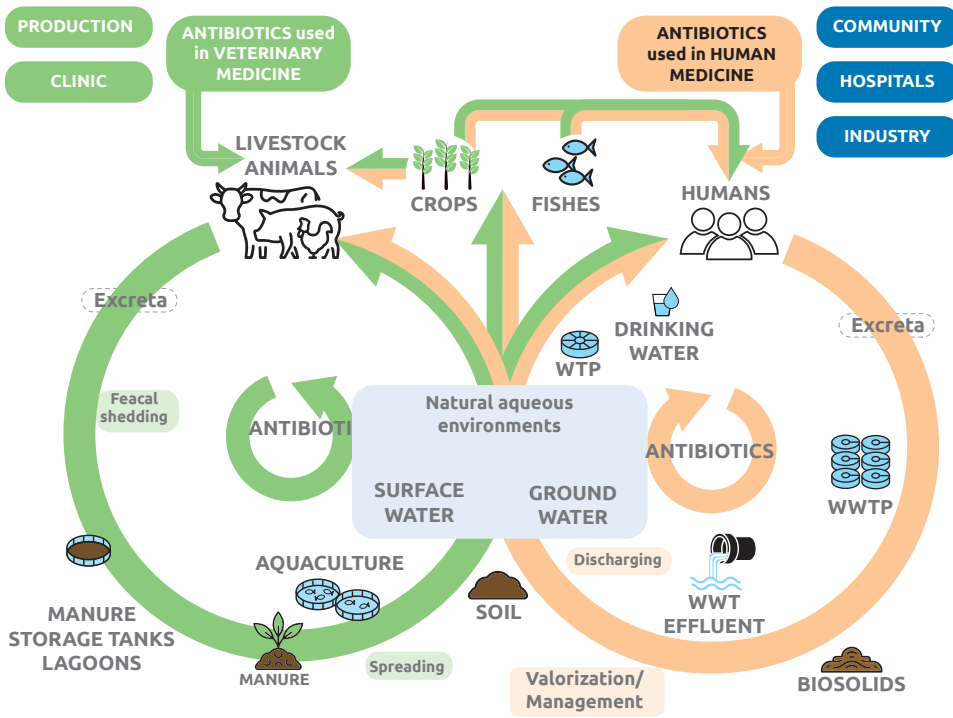


Figura 1. Flujo de la presión antibiótica y microbiana en diferentes ambientes
Fuente: elaboración propia.

Por medio de heces, fluidos procedentes de los animales, efluentes domésticos, hospitalarios o industriales y aguas de escorrentía, las trazas de antibióticos o metabolitos activos de sustancias biocidas procedentes del uso para el control de infecciones, actividades industriales, atención en medicina veterinaria y producción pecuaria, que incluye la actividad piscícola y avícola, caen a los suelos y a fuentes de agua receptoras, lo que origina el cambio en algunos de los grupos bacterianos del microbioma de los suelos (Hou *et al.*, 2015; Sahoo *et al.*, 2019). Además de la resistencia natural y el flujo de la presión selectiva en las interfaces de los ambientes humano, animal y ambiental, los microorganismos han evolucionado por la mediación de las sustancias antimicrobianas en este sistema interconectado; el uso

permanente de estas sustancias tiende a la reducción de la biodiversidad y a la selección de grupos de microorganismos por la modificación del resistoma, que codifica mecanismos más evolucionados y efectivos que contrarrestan la acción microbicida y potencian a la vez los determinantes de patogenicidad y de virulencia en todos los ambientes (Gudda *et al.*, 2020; Jurelevicius *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2019), lo anterior se traduce en cambios en los microbiomas animal, ambiental y en el del hombre, lo que promueve el riesgo de la presencia de bacterias y hongos multirresistentes y la reducción de las opciones terapéuticas frente a los agentes infecciosos (McInnes *et al.*, 2020; Kim, D. W., & Cha, C. J., 2021).

Seguirá vigente la investigación científica y la inversión de recursos y esfuerzos humanos para el logro de la supervivencia entre las especies; en los múltiples estudios realizados para la búsqueda de la comprensión y el control de la RAM, se ha determinado la resistencia como problema global, atendiendo a los costos económicos en términos de morbilidad y mortalidad, por eso, se promueve la planeación de estrategias de contención e investigación básica en la biología de los microorganismos, e investigación aplicada respecto a la proyección de estrategias para la formulación de políticas en salud humana, animal y ambiental que modifiquen, controlen o vigilen todas las acciones humanas frente al uso de las sustancias antimicrobianas y su relación con el medio ambiente, la educación, la prevención y la promoción.

Uso histórico de los antibióticos

El empleo de sustancias antibióticas se remonta a las prácticas de la medicina oriental, hace 2500 millones de años, con el uso de metabolitos de los mohos para el tratamiento de carbuncos, forúnculos e infecciones similares

(Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U., 2012); existen además reportes del uso de los mohos como productores de sustancias antibióticas desde los periodos neolítico y paleolítico (Ganeshpurkar *et al.*, 2010). El estudio micológico de la momia del hombre de hielo (momia de 3300 a. C.), encontrada en el paso Hauslabjoch (Austria-Italia >3.200 m.s.n.m), mostró restos metabólicos de los géneros de hongos *Fomes fomentarius* y *Piptoporusbetulinus*, este último utilizado como antiparasitario. Otro, posteriormente reportado en Grecia (I siglo e.c.), fue el *Fomitopsis officinalis*, hoy conocido como la quinina para el tratamiento de la tuberculosis (Capasso, 1998; Peintner *et al.*, 1998). Se suman a las evidencias los escritos antiguos persas que mencionan el líquido extraído de trufas (*Tuberaceae*), usado para el tratamiento de infecciones oculares (Vera Vidal *et al.*, 2011).

En hallazgos arqueológicos de los años 350 a 550 d. C. se han reportado restos de tetraciclina en huesos de esqueletos de una población de Nubia (Egipto). Por espectroscopia de masa, se identificó una posible relación con uno de los géneros bacterianos más estudiados: el *Streptomyces*, microorganismo asociado con la producción de la estreptomicina, que se encontraba en los granos y cereales consumidos en su régimen alimenticio; género bacteriano que además produce la estreptomicina considerada como una de las primeras opciones de elección en el tratamiento de la tuberculosis (Bassett *et al.*, 1980; Nelson *et al.*, 2010).

Entre los siglos XIX y XX se generaron desarrollos acelerados en relación con la producción de sustancias antimicrobianas, especialmente los antibióticos. El veterinario francés Jean Antonie Vuillemin en 1889 asoció la palabra *antibiosis* (antivida) como el antagonismo entre microorganismos. Por su lado, el microbiólogo Selman Abraham Waksman expuso la palabra *antibiótico* por primera vez en 1942 en su publicación titulada “*Distribution*

of antagonistic Actinomycetes in natura”, y posteriormente en 1943 en *Biological abstracts*, ambas relacionadas con el estudio del antibiótico estreptomicina, proveniente del *Streptomyces qinlingensis* (Waksman, *et al.*, 1942; Schatz *et al.*, 1944; Waksman & Flynn, 1973; Watve *et al.*, 2001).

En estudios bioarqueológicos se ha indicado la relación de las enfermedades infecciosas y las acciones de control que se han puesto en práctica desde la era neolítica con el desarrollo de la agricultura y el contacto con los animales. En la edad media, por ejemplo, los mecanismos de resistencia intrínseca o natural desarrollados por los microorganismos se remontan a dos mil millones de años atrás, gracias a la exploración de los mecanismos asociados a la transferencia de genes y al papel de los elementos genéticos móviles como plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación (Martínez & Baquero, 2002; Meynell *et al.*, 1968; Nelson *et al.*, 2010).

En los últimos dos siglos, las acciones para limitar la infección han comprendido la aplicación de medidas de higiene, el control epidemiológico, el desarrollo de vacunas y de manera significativa el desarrollo de los antibióticos, que representaron un impacto trascendental en el tratamiento de la enfermedad y la relación del hombre con los patógenos. La adaptación genética de los microorganismos se ha acelerado desde hace 80 años aproximadamente, como consecuencia del uso extensivo de las sustancias antibióticas. Los cambios fenotípicos han podido ser demostrados mediante estudios de cepas coleccionadas entre 1914 y 1950, periodo considerado como la “era preantibiótica”, expuestas a diferentes compuestos que evidenciaban su sensibilidad a los agentes antimicrobianos comunes (Hooper y Jacoby, 2016; López-Velandia *et al.*, 2018).

En esa era preantibiótica, el primer compuesto con actividad antimicrobiana lo identificó Paul Erlich (nobel 1908) en 1911: el salvarsán (R =3 diamino- 4.4- dihidroxiasenato – benceno), sintetizado por Berthelm y probado biológicamente por Hata. Los orígenes de este compuesto se remontan al año de 1863, cuando Peirre Bechamp aisló un compuesto entre el ácido arsénico y la anilina, menos tóxico que el arsénico inorgánico (atoxyl). Esto fue publicado en 1905, y se demostró su eficacia en el tratamiento de la “enfermedad del sueño” en África (Waksman y Flynn, 1973). Posteriormente, se aceleró el estudio y uso de la penicilina, de la cual en 1929 se tiene su primera publicación basada en los resultados de la investigación y observaciones de Alexander Fleming del hongo *Penicillium*, advertido en un cultivo bacteriano en estudio. Sin embargo, este hecho fue reportado 32 años antes de Fleming por el médico francés Ernest Duchesne, quién escribió su tesis doctoral en 1897: “*Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes: antagonisme entre les moisissures et les microbes*”. En ella Duchesne exponía las posibilidades terapéuticas de los hongos (género *Penicillium*) y su potencial antimicrobiano. Para el año 1957 se identifica el 6 amino-penicilánico (núcleo de las penicilinas) y un año después se inicia la síntesis de los derivados semisintéticos de la penicilina, como la meticilina, antibiótico que ha tenido amplio uso en el tratamiento de la sepsis intrahospitalaria por *Staphylococcus aureus* y que reporta un fenotipo de resistencia importante relacionado con un problema global en la actualidad (Batchelor *et al.*, 1959; Holden *et al.*, 2013).

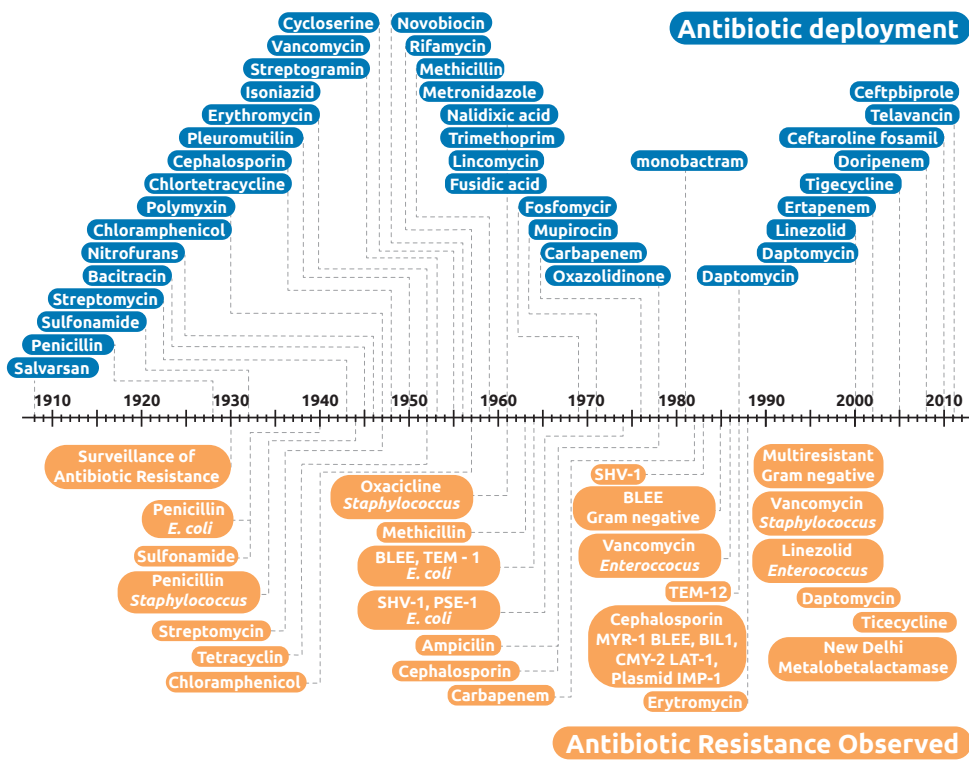
Se muestra un acelerado incremento en el descubrimiento de los antibióticos en la industria farmacéutica alemana con Gerhard Dogmak, quien sintetizó la primera sulfonamida (prontosil - 1932). Se reportaron los ensayos clínicos de su efectividad frente a estreptococos en animales de laboratorio y se introdujo su uso en pacientes con gonorrea

e infecciones por neumococo y estreptococo en el año 1940 (Loudon, 1987). Se retomó el amplio uso de la estreptomina proveniente del *Streptomyces griseus* estudiada por el norteamericano Alberth Israel Schatz, introducida y patentada para el tratamiento de la tuberculosis en 1947 (López-Velandia *et al.*, 2018). La rifampicina desarrollada en laboratorios italianos se produjo a partir de una modificación química de la rifamicina, metabolito natural de la *Nocardia mediterranei*, introducida para el tratamiento de infecciones por Gram positivos y en infecciones de vías biliares. Su principal aplicación ha sido en el tratamiento de la tuberculosis y la resistencia a este antibiótico fue reportada en 1993 (Sensi, 1983).

Otro grupo de estudio son los macrólidos descubiertos en 1942 por Gardner y Chain. El primer antibiótico de este grupo fue la pricomina. Diez años más tarde, a partir del *Streptomyces erythreus*, se obtuvo la eritromicina por McGuier y colaboradores en 1952, y a mediados de los años 50 se describió la resistencia a este antibiótico (Washington y Wilson, 1985).

La RAM en el contexto mundial se reporta posterior al uso de la penicilina en la primera guerra mundial. Para entonces surgieron las primeras bacterias resistentes que expresan las enzimas de resistencia de tipo β -lactamasas. Luego, en la década de los 60, la resistencia se amplió con el hallazgo de cepas con enzimas de β -lactamasas de espectro extendido como las de tipo Temoniera - TEM y la variable sulfhidrilo - SHV (Bush y Jacoby, 2010; Bradford, 2001). En el año 2008 se presentó la alarma mundial de una nueva enzima, la “New Delhi Metalobetalactamasa” (NDM), que confiere resistencia a todos los antibióticos betalactámicos, excepto aztreonam, novedad que se extendió en el continente americano (Oduro-Mensah *et al.*, 2016).

A continuación, se presenta en la figura 2 un paralelo entre el avance de los descubrimientos y la síntesis de sustancias antimicrobianas, y los mecanismos desarrollados por los microorganismos. Allí se evidencia la coevolución entre antibióticos y mecanismos de resistencia.



● **Figura 2.** Esquema de la coevolución de antibióticos – resistencia bacteriana
Fuente: Tomado de Prada, Torres y Castro (2015).

La expresión de los fenotipos de resistencia ha provocado el estudio de los genes relacionados, mediante el análisis de secuencias genómicas bacterianas. Se presume que existen cerca de 20.000, aunque funcionalmente la resistencia se expresa en muy pocos. El descubrimiento de secuencias de genes bacterianos putativos en genomas eucariotas y la identificación y distribución de islas genómicas de

patogenicidad identificadas en *Escherichia coli* encontradas en otros patógenos de animales, humanos y plantas han determinado la teoría de la transferencia horizontal de genes (Hacker y Kaper, 2000).

En la evolución bacteriana, la transferencia horizontal de genes es la adquisición de material genético de linajes no parenterales, este proceso conlleva rápidas modificaciones fenotípicas expresadas en mecanismos de virulencia y resistencia. Dicho flujo de genes ha generado la necesidad de determinar las frecuencias de estas transferencias e intercambios, y los factores que median o influyen.

Se ha demostrado que existe una red de 10.770 genes transferidos, detectados en 2.235 genomas bacterianos identificados; estudios ecológicos han permitido observar, por ejemplo, que se presenta 25 veces más transferencia horizontal de genes entre bacterias y humanos que entre cepas bacterianas no humanas, con ello se demuestra entonces un efecto en las características moleculares de la microbiota humana que, al ser explorado, proporciona información para el seguimiento de la resistencia y los genes asociados (Smillie *et al.*, 2011).

El método con el que las diferentes especies pueden transferirse información entre especies poco relacionadas es la conjugación, en la que están involucradas estructuras genéticas móviles como los plásmidos, bacteriófagos, transposones, integrones y casetes que trasladan genes responsables de la codificación de funciones para su propia transferencia o para otras como la RAM (Bennett, 2008; Carattoli, 2001; Hall, 1997). Los genes presentes en estos elementos determinan la selección de una población bacteriana (por presión selectiva del antibiótico). Algunos codifican además procesos metabólicos y moleculares que ponen de manifiesto factores como la síntesis de bacteriocinas, sideróforos y citoxinas que producen daño

tisular, inducen la necrosis o una respuesta apoptótica, y a la vez potencian la resistencia y la virulencia de la bacteria en el proceso infeccioso. La adquisición de los plásmidos asegura a la bacteria la capacidad de colonizar un nicho ecológico diferente y permite evadir la competencia con otras especies al minimizar el impacto que genera el nuevo elemento genético en la célula portadora, esto incrementa la capacidad invasiva de la cepa que ha evolucionado desde diferentes orígenes cromosómicos y garantiza la permanencia de fenotipos invasivos con las características de resistencia y virulencia provenientes de linajes separados; la transferencia se evidencia cuando se muestran los cambios fenotípicos en un género o especie determinada (Donnenberg y Whittam, 2001).

Como se observa, la evolución de la humanidad, los cambios de estilo de vida, las acciones antropogénicas y la transformación de los microorganismos han generado la aparición de nuevas infecciones o el recrudecimiento de las ya existentes, que se han tornado de difícil manejo y control con las alternativas terapéuticas vigentes. En ese constante cambio y por los procesos de adaptación del microbioma debidos a la presión ejercida por las sustancias de actividad antimicrobiana utilizadas en todos los ambientes, han surgido los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.

La evolución de la RAM, en el enfoque de una sola salud, está identificada como una de las problemáticas de mayor impacto, dado que en los entornos de salud humana, animal y ambiental (McEwen y Collignon, 2018; Miller *et al.*, 2022; de Mesquita, *et al.*, 2022; Larsson y Flach 2022) la transferencia de los mecanismos de resistencia tiene su comportamiento cíclico y bidireccional (Walsh, 2018); por eso, cualquiera de las acciones antropogénicas que se ejerzan en relación con el uso de los antimicrobianos aportan a los factores de riesgo de las enfermedades infecciosas causadas por microorganismos que expresan

RAM, pues aumentan la presión selectiva, consecuencia del uso no adecuado de sustancias antimicrobianas como los antibióticos, antifúngicos y biocidas, entre otros.

De acuerdo con el contexto anterior, y dando respuesta según la función, el aporte y los intereses de docentes investigadores, desde hace 10 años la RAM ha sido el proceso biológico de estudio del grupo de Investigación del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico (GRIBAC) de la Universidad de Boyacá; mediante investigación aplicada, durante este tiempo se ha expuesto la dinámica de la circulación de los diferentes mecanismos de resistencia antimicrobiana, se han evidenciado cambios en los perfiles epidemiológicos y se han explorado posibles opciones de manejo ante este problema de salud pública.

El grupo ha venido desarrollando la caracterización de la RAM en diferentes ambientes. Se le ha explorado en salud humana en el ambiente hospitalario y en comunidad, en salud animal en animales de compañía, en ambientes de producción pecuaria y de alimentos, y en el ambiente en suelos. El desarrollo de un macroproyecto de investigación ha generado diversos productos y ha mostrado la dinámica de la circulación de la RAM, caracterizando los fenotipos y determinando la presencia de genes relacionados, por eso se origina esta compilación, en la cual se socializa la experiencia del grupo de estudio y de investigación de la RAM, y se aporta evidencia de laboratorio y análisis documental.

El presente libro de investigación contiene cuatro capítulos: los tres primeros se desarrollan con el formato IMRYD (Introducción al tema, Materiales y métodos, Resultados, Discusión y adicionalmente Conclusiones) y el cuarto capítulo presenta una revisión crítica de tema que refleja el comportamiento actual de la resistencia a los antifúngicos por parte de las levaduras. El proceso de investigación se enmarca en los procesos y procedimientos establecidos por

la Universidad para la función de investigación, atendiendo a todas las consideraciones metodológicas, bioéticas y de manejo de recursos.

En los capítulos I y II se aborda la conceptualización de la resistencia bacteriana a los antibióticos, se desglosan teóricamente los mecanismos de los diferentes grupos de antibióticos y los géneros bacterianos con mayor representatividad, se presentan los resultados de los perfiles de susceptibilidad y fenotipos de resistencia obtenidos de la caracterización de aislamientos clínicos y de animales, y se presentan los determinantes genéticos asociados a los perfiles fenotípicos del ambiente hospitalario explorado. En estos capítulos se muestran las diferencias de los perfiles de susceptibilidad en los que difieren los antimicrobianos con bacterias Gram negativas y Gram positivas, en las regiones geográficas y entornos hospitalarios de cuatro proyectos de investigación que ilustran la existencia de un alto predominio de aislamientos de bacterias Gram negativas sobre los microorganismos Gram positivos, con evolución de la resistencia a los antibióticos; también, se presentan resultados de investigaciones para la detección molecular de genes que codifican la resistencia a los antibióticos a partir de aislamientos bacterianos de origen clínico humano y animal.

En el capítulo III se abordan los mecanismos mediante los cuales se ejerce tolerancia de los microorganismos a diferentes agentes químicos utilizados en diferentes entornos, principalmente a nivel hospitalario, este es uno de los temas que actualmente genera interés en el estudio y vigilancia en salud pública, y que se resuelve a través del diagnóstico molecular e identificación de genes que están caracterizados por mecanismos de resistencia a sustancias antibióticas y a la tolerancia a los biocidas. El abordaje incluye clasificación, mecanismos de acción y resultados de investigación con diferentes agentes químicos de origen sintético o natural sobre cepas bacterianas, se estudia el

tema de bombas de eflujo que facilitan el transporte de varios agentes químicos del interior al exterior de la bacteria, como un mecanismo celular especializado para contrarrestar la acción de sustancias antimicrobianas. Por último, se complementa con el estudio de los métodos de evaluación de la tolerancia a los biocidas, sustancias de uso frecuente en cosmética, desinfección, higienización para disminución de cargas microbianas en diferentes superficies y fómites en ambientes hospitalarios, domésticos e industriales.

Finalmente, en el capítulo IV se recopila literatura que evidencia los principales mecanismos de resistencia de levaduras potencialmente patógenas, pertenecientes al género *Candida*, estas tienen la capacidad de adquirir resistencia mediante dos mecanismos: la resistencia natural y la resistencia adquirida; este género es relevante por su impacto en el tratamiento de las infecciones en los entornos hospitalarios con resistencia a los azoles.

- Bassett, E. J., Keith, M. S., Armelagos, G. J., Martin, D. L., & Villanueva, A. R. (1980). Tetracycline-labeled human bone from ancient Sudanese Nubia (A.D. 350). *Science*, 209(4464), 1532–1534. <https://doi.org/10.1126/science.7001623>
- Batchelor, F. R., Doyle, F. P., Nayler, J. H. C., & Rolinson, G. N. (1959). Synthesis of penicillin: 6-Aminopenicillanic acid in penicillin fermentations. *Nature*, 183(4656), 257–258. <https://doi.org/10.1038/183257b0>
- Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, 153(SUPPL. 1), S347–S357. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933–951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Capasso, L. (1998). 5300 years ago, the Ice Man used natural laxatives and antibiotics. *The Lancet*, 352(9143), 1864. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)79939-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)79939-6)
- Carattoli, A. (2001). Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary Research*, 32(3/4), 243–259. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001122>
- de Mesquita Souza Saraiva, M., Lim, K., do Monte, D. F. M., Givisiez, P. E. N., Alves, L. B. R., de Freitas Neto, O. C., Kariuki, S., Berchieri Junior, A., Bruno de Oliveira, C. J. & Gebreyes, W. A. (2022). Antimicrobial resistance in the globalized food chain: A One Health perspective applied to the poultry industry. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00635-8>
- Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U. (2012). A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*, 2(2), 303–336. <https://doi.org/10.3390/metabo2020303>
- Donnenberg, M. S., & Whittam, T. S. (2001). Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic

- Escherichia coli*. *Journal of Clinical Investigation* 107(5), 539–548. <https://doi.org/10.1172/JCI12404>
- Ganeshpurkar, A., Rai, G., & Jain, A. (2010). Medicinal mushrooms: Towards a new horizon. *Pharmacognosy Reviews* 4(8), 127–135. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70904>
- Gudda, F. O., Waigi, M. G., Odinga, E. S., Yang, B., Carter, L., & Gao, Y. (2020). Antibiotic-contaminated wastewater irrigated vegetables pose resistance selection risks to the gut microbiome. *Environmental Pollution*, (264). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114752>
- Hacker, J., & Kaper, J. B. (2000). Pathogenicity Islands and the Evolution of Microbes. *Annual Review of Microbiology*, 54(1), 641–679. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.641>
- Hall, R. M. (1997). Mobile gene cassettes and integrons: Moving antibiotic resistance genes in Gram-negative bacteria. *CIBA Foundation Symposia*, 207(207), 192–205. <https://doi.org/10.1002/9780470515358.ch12>
- Holden, M. T. G., Hsu, L. Y., Kurt, K., Weinert, L. A., Mather, A. E., Harris, S. R., Strommenger, B., Layer, F., Witte, W., De Lencastre, H., Skov, R., Westh, H., Žemličková, H., Coombs, G., Kearns, A. M., Hill, R. L. R., Edgeworth, J., Gould, I., Gant, V., Cooke, J., Edwards, G., McAdam, P., Templeton, K., McCann, A., Zhou, Z., Castillo-Ramírez, S., Feil, E., Hudson, L., Enright, M., Balloux, F., Aanenden, D., Spratt, B., Ross Fitzgerald, J., Parkhill, J., Achtman, M., Bentley, S. & Nübel, U. (2013). A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. *Genome Research*, 23(4), 653–664. <https://doi.org/10.1101/gr.147710.112>
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2016). Topoisomerase inhibitors: Fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(9), a025320. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>
- Hou, J., Wan, W., Mao, D., Wang, C., Mu, Q., Qin, S., & Luo, Y. (2015). Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4545–4554. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3632-y>

- Jurelevicius, D., Cotta, S. R., Montezzi, L. F., Dias, A. C. F., Mason, O. U., Picão, R. C., Jansson, J. K., & Seldin, L. (2021). Enrichment of potential pathogens in marine microbiomes with different degrees of anthropogenic activity. *Environmental Pollution*, 268, 115757. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115757>
- Kim, D. W., & Cha, C. J. (2021). Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3), 301-309. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00569-z>
- Larsson, D. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
- López-Velandia, D. P., Torres-Caycedo, M. I., Castro-Gutiérrez, L. T., & Prada-Quiroga, C. F. (2018). Antibiotic resistance: origins, evolution and healthcare-associated infections. *Salud Uninorte*, 34(2), 494–505. <https://doi.org/10.14482/sun.34.2.615.32>
- Loudon, I. (1987). Puerperal fever, the streptococcus, and the sulphonamides, 1911–1945. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 295(6596), 485–490. <https://doi.org/10.1136/bmj.295.6596.485>
- Martínez, J. L., & Baquero, F. (2002). Interactions among strategies associated with bacterial infection: Pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 647–679. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.647-679.2002>
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2), 521–547. [doi:10.1128/9781555819804.ch25](https://doi.org/10.1128/9781555819804.ch25)
- McInnes, R. S., McCallum, G. E., Lamberte, L. E., & van Schaik, W. (2020). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, 53, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.002>
- Meynell, E., Meynell, G. G., & Datta, N. (1968). Phylogenetic relationships of drug-resistance factors and other transmissible bacterial plasmids. *Bacteriological reviews*, 32(1), 55–83). <https://doi.org/10.1128/membr.32.1.55-83.1968>

- Miller, S. A., Ferreira, J. P., & LeJeune, J. T. (2022). Antimicrobial use and resistance in plant agriculture: a one health perspective. *Agriculture*, 12(2), 289. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020289>
- Nelson, M. L., Dinardo, A., Hochberg, J., & Armelagos, G. J. (2010). Brief communication: Mass spectroscopic characterization of tetracycline in the skeletal remains of an ancient population from Sudanese Nubia 350-550 CE. *American Journal of Physical Anthropology*, 143(1), 151–154. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21340>
- Prada, C.F., Torres, M.I. y Castro, L.T. (2015). *Origen de la Resistencia a los Antibióticos*. Grupo de Investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Boyacá.
- Oduro-Mensah, D., Obeng-Nkrumah, N., Bonney, E. Y., Oduro-Mensah, E., Twum-Danso, K., Osei, Y. D., & Sackey, S. T. (2016). Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s12941-016-0144-2>
- Peintner, U., Pöder, R., & Pümpel, T. (1998). The Iceman's fungi. *Mycological Research*, 102(10), 1153–1162. <https://doi.org/10.1017/S0953756298006546>
- Sahoo, S., Otta, S., Swain, B., & Kar, S. K. (2019). Detection and genetic characterization of extended-spectrum beta-lactamases producers in a tertiary care hospital. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(03), 253–258. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_31_19
- Schatz, A., Bugle E., & Waksman, S. A. (1944). Streptomycin, a Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 55(1), 66-69.
- Sensi, P. (1983). History of the development of rifampin. *Reviews of Infectious Diseases*, 5, S402–S406. https://doi.org/10.1093/clinids/5.Supplement_3.S402
- Smillie, C. S., Smith, M. B., Friedman, J., Cordero, O. X., David, L. A., & Alm, E. J. (2011). Ecology drives a global network of gene exchange connecting the human microbiome. *Nature*, 480(7376), 241–244. <https://doi.org/10.1038/nature10571>

- Vera Vidal, V., Suarez Olivares, A. T., Ruiz Miranda, M., Vera, P. H., Zayas Alfonso B., de Cuba, S., & Castillo Duany, J. (2011). Antimicrobial therapy in ophthalmology. *Medisan* 15(11).
- Waksman, S. A., Horning, E. S., Welsch, M., & Woodruff, H. B. (1942). Distribution of antagonistic actinomycetes in nature. *Soil Science*, 54(4), 281-296.
- Waksman, S. A., & Flynn, J. E. (1973). History of the word “antibiotic”. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, 28(3), 284–286. <https://doi.org/10.1093/jhmas/xxviii.3.284>
- Walsh, T. R. (2018). A one-health approach to antimicrobial resistance. *Nature Microbiology*, 3(8), 854–855. doi:10.1038/s41564-018-0208-5
- Waschington, J., & Wilson, W. (1985). Erythromycin: A Microbial and Clinical Perspective After 30 Years of Clinical Use (First of Two Parts). *Mayo Clinic Proceedings* 60(3), 189–203. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)60219-5](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)60219-5)
- Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M., & Bhole, B. D. (2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Archives of Microbiology*, 176(5), 386–390. <https://doi.org/10.1007/s002030100345>
- Zhu, Y. G., Zhao, Y., Zhu, D., Gillings, M., Penuelas, J., Ok, Y. S., Capon, A., & Banwart, S. (2019). Soil biota, antimicrobial resistance and planetary health. *Environment International*, 131, 105059. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105059>

CAPÍTULO I.

Mecanismos de resistencia bacteriana



● **Maritza Angarita Merchán**

mangarita@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0002-0220-2701>.

Magíster en Sistemas Integrados de Gestión.
Universidad de Boyacá.

● **Diana Paola López Velandia**

dplopez@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0002-5408-6140>.

Magíster en Ciencias Biológicas.
Universidad de Boyacá.

Introducción

Desde el desarrollo de los antibióticos se creía que esa era la solución a todos los problemas generados por bacterias resistentes, sin embargo, con el paso de los años se fueron generando avances tecnológicos y científicos que han permitido identificar nuevos patrones de resistencia. La preocupación inicialmente se centró en bacterias Gram positivas; no obstante, en las últimas décadas, una mayor aprehensión se ha desplazado hacia el patrón de susceptibilidad de las bacterias Gram negativas, dada la versatilidad y la facilidad que tienen para adquirir elementos genéticos (Silva *et al.*, 2011).

Los perfiles de susceptibilidad de las bacterias pueden variar entre ubicaciones geográficas y también entre diferentes hospitales en un mismo país, probablemente debido al uso de antimicrobianos y a la variabilidad genética natural. Por lo tanto, los informes periódicos de vigilancia local de los patrones de susceptibilidad son necesarios para orientar la elección de una terapia antimicrobiana eficaz (Cardona, 2018).

La resistencia bacteriana es considerada un grave problema de salud pública, teniendo en cuenta que cada vez se cuenta con menos alternativas para tratar a pacientes, esta es una de las mayores amenazas para los seres humanos. De acuerdo con el informe de Riesgos Globales del Foro Económico, se estima que en Europa mueren 25.000 personas cada año como resultado de infecciones bacterianas multirresistentes. Sumado a esto, los costos para tratar patologías de este tipo rondan, en la Unión Europea, un gasto anual

de más de 1.500 millones de euros aproximadamente. En Estados Unidos, anualmente más de 2 millones de sujetos padecen infecciones de origen bacteriano con resistencia a los antibióticos, lo que concluye en 23.000 muertes aproximadamente (Blair *et al.* 2015), esto genera gastos de más de 20 millones de dólares al año (Munita y Arias, 2001); ahora, se prevé que las muertes resultado de infecciones resistentes a los medicamentos aumenten de 700.000 a 10 millones al año, y el costo llegue hasta los 100 billones de dólares en todo el mundo para 2050 (Tanko *et al.*, 2020).

Los antibióticos fueron diseñados para actuar en diferentes componentes celulares, esto hace que existan varios mecanismos de resistencia relacionados entre sí, sin embargo, las bacterias pueden presentar mutaciones genotípicas que dan razón a cambios; estas modificaciones dificultan el control de la terapia antibiótica, lo que ocasiona impactos negativos. En tales circunstancias, la comprensión de cómo las bacterias se desarrollan o adquieren genes que codifican para la resistencia a los antibióticos tiene un papel fundamental en el desarrollo de propuestas para luchar contra estas superbacterias o bacterias multirresistentes. Identificar estos mecanismos mejora el pronóstico de los resultados de los pacientes, disminuye la mortalidad, genera una menor duración de la estancia hospitalaria, reduce tasas de superinfección y reacciones adversas a medicamentos y menores costos (Endimiani *et al.*, 2020).

Dichas bacterias han sido descritas como bacterias con resistencia a la acción de múltiples antibióticos, lo que significa una amenaza importante para la salud de las personas, pues estas bacterias tienen la capacidad para provocar una alta infecciosidad y mortalidad. Esta alta infecciosidad la logran las bacterias gracias a estas características, y en especial por la capacidad de liberación de gran cantidad de toxinas. Incluso, algunas de ellas son candidatas para su uso como armas biológicas mediante

exposición en aerosoles; ejemplos de este tipo de bacterias son *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*, las cuales han sido catalogadas por la Organización Mundial de la Salud [OMS] como patógenos prioritarios (Cao *et al.*, 2022).

Los mecanismos de expresión de resistencia bacteriana se caracterizan por diferentes procesos tales como evitar que la molécula llegue a su sitio blanco de acción por mecanismos de cierre de porinas, bombas de expulsión, mutaciones del sitio de anclaje y la producción de enzimas hidrolíticas. En el caso del mecanismo de tipo enzimático expuesto por el microorganismo, se generan enzimas capaces de hidrolizar antibióticos desde el rango reducido hasta amplio espectro (Bush, Jacoby, y Medeiros, 1995).

Actualmente, la farmacorresistencia ha generado diferentes definiciones debido a la contención de los patógenos, tal es el caso de los multidrogorresistentes (multi drug resistant [MDR]), en quienes la identificación fenotípica y genotípica son herramientas de interés para la vigilancia y control en el ámbito hospitalario (Angarita, *et al.*, 2019; Perrin *et al.*, 2017). Para acercar al lector a los conceptos claves de la resistencia a los antibióticos, se presenta un recorrido teórico de los mecanismos desarrollados por cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas:

Mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

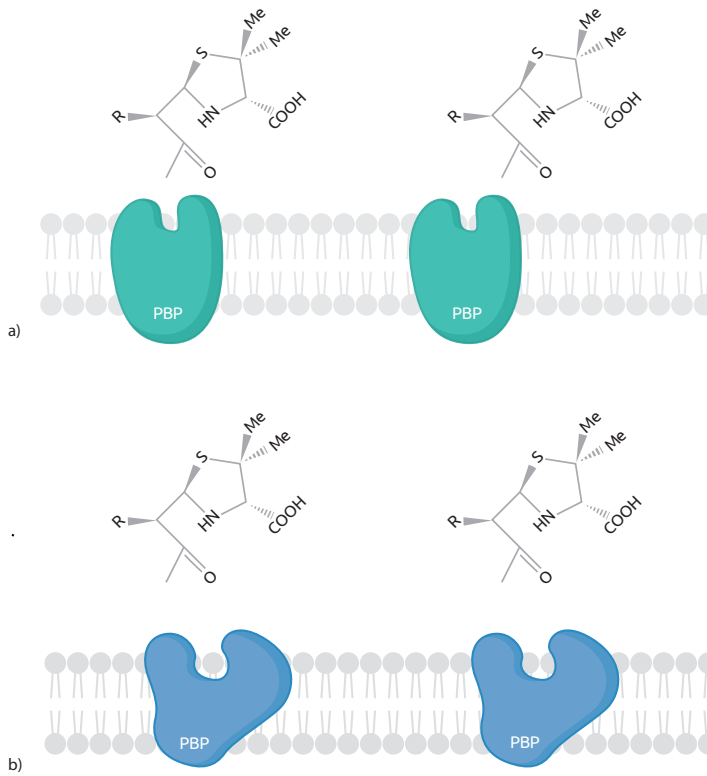
Las bacterias Gram positivas desarrollan distintas enfermedades infecciosas, son preocupantes por su fácil propagación, que las convierte en un problema creciente de salud pública. Normalmente, la problemática no radica en lo virulento que pueda llegar a ser el microorganismo, sino en el desarrollo de posibles mecanismos de resistencia

que desarrollan las bacterias. Hoy en día estos microorganismos presentan resistencia a muchos de los antibióticos empleados en la práctica clínica, presentando variación en la prevalencia del mecanismo de resistencia y la capacidad de diseminación, de acuerdo con el microorganismo (Lozano y Torres, 2017). A continuación, se describen los mecanismos más frecuentes en el área clínica:

Resistencia en *Staphylococcus aureus* [*S. aureus*]

Este patógeno se encuentra asociado con infecciones cutáneas, neumonía, intoxicaciones alimentarias y bacteriemias; el tratamiento de elección ha sido la penicilina, aunque al poco tiempo de su introducción presentó resistencia a este antibiótico. En 1959 nació la primera penicilina sintética denominada metilicina, empleada para aquellas cepas que eran resistentes a la penicilinasas; sin embargo ese antibiótico en la actualidad ya no se emplea (Aguayo-Reyes *et al.*, 2018).

Este microorganismo presenta las proteínas de unión a la penicilina [PBP], las cuales participan en el proceso de transpeptidación y división de la membrana, que a su vez es un sitio diana, ya que varios antibióticos actúan sobre esta estructura. La mutación que puede llegar a presentar las PBP puede finalizar en una resistencia a antibióticos. Tal es el caso del *S. aureus* resistente a metilicina [SARM], que tiene el gen *mecA* que codifica la PBP2a, la cual confiere la resistencia a la metilicina de la que se hará mención posteriormente (Figura 3) (Morales, 2018). Gracias a esta resistencia se han documentado diferentes cepas emergentes de SARM que incluyen SARM asociado a la atención médica [HA-SARM] en Norteamérica y Europa, SARM asociado a la comunidad [CA-SARM] USA300 presente en Norteamérica, y SARM asociado al ganado, incluyendo ST398 y ST93, en Australia (Turner *et al.*, 2019).



a) Representación de PBP ubicada en la membrana citoplasmática en el que el antibiótico betalactámico tiene acción frente al microorganismo y genera lisis. b) Representación de PBP en el que se observa modificación en la PBP.

Figura 3. Representación de PBP en membrana citoplasmática
Fuente: elaboración propia.

Betalactámicos

Los betalactámicos son ese grupo de antibióticos mayormente usados en la práctica clínica diaria, los cuales inhiben la formación de la pared bacteriana en su última etapa. En el año 2017 se reportó que más del 90 % de los aislamientos clínicos de *S. aureus* han presentado resistencia a la penicilina, gracias a mecanismos desarrollados

por enzimas (betalactamasas) codificadas por el gen *blaZ* (Lozano y Torres, 2017).

En las últimas décadas, el SARM ha tenido cambios importantes en su presentación epidemiológica. Inicialmente, se identificaba solo en ambientes hospitalarios, (Lozano y Torres, 2017), pero con posterioridad se extendió a ambientes comunitarios, en población que no presenta factores de riesgo que se puedan asociar a infecciones por este tipo de microorganismos. Hasta hoy se han descrito diferentes tipos de cepas entre las que se han encontrado resistentes a distintos tipos de antibióticos, por ejemplo a tetraciclinas, ceftarolina y oxacilina (Aguayo-Reyes *et al.*, 2018). Esta resistencia se caracteriza por la modificación en PBP-2a, la cual desarrolla una baja afinidad por antibióticos betalactámicos y está dada por la presencia del gen *mecA*. Las cepas bacterianas son resistentes a casi todos los betalactámicos, excepto a las cefalosporinas de quinta generación (ceftarolina y ceftobiprole) (Lozano y Torres, 2017).

Resistencia en *Streptococcus* sp. a glucopéptidos y lipoglucopéptidos

Las cepas de *S. aureus* que expresan una sensibilidad intermedia o también denominada heterorresistencia a los glucopéptidos están relacionadas con el incremento de pacientes con fracaso terapéutico y un mayor número de casos con bacteriemia. Este mecanismo inhibe la unión al dipéptido D-Ala-D-Ala, con lo que impide la transpeptidación y transglucosilación de los monómeros en la pared celular (estructura diana). Estas alteraciones metabólicas generan engrosamiento de la pared bacteriana y que el antibiótico quede atrapado en las capas externas sin afectar la síntesis activa de precursores (Rincón *et al.*, 2014).

S. aureus puede presentar una resistencia intermedia a la vancomicina y denominarse VISA, por las siglas en inglés [vancomycin intermediate *S. aureus*], u otras cepas denominadas VRSA [vancomycin resistant *S. aureus*] con alta resistencia al mismo antibiótico gracias a la adquisición del transposón Tn1546. Se ha documentado que cepas VISA pueden surgir durante el tratamiento antibiótico con vancomicina, sin embargo, los mecanismos de este tipo de resistencia no son claros aún, lo que sugiere la posibilidad de la existencia de mutaciones en moléculas controladoras de la síntesis de la pared celular bacteriana y/o en el gen *rpoB*, codificante de la subunidad β de la enzima ARN polimerasa bacteriana (Lozano y Torres, 2017). Existe una reciente preocupación debido a que se ha encontrado que la mayoría de las cepas VISA se han aislado de *S. aureus* resistente a la penicilina, pero se desconoce el mecanismo adicional que da origen a VISA a partir de cepas sensibles a la metilicina (Zhu *et al.*, 2021).

En lo relacionado con lipoglucopeptidos como la dalbavancina, telavancina y oritavacina, se ha encontrado alta eficiencia en SARM y cepas de *S. aureus* resistentes a otros antibióticos, incluidas las multirresistentes. Para la dalbavancina se han evidenciado cepas con Concentración Mínima Inhibitoria [MIC] levemente incrementadas para este antibiótico, pues oscilan entre 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/mL}$ (Lozano y Torres, 2017).

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

Este grupo de antibióticos es comúnmente empleado en el tratamiento de SARM, aunque en algunos centros hospitalarios lo emplean como tratamiento empírico contra infecciones de *S. aureus*. Este actúa gracias a la producción de metilasas que le otorgan resistencia a estreptograminas, macrólidos y lincosamidas, que impiden la unión de los fármacos a la región 50S ribosomal (Gastelo y Maguiña,

2018), cuyo sitio de unión es igual para diferentes antibióticos. Al actuar mediante uno de los mecanismos compartidos, la bacteria puede desarrollar resistencia cruzada a la estreptogramina B, macrólidos y lincosamida (Zelmer *et al.*, 2022). En relación con este mecanismo, se encuentran asociadas tres posibles formas de resistencia: la primera, dada por las bombas de expulsión codificadas por el gen *msr*; la segunda, generada por la inactivación del antibiótico producido por el gen *lun*; y la tercera alteración, producida por el sitio de unión ribosómica, generada por mutación y/o metilación del gen *23s rRNA* (Khodabandeh *et al.*, 2019).

Fluoroquinolonas

Estructuralmente, las quinolonas tienen una estructura de anillo bicíclico y se pueden dividir en 2 y 4-quinolonas. Desde la introducción del ácido nalidíxico (la primera generación, el prototipo de antibióticos de 4-quinolonas) se han desarrollado dos clases principales de compuestos de la molécula básica: quinolonas y naftiridonas (Zhang *et al.*, 2018). Estas actúan uniéndose a las enzimas topoisomerasas bacterianas tipo II, al ADN girasa y a la topoisomerasa IV, inhibiendo la replicación y transcripción del ADN. De la mayoría de las bacterias Gram negativas, el ADN girasa es su enzima diana principal. Por su parte, la topoisomerasa IV es la de muchas de las bacterias Gram positivas. Las quinolonas son más selectivas para con la ligasa de topoisomerasa IV, por lo que tienen un espectro frente a varias bacterias Gram positivas (Morosini *et al.*, 2012).

El uso de este grupo de antibióticos empezó en la década de los 80. Ha sido identificada resistencia en bacterias sin pared como los *Mycoplasmas* spp. (Navarro *et al.*, 2011), *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. y *Streptococcus pneumoniae* (Castellano-González *et al.*, 2021).

Aminoglucósidos

Este grupo de antibióticos tiene efecto bactericida que actúa en la subunidad 30S del ribosoma. Estructuralmente tiene uno o varios aminoazúcares y un aminociclitol unidos por un enlace glucosídico. La resistencia por *S. aureus* a este tipo de antibióticos es moderada y se presenta por la inactivación causada por el desarrollo de dos enzimas modificadoras de los aminoglucósidos: la enzima bifuncional AAC(6')-APH(2''), la cual combina la actividad acetiltransferasa con la fosfotransferasa y genera resistencia a gran parte de los aminoglucósidos, excepto a la estreptomicina; y la enzima ANT(4')(4''), la cual adenila grupos hidroxilos de este tipo de antibióticos. Se ha descrito que inactiva con mayor eficiencia a la tetramicina, siendo actualmente el mecanismo más frecuente en SARM (Morosini *et al.*, 2012).

Tetraciclinas y glicilciclinas

En *S. aureus* es poco frecuente encontrar resistencia a las tetraciclinas, sin embargo, dicha resistencia se ha asociado a cepas de SARM-AG (asociado a ganado). Esta resistencia es debida al aumento del eflujo activo o protección ribosomal, gracias a la producción de proteínas citoplasmáticas que impiden la unión del antibiótico con el ribosoma (Gastelo y Maguiña, 2018; Lozano y Torres, 2017).

En relación con las glicilciclinas, la tigeciclina es un producto sintético de la minociclina, que no está afectada por mecanismos de resistencia a las tetraciclinas. Se cree que esto se debe a la presencia de bombas de expulsión o también conocidas como eflujo tipo MepA que confieren resistencia adicional a las fluoroquinolonas. Este tipo de antibiótico es contemplado dentro de los de mayor espectro, comúnmente empleados para el tratamiento de infecciones complicadas con microorganismos multirresistentes. Sin

embargo, debido a su toxicidad y elevada resistencia, su uso actualmente es muy escaso (Lozano y Torres, 2017).

Oxazolidinonas (linezolid)

El antibiótico sintético bacteriostático denominado linezolid tiene su sitio diana en la subunidad 50S, en la que inhibe la síntesis de proteínas. Su acción se presenta gracias a la unión en el centro peptidil-transferasa [CPT] con el N-formil-metionil-ARN de transferencia [ARN_t]. Este antibiótico de amplio espectro se usa para tratar infecciones dermatológicas, pues su espectro de actividad va dirigido fundamentalmente contra los microorganismos Gram positivos y neumonías bacterianas de tipo Gram positivas, incluidos los grupos de SARM, enterococos y estreptococos. Adicionalmente, este antibiótico hidroliza eficazmente al *Enterococcus faecium* [*E. faecium*], resistente a la vancomicina (Rincón *et al.*, 2014).

Resistencia en enterococos

Este género bacteriano presenta resistencia intrínseca a las penicilinas semisintéticas, lincosamidas, vancomicina, aminoglucósidos, polimixinas y estreptograminas (Lozano y Torres, 2017).

Betalactámicos

Los reportes de los últimos años muestran un aumento de cepas de enterococos resistentes a betalactámicos, especialmente de *E. faecium*, de las que el 90 % son resistentes a penicilinas en Hospitales Europeos. Lo anterior obedece a un aumento exagerado en la producción de PBP (en *Enterococcus faecalis* [*E. faecalis*] PBP-4 o en *E. faecium* la PBP-5) o a la presencia de cambios a nivel genético (mutación) que provocan alteraciones de los aminoácidos

en su sitio activo. Las más comunes son las modificaciones en PBP-5. Estos cambios se detectan en mayor proporción en cepas bacterianas de *E. faecium*, lo que les confiere un nivel alto de resistencia a la ampicilina. Algunas cepas de enterococos tienen la capacidad de producir betalactamasas parecidas a las de tipo A originadas por los estafilococos, pero es un mecanismo poco frecuente (Seguel *et al.*, 2020).

Glucopeptidos y lipoglucopeptidos

Los enterococos resistentes a glucopeptidos han despertado una alerta a nivel mundial, pues presentan prevalencias de resistencia a la vancomicina entre 0 y 25 %, particularmente en cepas de *E. faecium*. Esta resistencia se debe a la síntesis de precursores modificados en su pared celular, con baja afinidad por este tipo de antibióticos y los cuales se han asociado a diversos genes (Manassero *et al.*, 2016).

En relación con los lipoglucopeptidos, este tipo de antibióticos tiene actividad frente a las bacterias Gram positivas, especialmente a las que tienen el operón *vanA*, el cual ha sido identificado en cepas del linaje genético CC5, CC8 y CC30 (Lozano y Torres, 2017).

Lipopeptidos

Los lipopeptidos, como la daptomicina, son antibióticos cíclicos con principio activo para la mayoría de los microorganismos Gram positivos, incluyendo a los enterococos resistentes a la vancomicina. Este tipo de fármacos forma un complejo catiónico que se introduce en la membrana celular de la bacteria y despolariza su potencial, lo que permite la salida de iones de potasio. Esto genera que no se desarrolle la síntesis de las proteínas y ácidos nucleicos, lo que provoca la muerte celular por autólisis (Gastelo y Maguiña, 2018).

La resistencia está dada por el aumento en la célula bacteriana de carga neta positiva en la membrana celular, que rechaza el complejo daptomicina- Ca^{++} . Así mismo, se ha descrito que los enterococos redistribuyen los fosfolípidos de tipo aniónico (cardiolipinas), que es el primer sitio de acción de este tipo de antibióticos, lo que impide su acción sobre la membrana celular (Pigrau y Almirante, 2009).

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

Son un grupo de tres familias de antibióticos naturales y semisintéticos cuya acción consiste en la inhibición de la síntesis de proteínas, esta se genera a partir del paso de elongación en donde la cadena polipeptídica se une a la subunidad ribosomal 50S. La resistencia de los enterococos a estos antibióticos es de tipo intrínseco. La resistencia a las estreptograminas se atribuye a modificaciones en la diana y a la inactivación del antibiótico o bombas de eflujo (Lozano y Torres, 2017).

Fluoroquinolonas

Las quinolonas son un grupo amplio de antibióticos sintéticos cuya acción está dada sobre la síntesis del ADN, pues inhibe la función del ADN girasa y topoisomerasa IV, las cuales se encargan del empaquetamiento de este ácido nucleico en la célula bacteriana, por lo que finaliza con la muerte bacteriana de manera rápida (Durán, 2018).

Este tipo de resistencia es frecuente en la clínica y se presenta gracias a cambios en los aminoácidos en las proteínas GrlA y GyrA, es decir, modificaciones en las dos moléculas proteicas, siendo la más común la que se genera en la posición S83 de GyrA S80 de GrlA (Lozano y Torres, 2017); otro mecanismo de resistencia se debe a mutaciones espontáneas de genes cromosómicos con capacidad de

alterar el ADN girasa y topoisomerasa IV, lo que altera la permeabilidad de la membrana externa de la pared celular. Así mismo, se ha descrito la posibilidad de adquisición de genes por transferencia horizontal que, aunque no son suficientes para hacer que estas cepas adquieran resistencia a las fluoroquinolonas, facilitan la selección y las mutaciones a nivel cromosómico (Singh y Jain, 2019).

Por otro lado, la resistencia a quinolonas se da debido a la modificación de una enzima encargada de acetilar los aminoglucósidos, la cual está en plásmidos presentes en la variante acetiltransferasa modificadora de aminoglucósidos [AAC] (6')-Ib-cr. Esta genera la acetilación en la posición 7 del radical piperazinilo de la norfloxacin y ciprofloxacina. Así mismo, se ha descrito la existencia de plásmidos con capacidad de codificar para bombas de eflujo, aunque son poco frecuentes (Hooper y Jacoby, 2016).

Tetraciclinas

Son un grupo de antibióticos que penetran al interior de la célula bacteriana a través de difusión pasiva, haciendo uso de las porinas presentes en la membrana externa de la pared celular. Su mecanismo de acción consiste en impedir que se lleve a cabo la síntesis de proteínas en la fase de traducción. Para ello, se une a la subunidad 30S del ribosoma e impide la unión del aminoacil-ARNt, con lo que interrumpe la incorporación de aminoácidos del nuevo péptido (Lopardo, 2020).

La resistencia está dada al impedir la unión del antibiótico al sitio de acción, que genera una expulsión a través de bombas de eflujo, por ende, protección ribosomal. Igualmente se ha descrito el desarrollo de enzimas que inactivan la acción de la tetraciclina. Este mecanismo de resistencia es frecuente encontrarlo en bacterias Gram

negativas, especialmente en *Acinetobacter baumannii*, codificadas por los genes *tet(A)* a *tet(E)* y *tet(K)* encontrado en *S. aureus* (Fang *et al.*, 2020; Kurnia *et al.*, 2018).

Oxazolidinonas (Linezolid)

Estos son antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas al interactuar con el ARNr en su subunidad 23S, con lo que impiden la unión del aminoacil-ARNt en el centro de la peptidiltransferasa [CPT]. Igualmente, tiene actividad bacteriostática (Saavedra *et al.*, 2020).

La resistencia de enterococos al Linezolid está mediada por la aglomeración secuencial de mutaciones en el ARNr 23S y mutaciones en genes *rplC* y *rplD*, los cuáles codifican para la generación de las proteínas ribosomales L3 y L4 respectivamente. Otros mecanismos descritos incluyen adquisición de un gen plasmídico denominado *cfr* que implica la metilación postranscripcional de la adenosina (Silva y Aquino, 2018).

Resistencia en *Streptococcus pneumoniae* [*S. pneumoniae*]

El *S. pneumoniae* es un patógeno común del ámbito comunitario, principalmente en niños. Por lo general, causa neumonía, meningitis, septicemia y otitis media, así como sinusitis y bronquitis. La mortalidad por *S. pneumoniae* en niños menores de 5 años este alrededor de 5,2 % (Wang *et al.*, 2019). Se ha considerado que el aumento de la resistencia a los antibióticos se debe a la selección de antibióticos para el tratamiento empírico. El estudio de mecanismos en bacterias Gram positivas requiere una investigación detallada y exhaustiva, de tal manera que pueda realizarse un tratamiento adecuado, así como el seguimiento y control epidemiológico de las infecciones (Morosini *et al.*, 2012).

Resistencia en *Streptococcus* sp. a betalactámicos

La resistencia a los betalactámicos se produce por mutaciones en los genes que codifican para la PBP, principalmente las PBP-1a, 2b y 2x, así como por alteraciones en PBP-2b y 2x que le permiten al estreptococo ser resistente a la penicilina. Por su parte, los cambios en PBP-1a le permiten una alta resistencia al mismo antibiótico en cepas que tienen alterada la PBP-2x o ambas. Los cambios en el PBP-2x y 1a conllevan que las cefalosporinas de tercera generación no se unan al PBP-2x y generen la resistencia (Pugazhendhi *et al.*, 2020).

Resistencia en *Streptococcus* sp. a glucopéptidos y lipoglucopeptidos

De otra parte, se han encontrado cepas de *S. pneumoniae* con tolerancia a la vancomicina. Se cree que este signo es precursor de la aparición de fenotipos de resistencia, pues ha sido asociada a fallos en las terapias. Se ha sugerido que esa tolerancia se debe a la inactividad de una de las enzimas que intervienen en el control de la autólisis celular bacteriana, requiriendo el papel de un polisacárido capsular mutado para el ejercicio regulador (Llor *et al.*, 2018).

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

Se ha descrito que el mecanismo de resistencia a los macrólidos en cepas de estreptococos se debe a la modificación en la diana del antibiótico (ribosomal) (Hawkins *et al.*, 2017), la cual ocurre en el ribosoma a través de una rRNA metilasa que modifica en el rRNA 23S un residuo de adenina. Esto genera una metilación que cambia la conformación ribosomal y da lugar a una baja afinidad en la unión a este tipo de antibióticos. El tipo de resistencia puede ser

constitutiva o inducible. Un segundo mecanismo se debe a la expresión de bombas de expulsión activas que permiten la eliminación del antibiótico al exterior del citoplasma celular (Portillo *et al.*, 2000).

Fluoroquinolonas

La acción de las quinolonas consiste en alcanzar el citoplasma celular bacteriano a través de difusión pasiva, empleando los canales acuosos de las porinas, los cuales son transmembrana o se presentan en la capa de lipopolisacáridos. Una vez allí, se fijan sobre células diana e interfieren con mecanismos bioquímicos necesarios para que la bacteria se multiplique o sobreviva (Taléns *et al.*, 2002).

La *S. pneumoniae* ha desarrollado resistencia a este tipo de antibióticos de tres formas: cromosómica, alteraciones en la membrana externa y expulsión del fármaco (Taléns *et al.*, 2002).

Mecanismos de resistencia en Gram negativos

Se ha documentado que las infecciones por cepas bacterianas Gram negativas presentan mayor prevalencia en pacientes hospitalizados, particularmente en las Unidades de Cuidados Intensivos [UCI], y en los cuales la multirresistencia se ha declarado reto al tener menor disponibilidad de alternativas terapéuticas para el tratamiento de dichas infecciones (Tafur *et al.*, 2008).

Las bacterias Gram negativas han desarrollado una serie de mecanismos de resistencia generada por procesos evolutivos constantes, responsables de las fallas terapéuticas; es frecuente encontrar resistencia a los antibióticos betalactámicos con acción bactericida lenta, los cuales inhiben

la última fracción en la síntesis de la pared celular bacteriana. Este tipo de mecanismos de resistencia es uno de los más frecuentes, dado que es la familia de antibióticos más numerosa y la más empleada en la prescripción clínica (Bello y Dingle, 2018; Tafur *et al.*, 2008).

Ahora, las modificaciones en la molécula original han dado lugar a productos con mayor espectro antimicrobiano, de igual forma, estos pueden actuar sobre enzimas denominadas betalactamasas, cuyo origen puede ser plasmídico y/o cromosómico. Estas enzimas se clasifican de acuerdo con la secuencia de aminoácidos, siendo la clasificación de Ambler más utilizada, al dividir las betalactamasas en cuatro clases (A, B, C y D) (Hall y Barlow, 2005). Ambler originalmente especificó dos clases: clase A, las betalactamasas de serina del sitio activo; y clase B, las metalo-betalactamasas que necesitan de un ion metálico bivalente, normalmente Zn^{2+} , para su actividad (López *et al.*, 2015).

Más tarde se encontró una nueva clase de serina betalactamasas que tenía poca similitud de secuencia con las enzimas de clase A conocidas hasta ese momento: la clase designada C. Dos de sus miembros también se conocen como betalactamasas 'AmpC'. Igualmente, se encontró que otra clase de serina betalactamasas, conocida familiarmente como betalactamasas OXA, tenía poca semejanza con la clase A o la clase C y se denominó clase D. También, se dispone la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros (Bush, Jacoby, y Medeiros, 1995) que se basa en la caracterización de inhibición o no por el ácido clavulánico y similitud funcional, estas enzimas son codificadas por genes que llevan el mismo nombre de la enzima (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de las betalactamasas de acuerdo con Bush- Jacoby y Jacoby-Madeiros

Grupo Bush-Jacoby	Clase molecular Subclase	Substratos preferidos	Inhibición por		Principales características	Enzimas representativas
			Clav*	EDTA		
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de bencilpenicilina	AmpC, P99, ACT-1, CYM-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada hacia ceftazidima y otros oximino-beta-lactámicos	GC1, CMY-37
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas	Sí	No	Hidrólisis similar de bencilpenicilinas y de cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	Sí	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	No	No	Hidrólisis incrementada hacia oximino-beta-lactámicos combinados con resistencia a AC, sulbactam y tazobactam	TEM-50
2c	A	Carbenicilinas	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina	PSE-1, CARB-3
2ce		Carbenicilinas, cefepime	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina, cefepime y ceftiofima	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variable	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina u oxacilina y oximino-beta-lactámicos	OXA-11, OXA-15

Grupo Bush-Jacoby	Clase molecular Subclase	Substratos preferidos	Inhibición por		Principales características	Enzimas representativas
			Clav*	EDTA		
2df	D	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina u oxacilina y carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	Sí	No	Hidrólisis de cefalosporinas. Inhibido por ácido clavulánico, pero no por aztreonam	CepA
2f	A	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino-betalactámicos, cefamicinas	KPC-2, IMI-1, SME-1
3 ^a	B (B1)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems, pero no monobactams	IMP-1, VIM-1, CrA, IND-1
3b	B (B2)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis preferente de carbapenems	CphA, Sfh-1

* ácido clavulánico

Fuente: elaboración propia con base en datos de López et al. (2015).

AmpC

Las betalactamasas tipo *AmpC* se encuentran agrupadas en la clase C de la clasificación de Ambler. Estas enzimas son cefalosporinasas que provocan hidrólisis de cefamandinas como cefoxitina, otras cefalosporinas de amplio espectro y monobactams como aztreonam (Endimiani *et al.*, 2020).

Se ha descrito que estas enzimas son codificadas por cromosomas en la mayoría de las cepas, y por plásmidos en bacterias como *Klebsiella pneumoniae* [*K. pneumoniae*] y *Salmonella* spp, que son especies que no expresan naturalmente AmpC cromosómico. Las bacterias con *AmpC* cromosómico producen las enzimas en cantidades limitadas en condiciones normales, sin alterar la sensibilidad

a cefalosporinas de 3ª generación. Sin embargo, existe la posibilidad de mutaciones espontáneas a nivel genético que permiten la producción constitutiva de la enzima con capacidad hidrolítica (Tafur *et al.*, 2008).

Betalactamasas de espectro extendido [BLEE]

Las BLEE se han reportado más frecuentemente en cepas como *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli* [*E. coli*]. Estas enzimas le confieren resistencia a las oximinocefalosporina, aztreonam, penicilinas y cefalosporinas de espectro reducido, y no poseen la capacidad de hidrolizar cefamicinas como la cefotaxina, cefotetán y carbapenem. Así mismo, pueden ser inhibidas por los inhibidores de las betalactamasas como ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam. Se han descrito diversas familias de BLEE y entre las más prevalentes están las tipo TEM, SHV y CTX-M, y las menos prevalentes son PER, VEB-1 y BES-1 (López *et al.*, 2015; Tafur, Torres y Villegas, 2008).

La mayoría de las BLEE han sido desarrolladas por medio de mutaciones espontáneas de betalactamasas de espectro reducido, gracias al cambio de aminoácidos en su sitio activo. Según la clasificación de Ambler, las familias BLEE tipo CTX-M, TEM y SHV son las más prevalentes entre las cuatro clases moleculares de betalactamasas (A, B, C y D) (Tanko *et al.*, 2020).

Las BLEE tipo TEM y SHV hidrolizan con mayor eficiencia a ceftazidime. Por su parte, las CTX-M, a cefotaxime, ceftriaxona y a cefepime con gran eficacia y con concentraciones mínimas inhibitorias mayores a otro tipo de BLEE. La característica más importante de este mecanismo de resistencia radica en que son mediadas por plásmidos, por

lo que confieren capacidad de diseminación a otras especies (Tafur, Torres y Villegas, 2008).

Resistencia a colistina

La colistina es un antibiótico polipeptídico con actividad contra la mayoría de las bacterias Gram negativas, cuyo objetivo inicial es la unión al lipopolisacárido polianiónico [LPS] de la membrana externa de las bacterias Gram negativas y la interacción con el componente lípido A hidrófobo del LPS a la membrana externa (Borsa *et al.*, 2019). Dicha unión se produce por una interacción electrostática entre grupos amino cargados positivamente y los fosfatos del lípido A cargados negativamente, lo que desencadena un intercambio catiónico al reemplazar los cationes divalentes de calcio y magnesio por la colistina. Con ellos se cambia la estructura del lipopolisacárido y se compromete la integridad de la capa de fosfolípidos de la membrana citoplasmática, lo que lleva a la ruptura de la célula bacteriana (Costa y Da Silva, 2018).

Resistencia a las Carbapenemasas

Este mecanismo consiste en la capacidad para hidrolizar las carbapenemasas que pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o en elementos genéticos móviles. La capacidad hidrolítica de estas enzimas se ejerce sobre la penicilina, las cefalosporinas de 1ª generación y débilmente sobre los carbapenems, para lo que se requiere Zinc como cofactor. No hidrolizan cefalosporinas de 3ª generación ni aztreonam.

Las principales familias son IMP, VIM y OXA. Esta última familia, gracias a la baja afinidad por los carbapenems, le confiere a la bacteria resistencia a este tipo de antibióticos cuando expresa mecanismos de resistencia adicionales

como el cierre de porinas y la sobreexpresión de bombas de eflujo (Tafur, Torres y Villegas, 2008).

De acuerdo con la anterior revisión, el objetivo de este capítulo es abordar los perfiles de susceptibilidad a los antibióticos en cepas bacterianas y presentar los resultados de investigaciones realizadas por el Grupo de Investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico (GRIBAC).

Materiales y Métodos: investigaciones realizadas por GRIBAC

Los diferentes proyectos de investigación aquí considerados fueron de tipo descriptivo y de corte transversal. Se analizaron las bases de datos de los resultados de cuatro proyectos de investigación; una de las investigaciones se realizó a partir de muestras de leche de vacas con mastitis pertenecientes al cordón lechero de Boyacá. Este fue el único proyecto del ámbito veterinario; los otros tres correspondieron a aislamientos de hospitales de tercer nivel del departamento de Boyacá, y sus muestreos fueron por un período de seis meses. Las cepas analizadas presentaban mecanismos de resistencia determinados con pruebas fenotípicas como difusión en disco y MIC por método automatizado.

Resultados

En las investigaciones realizadas por el grupo de investigación se evaluaron un total de 84 (100 %) aislamientos clínicos de tres hospitales de tercer nivel del departamento de Boyacá, seleccionados para el estudio del perfil de susceptibilidad. Estas cepas fueron aisladas de diferentes muestras y en ellas se encontró un total de 54 (64,2 %)

aislados en muestras de orina, que fue la forma más representativa; seguidos de abscesos y secreciones con 12 (14,2 %) aislamientos; muestras respiratorias con 9 (10,7 %); hemocultivos, 7 (8,3 %) y finalmente líquidos con 2 (2,3 %).

Para permitir un mejor contexto sobre el tipo de microorganismo aislado y el tipo de muestra, se presenta la información en la figura 4. Allí se resalta que la muestra con mayor número de aislamientos fue orina con 53 (63 %) cepas de Gram negativos y 1(1,1 %) de Gram positivos.

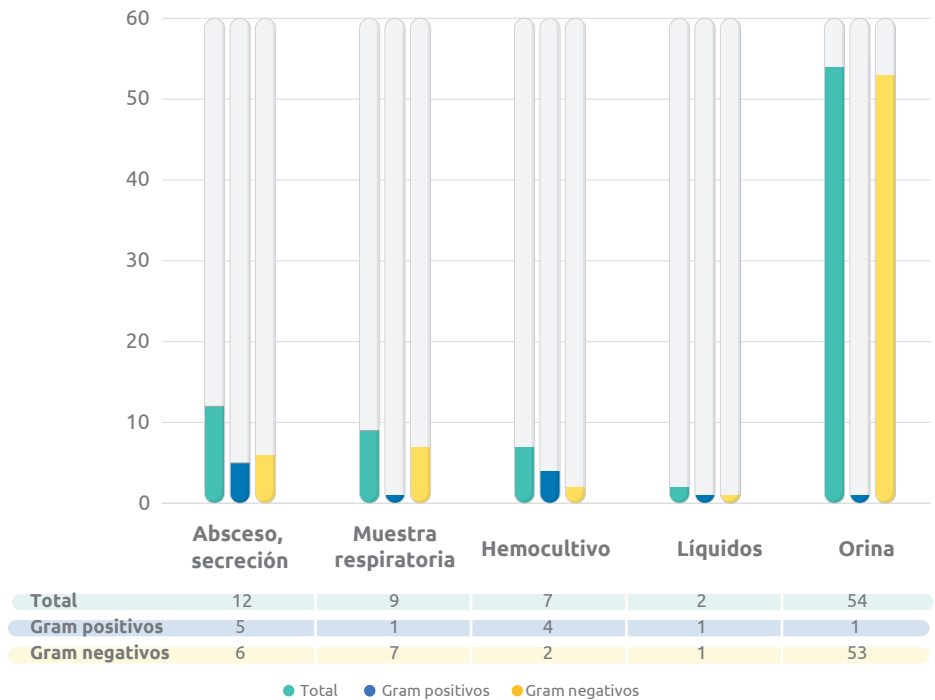
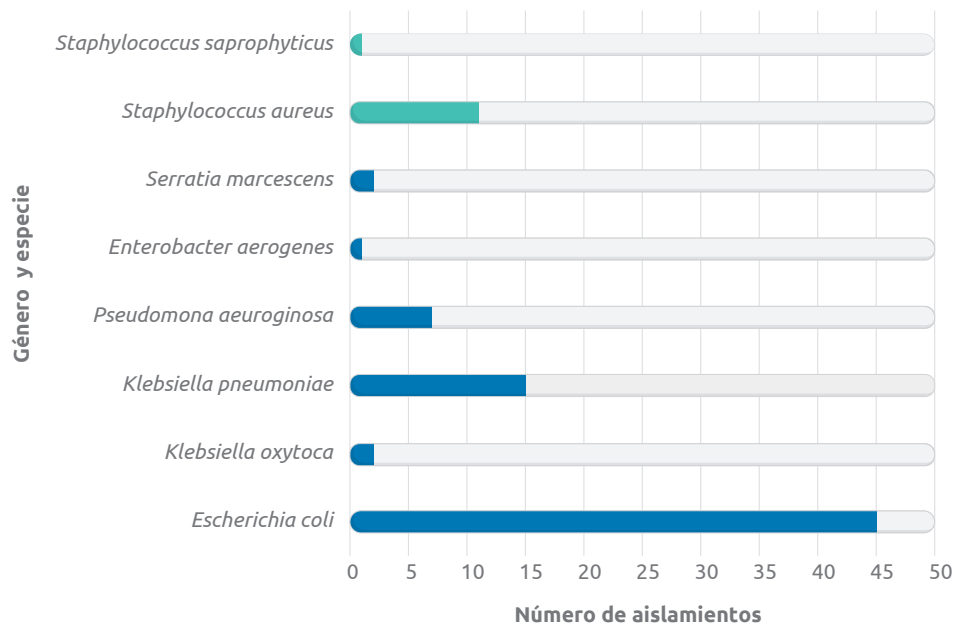


Figura 4. Aislamiento Gram positivos y Gram negativos por tipo de muestra
Fuente: elaboración propia

Así mismo, con la identificación de género y especie se encontró que el 14 % de los aislamientos correspondieron a microorganismos Gram positivos ($n=12/84$) representados por los géneros *S. aureus* y *Staphylococcus saprophyticus* [*S. saprophyticus*], y el 86 % a Gram negativos ($n=72/84$), con mayor prevalencia de *E. coli*, seguido en su orden por *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* [*P. aeruginosa*], *Klebsiella oxytoca* [*K. oxytoca*], *Serratia marcescens* [*S. marcescens*] y *Enterobacter aerogenes* [*E. aerogenes*] (Figura 5). Este último grupo fue el de mayor prevalencia con reportes de mecanismos de resistencia.



● **Figura 5.** Microorganismos aislados agrupados por género y especie.
Fuente: elaboración propia

En relación con los mecanismos de resistencia encontrados, se identificó en las 72 cepas Gram negativas el predominio de BLEE, seguido de carbapenemasas, AmpC y BLEA (figura 6).

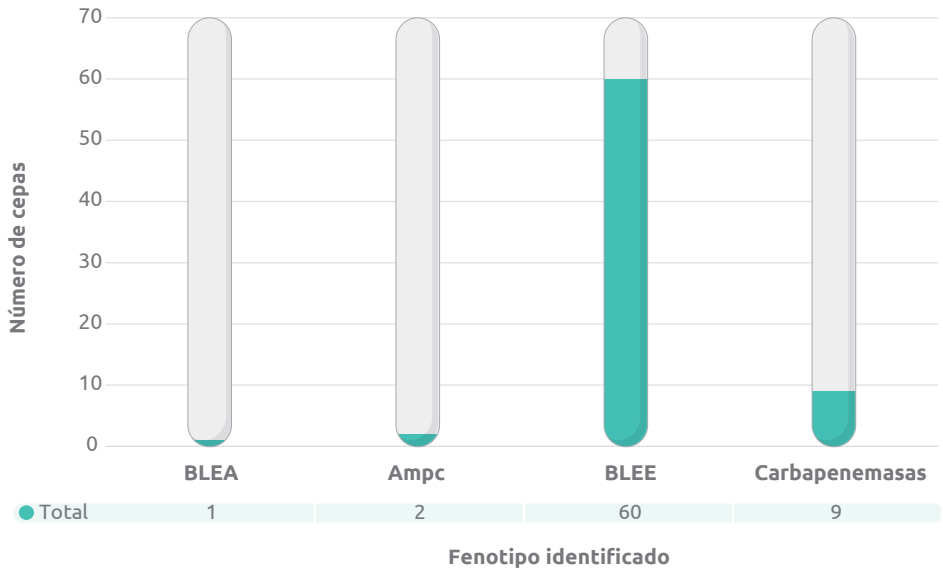


Figura 6. Fenotipos de resistencia
Fuente: elaboración propia

Discusión

Los resultados presentados en este capítulo muestran que existe un alto predominio de aislamientos de bacterias Gram negativas sobre los microorganismos Gram positivos, lo cual guarda relación con otros estudios realizados en aislados clínicos en donde se reporta prevalencia del 78,9 % de Gram negativos en muestras de orina provenientes de un centro asistencial en México (Velázquez, Cornejo y Volkow, 2016), y del 79,15 % de microorganismos Gram negativos en un estudio realizado en un Hospital de Cuba durante el año 2010 con muestras de UCI. Esto permite tener un contexto sobre la prevalencia de estos microorganismos independientemente del lugar del estudio (Rodríguez-Baño *et al.*, 2004; Perrin *et al.*, 2017).

Por otro lado, fue posible establecer que *E. coli* es el microorganismo con mayor prevalencia en muestras de diferentes sitios anatómicos y servicios de aislamiento. Así lo demostró un estudio cuyo objetivo fue evaluar la prevalencia de microorganismos y sus perfiles de resistencia en 79 hospitales de Colombia entre 2007 y 2009. Dicho estudio reportó que la *E. coli* se aisló con mayor frecuencia en los tres años de estudio (Villalobos-Rodríguez *et al.*, 2011; Villalobos *et al.*, 2014). Del mismo modo, un análisis realizado en Villavicencio (Colombia) por Gutiérrez (2015), identificó que, de 485 aislados evaluados, un 22 % resultó positivo para *E. coli*, y que fue el microorganismo de mayor presentación.

Teniendo presentes estos datos, se puede indicar que los resultados del GRIBAC son muy similares a los datos reportados en diferentes departamentos de Colombia, con semejanzas en la prevalencia de este microorganismo. Sin embargo, al comparar con estudios internacionales, como el realizado en una UCI en Cuba, se muestra que las bacterias Gram negativas frecuentes son enterobacterias en general, aunque entre ellas se incluye *E. coli* (Angarita *et al.*, 2019).

En lo relacionado con el servicio del cual se recogieron muestras y se obtuvieron aislamientos bacterianos en los estudios del grupo, el servicio que aportó el mayor número de muestras fue urgencias. Así ocurrió también en el trabajo de Sánchez *et al.* (2018), en el que a partir de muestras del mismo servicio se estableció la presencia de cepas de *S. aureus*, posiblemente asociadas a infecciones adquiridas en comunidad.

Con respecto al análisis fenotípico para evaluar los mecanismos de resistencia presentes en las cepas aisladas, se encontró que la *E. coli* presenta mecanismo de resistencia tipo BLEE como el más predominante. Por otro lado, las

cepas de *E. cloacae*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *C. farmerii* y *S. marcescens* presentaron el mecanismo de resistencia AmpC, y en las cepas aisladas de *K. pneumoniae* se identificaron dos mecanismos de resistencia: BLEE y AmpC (Malachowa y DeLeo, 2011). Así también lo menciona un estudio realizado por Castro *et al.* (2015) en una Institución Prestadora de Servicios de Salud (IPS) de segundo nivel del departamento de Boyacá en el año 2015. A partir de 458 cepas aisladas, se identificó el mecanismo BLEE como el presente en todos los aislados Gram negativos evaluados. Así queda confirmado que en Boyacá este es el mecanismo de resistencia más frecuente en los aislados hospitalarios en cepas Gram negativas.

Ahora, en la ciudad de Cartagena, un estudio realizado a partir de muestras de infecciones de tracto urinario producidas por *E. coli* (Asenjo *et al.*, 2012) mostró que, de 90 cepas aisladas, 7 presentaron fenotipo BLEE. En este estudio se describieron también los factores asociados a dicha resistencia y se encontró que existe asociación entre la infección y la historia clínica de hospitalizaciones recientes, suspensión del tratamiento y recurrencia de infecciones. De otra parte, un hallazgo importante es la susceptibilidad a cefalosporinas en aquellos pacientes sin hospitalización previa, lo que sugiere que la *E. coli* que presenta los genes que codifican enzimas de resistencia está relacionada con la exposición no controlada a los antibióticos.

Del mismo modo, estudios internacionales muestran una alta prevalencia de *E. coli* aislada de muestras de sangre y orina durante el año 2010. De 59 aislamientos productores de BLEE, el 86,4 % mostró este fenotipo en muestras de orina y un 13,6 % en hemocultivos (Ticona, 2014).

Conclusiones

La resistencia bacteriana es un problema de importancia en salud pública y existe dificultad para su manejo y tratamiento, pues hay pocas opciones farmacológicas para el control de procesos infecciosos. Desafortunadamente, la presencia de microorganismos multirresistentes está presentándose con frecuencia en el departamento de Boyacá.

Los fenotipos de resistencia circulantes en el departamento y con mayor presentación en los estudios realizados fueron carbapenemasas, BLEES y AmpC en Gram negativos, y resistencia a la meticilina en Gram positivos. Con relación a fenotipos AmpC, se evidenció un alto porcentaje de resistencia a cefalosporinas de primera generación como cefazolina y cefamicina, y a betalactámicos como ampicilina.

El hallazgo de una cepa con fenotipo de resistencia BLEE y carbapenemasa muestra el impacto que genera el tratamiento empírico sin apoyo diagnóstico del laboratorio. Es importante entonces adaptar las recomendaciones de las guías de manejo en el medio extrahospitalario de acuerdo con los perfiles epidemiológicos regionales y la terapéutica antibiótica que se ordena en la atención primaria.

Los expuestos en este capítulo son datos que evidencian la propagación de los mecanismos de resistencia, lo que genera la urgente necesidad de obtener información del flujo de bacterias asociadas a infecciones relacionadas con la atención en salud [IAAS] en el medio intrahospitalario y en la comunidad. El objetivo es fortalecer el sistema de vigilancia epidemiológica y las políticas del uso racional de antibióticos como estrategia de contención.

Consideraciones Éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que en este artículo no se realizaron experimentos con animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que los datos tuvieron un manejo ético y confidencial de la información según las normas constitucionales y legales sobre protección de datos personales (Ley habeas data).

Todos los datos analizados de los diferentes proyectos fueron revisados y avalados por el Comité de Bioética Institucional de la Universidad de Boyacá.

Referencias

- Aguayo-Reyes, A., Quezada-Aguiluz, M., Mella, S., Riedel, G., Opazo-Capurro, A., Bello-Toledo, H., Domínguez, M. y González-Rocha, G. (2018). Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista Chilena Infectología*, 35(1), 7–14. <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000100007>
- Angarita, M., Di Filippo, G., Mora, D. y Ferrebuz, A. (2019). Perfil de resistencia de microorganismos circulantes en una Institución Prestadora de Servicios de salud en el Departamento de Boyacá, 2018. *Revista de Investigación en Salud*, 6(1), 120–144. <http://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/327/457>
- Asenjo, Z., Alarcón, E., Limo, J., Llontop, J. y Valle, J. (2012). Detección de genes shv y tem en cepas de *Escherichia coli* productoras de B-lactamasas de espectro extendido procedentes de dos centros hospitalarios de Chiclayo- Perú: enero-agosto 2011. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 5(3), 13-16, <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4040370&info=resumen&idioma=ENG>
- Bello, A., & Dingle, T. C. (2018). What's That Resistance Mechanism? Understanding Genetic Determinants of Gram-Negative Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Newsletter*, 40(20), 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2018.10.001>
- Blair, J., Webber, M., Baylay, A., Ogbolu, D., & Piddock, L. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Borsa, B., Demirci, M., Gungordu, Z., Karabiyik, G., & Aygun, G. (2019). Molecular mechanisms of colistin resistance among *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clinical Laboratory*, 65(7), 1125–1130. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.180705>
- Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 39, Issue 6, pp. 1211–1233). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
- Cao, M., Wang, S., Hu, J. H., Lu, B. H., Wang, Q. Y., & Zang, S. Q. (2022). Silver Cluster-Porphyrin-Assembled Materials as Advanced Bioprotective Materials for Combating Superbacteria. *Advanced Science*, 9(2), 2103721. <https://doi.org/10.1002/adv.202103721>

- Cardona, J. (2018). Revisión Sistemática sobre Elementos Genéticos Móviles Portadores de Genes de Resistencia a Antibióticos en Aguas Residuales, 2000-2017. *MedPub Journals*, 14(2), 1-7. <https://doi.org/10.3823/1387>
- Castellano-González, M. J., Ocando Chávez, J. D., Serrano Azuaje, A. C. y Sandoval-Castellano, I. V. (2021). Perfiles de resistencia a fluoroquinolonas en cocos Gram positivos de importancia clínica. *Kasmera*, 49(1), e49132301-e49132301. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1352446>
- Castro, L., Torres, M., Castañeda, L. I., López, D. y Quiroga, C. (2015). Caracterización fenotípica de bacilos Gram negativos con betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá*, 2(2), 116. <https://doi.org/10.24267/23897325.132>
- Costa, A., & Da Silva, G. (2018). Resistência à Colistina e sua Disseminação: Implicações em Saúde Pública Colistin Resistance and its Dissemination: Implications for Public Health. *Revista Portuguesa de Farmacoterapia*, 10(1), 47-52. <http://revista.farmacoterapia.pt/index.php/rpf/article/view/162>
- Durán, L. (2018). Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 29(2), 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2018.01.002>
- Endimiani, A., Ramette, A., Rhoads, D., & Jacobs, M. (2020). The Evolving Role of the Clinical Microbiology Laboratory in Identifying Resistance in Gram-Negative Bacteria: An Update. *Infectious Disease Clinics of North America*, 34(4), 659-676. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.08.001>
- Fang, L., Chen, C., Cui, C., Li, X., Zhang, Y., Liao, X., Sun, J., & Liu, Y. (2020). Emerging High-Level Tigecycline Resistance: Novel Tetracycline Destructases Spread via the Mobile Tet(X). *BioEssays*, 42(8), 2000014. <https://doi.org/10.1002/bies.202000014>
- Gastelo, R., & Maguiña, C. (2018). Mecanismos de resistencia bacteriana. *Diagnóstico*, 57(2), 1-5. <https://doi.org/https://doi.org/10.33734>
- Gutiérrez, O. (2015). Resistencia y susceptibilidad de microorganismos aislados en pacientes atendidos en una institución hospitalaria

- de tercer nivel, Villavicencio-Colombia, 2012. *Revista Cuidarte*, 6(1), 947. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.v6i1.148>
- Hall, B., & Barlow, M. (2005). Revised Ambler classification of β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55(6), 1050–1052. <https://doi.org/10.1093/jac/dki130>
- Hawkins, P., Law, C., Metcalf, B., Chochua, S., Jackson, D., Westblade, L., Jerri, R., Beal, B., & McGee, L. (2017). Cross-resistance to lincosamides, streptogramins A and pleuromutilins in *Streptococcus agalactiae* isolates from the USA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(7), 1886–1892. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx077>
- Hooper, D., & Jacoby, G. (2016). Topoisomerase inhibitors: Fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(9), 1–22. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>
- Khodabandeh M., Mohammadi M., Abdolsalehi M. R., Alvandimanesh A., Gholami M., Bibalan M. H., Pournajaf A., Kafshgari R., & Rajabnia R. (2019). Analysis of Resistance to Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Among *mecA*-Positive *Staphylococcus Aureus* Isolates. *Osong Public Health Res Perspect*. 10(1), 25-31. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2019.10.1.06>
- Kurnia, R., Indrawati, A., Ika, N. L., & Priadi, A. (2018). Molecular detection of genes encoding resistance to tetracycline and determination of plasmid-mediated resistance to quinolones in avian pathogenic *Escherichia coli* in sukabumi, Indonesia. *Veterinary World*, 11(11), 1581–1586. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1581-1586>
- Llor, C., Boada, A., Pons, M., Grenzner, E., Juvé, R., & Almeda, J. (2018). Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* in healthy carrier individuals in primary care in Barcelona area. *Atención Primaria*, 50(1), 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2016.12.008>
- Lopardo, H. (2020). Antibióticos Clasificación, estructura, mecanismos de acción y resistencia Libros de Cátedra. En H. Lopardo (Ed.), *Portal de Libros de la Universidad Nacional de La Plata* (Edupol, Vol. 1). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/103061>
- López, D., Torres, M., & Prada, C. (2015). Resistance genes in gram negative bacilli: Impact on public health in Colombia. *Revista Universidad y Salud*, 18(1), 190–202. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072016000100018

- Lozano, C., & Torres, C. (2017). Actualización en la resistencia antibiótica en Gram positivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35, 2–8. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(17\)30028-9](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(17)30028-9)
- Malachowa, N., & DeLeo, F. (2011). Staphylococcus aureus survival in human blood. *Virulence*, 2(6), 567–569. <https://doi.org/10.4161/viru.2.6.17732>
- Manassero, N., Navarro, M., Rocchi, M., Di Bella, H., Gasparotto, A., Ocaña, V., Novillo, F., Furiasse, D. y Monterisi, A. (2016). Análisis de 117 episodios de bacteriemia por enterococo: estudio de la epidemiología, microbiología y sensibilidad a los antimicrobianos. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 298–302. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.05.002>
- Morales, C. (2018). Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente(SARM) de la Unidad de Neonatología del Hospital Víctor Lazarte. *Pueblo Continente*, 29(1), 33–44. <http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/964>
- Morosini, M., Cercenado, E., Ardanuy, C. y Torres, C. (2012). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(6), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.009>
- Munita, J., & Arias, C. (2001). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23(5), 464–472. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015>
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F. y Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524–534. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.009>
- Perrin, E., Fondi, M., Bosi, E., Mengoni, A., Buroni, S., Scoffone, V., Valvano, M., & Fani, R. (2017). Subfunctionalization influences the expansion of bacterial multidrug antibiotic resistance. *BMC Genomics*, 18(1), 834. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4222-4>
- Pigrau, C., & Almirante, B. (2009). Oxazolidinones, glycopeptides and cyclic lipopeptides. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(4), 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.02.004>

- Portillo, A., Lantero, M., Zarazaga, M. Gastañares, M.J., Olarte, I., Undabeitia, E. Ruiz-Larrea, F., Torres, C. (2000). Resistencia a antibióticos macrólidos- lincosamidas-estreptograminas y mecanismos implicados en cepas clínicas de *Streptococcus* spp. en La Rioja. *Zubia Monográfico*, 12 (1), 11-26. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/298124.pdf>
- Pugazhendhi, A., Michael, D., Prakash, D., Priyadarshini, P., Shanmuganathan, R., Al, N., Al-Dhabi, N. A., Duraipandiyar, V., Valan Arasu, M., & Kaliannan, T. (2020). Antibigram and plasmid profiling of beta-lactamase producing multi drug resistant *Staphylococcus aureus* isolated from poultry litter. *Journal of King Saud University - Science*, 32(6), 2723–2727. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.06.007>
- Rincón, S., Panesso, D., Díaz, L., Carvajal, L., Reyes, J., Munita, J. y Arias, C. (2014). Resistencia a antibióticos de última línea en cocos Gram positivos: la era posterior a la vancomicina. *Biomédica*, 34(Supl.1), 191–208. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.2210>
- Rodríguez-Baño, J., Cisneros, J., Fernández, F., Ribera, A., Vila, J., Pascual, A., Martínez-Martínez, L., Pachón, J. & GEIH (2004). Clinical Features and Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* Colonization and Infection in Spanish Hospitals. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 25(10), 819–824. <https://doi.org/10.1086/502302>
- Saavedra, S., Bernal, J., Montilla-Escudero, E., Torres, G., Rodríguez, M., Hidalgo, A., Rivera, S., Pérez-Gutierrez, E., & Duarte, C. (2020). National surveillance of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* resistant to linezolid carrying the *optrA* gene in Colombia, 2014-2019. *Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health*, 44, e104–e104. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.104>
- Sánchez, Y., Urbano, E., González, F. y Ferrebuz, A. (2018). Caracterización fenotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de β -lactamasas y resistente a la meticilina. *Revista de Investigación en Salud*, 1(1), 125–143. <https://doi.org/10.24267/23897325.302>
- Seguel, N., Quezada, M., González, G., Bello, H., & Sánchez, G. (2020). Resistencia Antibiótica de *Enterococcus faecalis* Provenientes de Infecciones Endodónticas Persistentes. *Int. J. Odontostomat*, 14(3), 448–456. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300448>

- Silva, F., Cifuentes, M. y Pinto, E. (2011). Resultados de la vigilancia de susceptibilidad antimicrobiana en Chile: Consolidando una red. *Revista Chilena de Infectología*, 28(1), 19–27. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182011000100004>
- Silva, M., & Aquino, S. (2018). Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. *Revista Epidemiologia Controle Infecç*, 8(4), 472–482. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17058/reci.v8i4.11580>
- Singh, P., & Jain, A. (2019). Limited scope of shorter drug regimen for MDR TB caused by high resistance to fluoroquinolone. *Emerging Infectious Diseases*, 25(9), 1760–1762. <https://doi.org/10.3201/eid2509.190105>
- Tafur, J., Torres, J., & Villegas, M. (2008). Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria. *Asociación Colombiana de Infectología*, 1(1), 1–11. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007
- Taléns, V., Garrigues, T. y Cantón, E. (2002). Quinolonas y *Streptococcus pneumoniae*. Mecanismo de acción y resistencia. *Revista Española de Quimioterapia*, 15(4), 313–324. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7361471>
- Tanko, N., Bolaji, R. O., Olayinka, A. T., & Olayinka, B. O. (2020). A systematic review on the prevalence of extended-spectrum beta lactamase-producing Gram-negative bacteria in Nigeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 488–496. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.04.010>
- Ticona, J. (2014). *Características clínicas y microbiológicas de las infecciones del tracto urinario por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes hospitalizados, servicio de medicina interna del Hospital Nacional Carlos Alberto Seguin Escobedo, ESSALUD, Arequipa 2012-2013*. (Universidad Católica de Santa María). <https://core.ac.uk/download/pdf/198129477.pdf>
- Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., Holland, T., & Fowler Jr, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203–218. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>

- Velázquez, C., Cornejo, P. y Volkow, P. (2016). Resistencia bacteriana de cultivos de orina en un hospital oncológico: seguimiento a diez años. *Salud Pública de México*, 58(4), 446–452. <https://doi.org/10.21149/spm.v58i4.8025>
- Villalobos, A., Barrero, L., Rivera, S., Ovalle, M., & Valera, D. (2014). Surveillance of healthcare associated infections, bacterial resistance and antibiotic consumption in high-complexity hospitals in Colombia, 2011. *Biomédica : Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 34(1), 67–80. <https://doi.org/10.1590/S0120-41572014000500009>
- Villalobos-Rodríguez, A., Díaz-Ortega, M., Barrero-Garzón, L., Rivera-Vargas, S., Henríquez-Iguarán, D., Villegas-Botero, M., Robledo-Restrepo, C. y Leal-Castro, A. (2011). Tendencias de los fenotipos de resistencia bacteriana en hospitales públicos y privados de alta complejidad de Colombia. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, 30(6), 627–633. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892011001200022>
- Wang, C. Y., Chen, Y. H., Fang, C., Zhou, M. M., Xu, H. M., Jing, C. M., Deng, H., Cai, H., Jia, K., Han, S., Yu, H., Wang, A., Yin, D., Wang, C., Wang, W., Huang, W., Deng, J., Zhao, R., Chen, Y., Yang, J., Wang, C., Che, Y., Nie, X., Wang, S., Hao, J., & Zhang, C. H. (2019). Antibiotic resistance profiles and multidrug resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in pediatrics: a multicenter retrospective study in mainland China. *Medicine (Baltimore)*, 98(24). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015942> .
- Zelmer, A.R., Nelson, R., Richter, K., & Atkins, G. (2022). Can intracellular *Staphylococcus aureus* in osteomyelitis be treated using current antibiotics? A systematic review and narrative synthesis. *Bone Res*, 10(53) <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00227-8>
- Zhang, G., Zhang, S., Pan, B., Liu, X., & Feng, L. (2018). 4-Quinolone derivatives and their activities against Gram positive pathogens. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 710–723. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.082>
- Zhu, J., Liu, B., Shu, X., & Sun, B. (2021). A novel mutation of *walK* confers vancomycin-intermediate resistance in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 311, 1438–4221. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2021.151473>.

CAPÍTULO II.

Determinantes genéticos de la resistencia bacteriana



● **Diana Paola López Velandia**

dplopez@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0002-5408-6140>.

Magíster en Ciencias Biológicas.
Universidad de Boyacá.

● **Maritza Angarita Merchán**

mangarita@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0002-0220-2701>.

Magíster en Sistemas Integrados de Gestión.
Universidad de Boyacá.

Introducción

En los últimos años se han realizado análisis a genomas que ponen en evidencia la existencia de al menos 20.000 genes de resistencia, aunque la expresión de la resistencia se presenta en muy pocos. Así se ha documentado la teoría de la transferencia horizontal de genes, fundamentada en la identificación de islas genómicas de patogenicidad en patógenos de animales, plantas y humanos, las cuales se han investigado gracias al estudio de las secuencias de genes bacterianos (Torres *et al.*, 2018).

Dichos mecanismos de resistencia están presentes en bacterias Gram negativas y Gram positivas e implica un desafío evolutivo en cuanto a menudo las bacterias adquieren determinantes genéticos; esto puede presentarse por elementos genéticos móviles capaces de moverse dentro o entre moléculas de ADN, que incluyen secuencias de inserción, transposones y casetes/integrone de genes, y por elementos que pueden transferirse entre células bacterianas, como plásmidos y elementos integrativos y conjugativos (ICE) (Estepa *et al.*, 2017). Esa transferencia puede darse entre la misma o diferente especie, inclusive entre Gram positivas y Gram negativas, también, la inserción de pequeños fragmentos dentro del cromosoma bacteriano puede transferirse de manera horizontal, de modo que adquieren genes de resistencia más fácilmente.

Aparte de este mecanismo, existen otras formas para que las bacterias obtengan esos determinantes genéticos, entre ellas predomina la transferencia por medio de la

conjugación, transformación y transducción (Figura 7) (Partridge *et al.*, 2018).

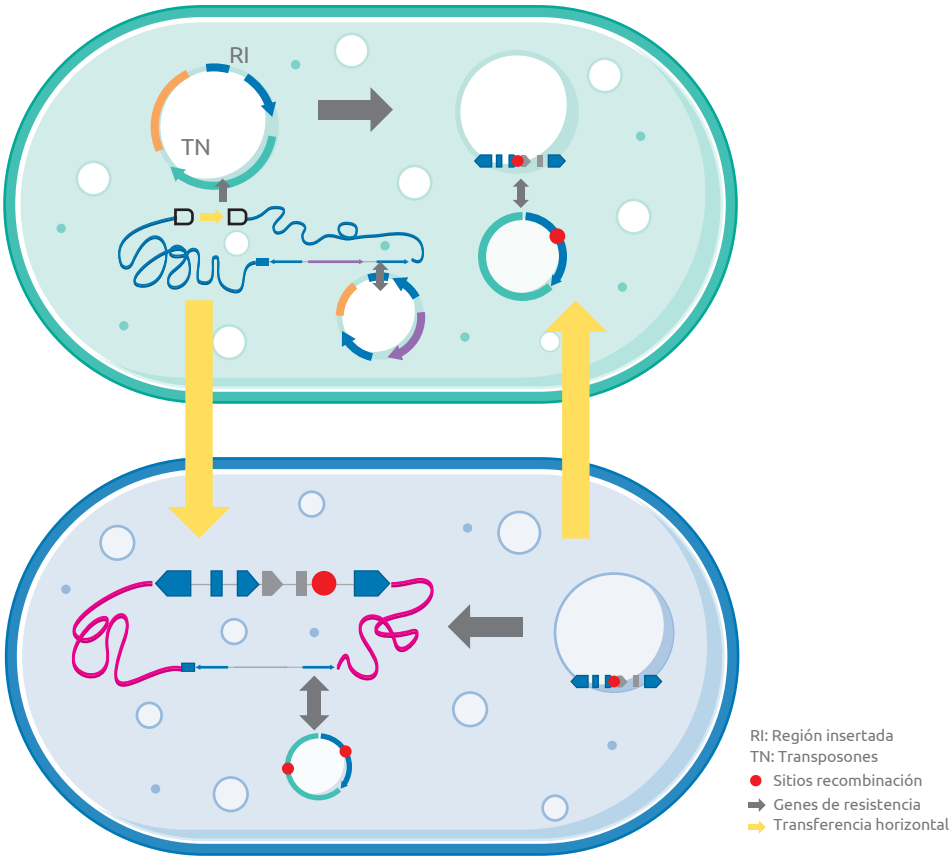


Figura 7. Intercambio de determinantes genéticos
Fuente: Elaboración Propia

De otra parte, se conocen otros mecanismos para que las bacterias puedan llegar a ser resistentes, como la producción de enzimas que inactivan antibióticos, la modificación del sitio diana, la disminución de la permeabilidad de la membrana celular y las bombas de eflujo (Bello & Dingle, 2018) (Tabla 2).

Tabla 2 . Determinantes genéticos frecuentes de Gram negativos

Mecanismo	Antibióticos	Fenotipo de resistencia	Genes de resistencia representativos	Ubicación del gen	Gram-negativos que con mayor frecuencia presentan el gen de resistencia
Enzimas que inactivan antibióticos	Betalactámicos	Penicilinas clase A de Ambler	<i>bla</i> TEM, <i>bla</i> SHV	P o C	<i>Enterobacteriaceae</i>
		Ambler clase A BLEE	<i>bla</i> TEM, <i>bla</i> SHV, <i>bla</i> CTX-M	P o C	<i>Enterobacteriaceae</i>
		Carbapenemasa de clase A de Ambler	<i>bla</i> KPC <i>bla</i> SME <i>bla</i> NMC <i>bla</i> IMI <i>bla</i> GES	P o C	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [<i>P. aeruginosa</i>], <i>Acinetobacter baumannii</i> [<i>A. baumannii</i>]
		Metalobetalactamasa de clase B de Ambler	<i>bla</i> NDM <i>bla</i> VIM <i>bla</i> IMP <i>bla</i> GIM <i>bla</i> SIM	PAG	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>
		Cefalosporinas clase C de Ambler	<i>bla</i> CMY, <i>bla</i> MIR, <i>bla</i> MOX, <i>bla</i> LAT, <i>bla</i> FOX, <i>bla</i> DHA, <i>bla</i> ACT, <i>bla</i> ACC, <i>bla</i> CFE	P o C	C - Organismos SPICE-HaM P - Otras <i>Enterobacteriaceae</i>
		Ambler clase D BLEE o carbapenemasa	<i>bla</i> OXA	P o C	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>
	Aminoglucósido	AME - acetiltransferasa (AAC)	<i>aac</i> (3) -, <i>aac</i> (6') -	P o C	Numerosos organismos Gram-negativos
		AME - nucleotidiltransferasa (ANT)	<i>hormiga</i> (2') -	P o C	Numerosos organismos Gram-negativos
		AME - fosfotransferasa (APH)	<i>aph</i> (3') -	P o C	Numerosos organismos Gram-negativos
Modificación del objetivo de antibióticos	Betalactámicos	Alteración de PBP	<i>ftsI</i> , <i>penA</i>	C	<i>Haemophilus influenzae</i> [<i>H. influenzae</i>], <i>Neisseria</i> spp. , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i>
	Fluoroquinolonas	Protección de ADN girasa	<i>qnr</i>	P o C	Numerosos organismos Gram-negativos
		Alteración de la ADN girasa	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	C	Numerosos organismos Gram-negativos
		Alteración de la topoisomerasa IV	<i>parC</i> , <i>parE</i>	C	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i>
	Aminoglucósidos	Metilación del ARNr 16S	<i>rmtA</i> , <i>rmtB</i> , <i>rmtC</i> , <i>armA</i>	PAG	Numerosos organismos Gram-negativos
	Trimetoprima/sulfametoxazol	Mutación DHPS	<i>folP</i> , <i>sulI</i> , <i>sulII</i>	PAG	Numerosos organismos Gram-negativos
		Mutación DHFR	<i>dfr</i> <i>dhfrI</i>	PAG T (Tn 7)	<i>H. influenzae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Escherichia coli</i> [<i>E. coli</i>]
	Polimixinas	Alteración de LPS	<i>mcr</i>	PAG	<i>Enterobacteriaceae</i>
Bomba de eflujo	Numeroso	Expresión de la familia RND	<i>acrAB</i> , <i>tolC</i> <i>adeABC</i> <i>mex</i> <i>sdeAB</i> , <i>sdeCDE</i> <i>smeABC</i>	P o C	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>A. baumannii</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> [<i>S. marcescens</i>] <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> [<i>S. maltophilia</i>]
		Expresión ABC	<i>vcaM</i> , <i>macAB</i>	C	<i>Vibrio cholerae</i> [<i>V. cholerae</i>], <i>E. coli</i>
		Expresión MFS	<i>emrAB</i>	C	<i>E. coli</i>
		Expresión MATE	<i>norma</i> , <i>ydhE</i>	C	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> [<i>V. parahaemolyticus</i>], <i>E. coli</i>
		Expresión SMR	<i>emrE</i> , <i>qac</i> , <i>sugE</i>	C	Numerosos organismos Gram-negativos
		Sobreexpresión de la bomba de eflujo	<i>mex</i> , <i>adeABC</i> , <i>marA</i> , <i>yhiV</i> , <i>soxX</i> , <i>mdfA</i> , <i>mtrCDE</i>	C	<i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> [<i>N. gonorrhoeae</i>]
		Pérdida de la función de la porina	<i>oprD</i>	C	<i>P. aeruginosa</i>
Barrera de permeabilidad	β-lactámicos	Mutación de la porina (bucle L3)	<i>omp36</i> , <i>porB</i> , <i>ompF</i> , <i>ompC</i> , <i>carO</i>	C	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>Acinetobacter</i> spp. , <i>Enterobacteriaceae</i>

P, plásmido; C, cromosoma; T, transposón

Fuente: elaboración propia con base en datos de Bello y Dingle (2018).

Con el objetivo de la mejor comprensión de la temática abordada y la información previamente expuesta, se hace un acercamiento a los componentes genéticos de la resistencia bacteriana de cepas Gram negativas y Gram positivas:

Genes de resistencia en bacterias Gram negativas

La identificación de cepas resistentes ha sido uno de los grandes desafíos para el laboratorio de microbiología. En la última década ha adquirido gran importancia la caracterización de genes encargados de codificar la resistencia a antibióticos, especialmente en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, pues estas son consideradas los microorganismos más frecuentes. Al respecto, la OMS publicó una lista de prioridades mundiales de bacterias patógenas resistentes a los antimicrobianos, en el que se encuentra este grupo de bacterias.

El alto número de cepas resistentes en humanos está asociado a las frecuentes visitas a hospitales, estadías prolongadas en establecimientos de salud, hospitales de atención terciaria y hospitales universitarios (Taggar *et al.*, 2020). La tipificación de estos genes ha demostrado que la detección rápida de resistencias mejora los resultados de los pacientes, pues disminuye la mortalidad, la duración de la estancia hospitalaria, las tasas de superinfección y reacciones adversas a los medicamentos y, por ende, reduce los costos (Endimiani *et al.*, 2020).

AmpC

Los genes que codifican estas betalactamasas se encuentran comúnmente en los cromosomas de algunas *Enterobacteriaceae* como *Citrobacter freundii* [*C. freundii*], *Morganella morganii* [*M. morgananni*], *Providencia* spp.,

Enterobacter spp. y *S. marcescens*, y puede transmitirse a los plásmidos. La resistencia a cefalosporinas de amplio espectro entre *Enterobacteriaceae* que carecen de genes *AmpC* cromosómicos inducibles como *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp. y *Proteus mirabilis* [*P. mirabilis*] ha surgido mediante la adquisición de betalactamasa AmpC mediada por plásmido (Etemadi *et al.*, 2020; Tamma *et al.*, 2019). Dentro de este gen se han identificado variaciones alélicas y actualmente han surgido numerosas betalactamasas tipo AmpC. Sin embargo, la betalactamasa *bla* CMY-2 de tipo AmpC es la más prevalente.

Entre bacterias Gram negativas, el gen *bla* CMY-2 se puede encontrar de forma plasmídica y proporciona resistencia a antibióticos betalactámicos como penicilina, cefoxitina o cefotetan, cefalosporinas, especialmente cefalosporinas de tercera generación, y ocasionalmente carbapenémicos (Fallah *et al.* 2020; Tamma *et al.*, 2019).

Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Durante la década de 1980, las BLEE evolucionaron principalmente por mutación puntual de *bla* TEM, *bla* SHV y *bla* OXA. No obstante, desde el 2000 empezaron a presentar cambios genotípicos en los que la betalactamasa tipo *bla* C-TX-M se identificó con una presentación más alta entre las bacterias Gram negativas (Chevet *et al.*, 2012).

Las BLEE hidrolizan el anillo betalactámico de las cefalosporinas de tercera generación. Los genes codificantes para la resistencia a las betalactamasas son de origen plasmídico, el cual es una estructura que puede llegar a ser altamente móvil y albergar genes de otro tipo de resistencia a otras clases de antimicrobianos no relacionados, como quinolonas y aminoglucósidos. Durante el proceso catalítico, las

enzimas TEM, SHV y CTX-M utilizan sus residuos Ser70, Glu166, Lys73, Lys234 y Ser130, y la enzima OXA utiliza residuos Ser70, Lys73, Ser118 y Lys216 secuencialmente, lo que genera su hidrólisis. Se han reportado e identificado más de 211 variantes de estas enzimas, que se originan principalmente por sustituciones de un solo aminoácido que conducen a una alteración de la especificidad del sustrato y la actividad hidrolítica (Dhara & Tripathi, 2014).

Los genes *bla*TEM, *bla*SHV y *bla*CTX-M mediados por plásmidos son los más comunes en las especies de *Klebsiella* spp., seguido de *E. coli*. Estos genes BLEE producen enzimas que son capaces de llevar a cabo la hidrólisis de cefalosporinas y monobactamas de amplio espectro, pero que son inactivas frente a cefamicinas e imipenem. Se ha demostrado que cambios alélicos en los genes conducen a la sustitución en la secuencia de uno o dos aminoácidos, los cuales pueden mejorar la actividad catalítica de las betalactamasas contra las cefalosporinas de espectro extendido. La principal sustitución del aminoácido Gly238Ser en las betalactamasas TEM o SHV produce hidrólisis de las oximinocefalosporinas, mientras que la sustitución de Glu240Lys aumenta la actividad enzimática (Elmowalid *et al.*, 2018).

Gen *bla*CTX-M

La primera enzima CTX-M (cefotaximasa) se descubrió en 1986. Esta familia de BLEE ahora incluye más de 60 enzimas diversas en cinco grupos filogenéticos (Dhara & Tripathi, 2014).

Los genes *bla*CTX-M, en particular *bla*CTX-M-15, han estado involucrados en diversas situaciones epidemiológicas y se han diseminado por todos los continentes como resultado de plásmidos epidémicos y/o cepas epidémicas particulares. Su prevalencia aumenta constantemente

y varía del 6 % al 88 % en varios entornos de atención médica en todo el mundo. Además, los genes *bla*TEM y *bla*CTX-M son los genes productores de BLEE más comunes (Pishtiwan & Khadija, 2019). Incluso, los genes *bla*CTX-M se han convertido en el genotipo BLEE más comúnmente detectado en diversas ubicaciones geográficas del mundo, aunque existe una variación en las tasas de resistencia a los antimicrobianos y los genes asociados, dependiendo del área geográfica del estudio (Yasir *et al.*, 2020).

Gen *bla* TEM

La primera betalactamasa fue identificada en Grecia en la década de 1960. Esta era mediada por plásmidos en bacterias Gram negativas y se denominó TEM por el paciente del que se aisló (Temoniera). Dicha betalactamasa estaba presente en una cepa de *E. coli* (Haghighatpanah *et al.*, 2016). Posteriormente, se descubrió una enzima estrechamente relacionada y se denominó TEM-2. Esta presentaba características similares a la TEM-1 en cuanto a sus propiedades bioquímicas, y se diferenciaban por el cambio de un solo aminoácido (Gln por Lys en la posición 39) que resulta en un valor de punto isoeléctrico distinto: para TEM-1 de 5,4 y para TEM-2 de 5,6. Las cepas que adquieren el gen por lo general son microorganismos multirresistentes (Fast & Sutton, 2013).

Resistencia a carbapenémicos

Dentro de los antibióticos betalactámicos, los carbapenémicos se consideran la última opción de tratamiento para las infecciones causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes, por lo que la aparición de resistencias a esta familia involucra graves implicaciones para la salud pública. Desafortunadamente, la producción de enzimas resistentes es cada vez más frecuente, lo que ha limitado las opciones terapéuticas disponibles (Rodríguez *et al.*, 2020).

Las carbapenemasas son enzimas que pertenecen a las betalactamasas, que se dividen en diferentes clases: las principales son las metalobetalactamasas (Clase B de Ambler), de mayor frecuencia en bacterias no fermentadoras, y las Serinocarbapenemasas (Clase A de Ambler), predominantes en enterobacterias (Torres *et al.*, 2018).

Dentro de las betalactamasas, las tipo A de la clasificación de Ambler (KPC), las clase B (VIM, IMP, NDM) y las clase D (OXA-48) son las que se encuentran con mayor frecuencia y generan infecciones en el ámbito hospitalario, de igual forma, existen variantes de los genes que codifican para estas enzimas, como los clones de alto riesgo (ST) adquiridos en hospitales. Entre ellos están las variantes ST258 y ST11, las cuales se difundieron en todo el mundo (Vargas *et al.*, 2019).

Por otro lado, las enzimas que confieren la resistencia a carbapenémicos se encuentran clasificadas dentro de tres clases de Ambler: clase A, incluidas las carbapenemasas de serina KPC, FRI, IMI y SME; clase B, incluidas las metalobetalactamasas, VIM, NDM, e IMP; y clase D, incluidos OXA-48, OXA-23, OXA-24 y OXA-58. Sus genes codificantes llevan el mismo nombre. Ante esto, la transferencia horizontal de genes de plásmidos que transportan genes que codifican carbapenemasas juega un papel clave en la propagación de estas bacterias multirresistentes (Soliman *et al.*, 2020).

Las metalobetalactamasas están clasificadas en la clase B según hidrolizan antibióticos betalactámicos, excepto los monobactámicos que son inhibidos por quelantes de cationes divalentes como EDTA y mercaptoacetato de sodio, y según hidrolizan los inhibidores de betalactamasas, como el ácido clavulánico y la sulbactam (Togneri *et al.*, 2013). De otro lado, existen muchos tipos de carbapenemasas que se encuentran en plásmidos como los presentes en *Klebsiella*

pneumoniae [*K. pneumoniae*], OXA-betalactamasas y metalobetalactamasas, incluyendo Nueva Delhi MBL [NDM], Verona Integron codificada metalobetalactamasa [VIM] y metalobetalactamasa de tipo IMP (Yamakawa *et al.*, 2019).

Gen ^{bla}KPC

Este gen se ubica dentro de un elemento genético móvil y confiere resistencia a todos los antibióticos betalactámicos. Fue identificado por primera vez en 1996 en Estados Unidos y ha tenido una distribución global (Limbago *et al.*, 2011). *K. pneumoniae* es considerada la especie más importante en la producción de KPC, sin embargo, se ha detectado en otras cepas de la familia *Enterobacteriaceae* como *Klebsiella oxytoca* [*K. oxytoca*], *Salmonella enterica* [*S. enterica*], *E. coli*, *M. morganii*, *Proteus* spp., *C. freundii*, *S. marcescens*, *Enterobacter* spp., *Raoultella ornithinolytica* [*R. ornithinolytica*], *Pantoea* spp. y *Providencia* spp. De igual forma, ha sido reportada en bacilos Gram negativos no fermentadores como *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Raoultella* spp. y *Pantoea* spp. (Saldanha Ribeiro *et al.*, 2016).

Gen OXA

Las enzimas de las carbapenemasas de clase D son las OXA-β-lactamasas, subdivididas en varios subgrupos, principalmente ^{bla}OXA-24/40, ^{bla}OXA-23, ^{bla}OXA-58, ^{bla}OXA-143, ^{bla}OXA-51 y ^{bla}OXA-48. Estas betalactamasas de tipo OXA se encuentran ampliamente en *Acinetobacter* spp., que es la más abundante ^{bla}OXA-51 que está codificada cromosómicamente y, por lo tanto, es intrínseca a estas especies, aunque puede conferir resistencia a los carbapenémicos cuando su expresión está regulada por incremento por reorganización genética. Estas enzimas se encuentran agrupadas en dos clases: (I) carbapenemasas identificadas por primera vez en otras familias bacterianas

antes de la diseminación secundaria en enterobacterias (OXA-198, OXA-23, OXA-58 y OXA-40), y (II) carbapenemasas identificadas por primera vez en enterobacterias (OXA-372 y OXA-427) (Aruhomukama *et al.*, 2019).

Dentro de las variantes de este gen está *bla* OXA-23, que ha sido identificado en plásmidos conjugativos diferentes, aunque es el más común en *A. baumannii*. El gen *bla* OXA-23 se encuentra con mayor frecuencia en varios transposones asociados con IS Aba1 (por ejemplo, Tn 2006 o Tn 2008) o IS Aba4 (Tn2007). Esta cabapenemasa está ampliamente distribuida, pero en el año 2002 fue descrita en un género distinto a *Acinetobacter* spp. Dentro de las variantes descritas en otras enterobacterias está la OXA-198 en *P. aeruginosa*, OXA-372 en *C. freundii*, OXA427 en *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Providencia rettgeri* [*P. rettgeri*], *K. oxytoca* y *S. marcescens* (Bonnin *et al.*, 2020).

Gen *bla* VIM

Las metalobetalactamasas fueron identificadas por primera vez en una *P. aeruginosa* de Italia en 1999, poco después de provocar un brote generalizado en un hospital griego (Protonotariou *et al.*, 2020). Este gen ha sido identificado en especies como *K. pneumoniae* y *E. cloacae*. Se puede encontrar como plásmidos y transposones, también conocidos como elementos genéticos móviles, los cuales pueden portar integrones que incluyen genes que codifican resistencia a los medicamentos aminoglucósidos, sulfonamidas y fluoroquinolonas a través de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, dihidrofolato reductasa [*dhfr*] y resistencia a quinolonas mediada por plásmidos [*qnr*] (Villa *et al.*, 2017).

Gen ^{bla} *NDM-1*

La inhibición de las metalobetalactamasas [MBL] está mediada por agentes quelantes de Zinc, como el ácido etilenodiamino tetra acético [EDTA]. Los genes que las codifican para estas enzimas, como el ^{bla}*NDM-1*, son de origen plasmídico o cromosómico. Las MBL son las encargadas de la hidrólisis de un amplio grupo de antibióticos betalactámicos, incluyendo carbapenemas, penicilinas y cefalosporinas (1ª, 2ª, 3ª y 4ª generación); sin embargo, presentan sensibilidad a aztreonam. Por consiguiente, son de gran importancia clínica, ya que actúan frente a los carbapenémicos que son de amplio espectro de acción y son utilizadas como último recurso en tratamientos de infecciones con resistencia a otros antibióticos betalactámicos, principalmente en bacilos Gram negativos resistentes (Estepa *et al.*, 2017).

Tabla 3. Variantes del gen *bla* *NDM-1*

Variantes NDM-1	Sustitución de aminoácidos
<i>NDM-2</i>	P28A
<i>NDM-3</i>	D95N
<i>NDM-4</i>	M154L
<i>NDM-5</i>	V88L, M154L
<i>NDM-6</i>	A233L
<i>NDM-7</i>	D130N, M154L
<i>NDM-8</i>	D 130 por G / M154L
<i>NDM-9</i>	Q 152 por K
<i>NDM-10</i>	R32S, G36D, G69S, A74T y G200R
<i>NDM-12</i>	G 22 por D/ M154L
<i>NDM-13</i>	D95N, M154L
<i>NDM-14</i>	D130G
<i>NDM-15</i>	A233V, M154L
<i>NDM-16</i>	A264H
<i>NDM-17</i>	V88L, M154L, E170L

Fuente: elaboración propia con base en datos de Khan *et al.* (2017).

El gen ^{bla}*NDM-1* presenta diferencia a las características con otras MBL, pero posee un 32,4 % de identidad con *VIM-1/VIM-2*. Por la misma razón, se sugiere que *NDM-1* se encuentra en la subclase B1 (Monge, 2013). A la fecha se conocen 17 variantes de *NDM-1* relacionadas (Tabla 3),

entre las que se identifican las sustituciones de aminoácidos (Khan *et al.*, 2017).

Resistencia colistina

Las polimixinas son antibacterianos de tipo bactericida e incluyen seis compuestos: A, B, C, D, E y M. Son consideradas como la terapia de último recurso contra las enterobacterias resistentes a carbapenémicos. Su descubrimiento se dio en 1947 por Koyama *et al.*, quienes le otorgaron su nombre por tratarse de un metabolito secundario de *Paenibacillus polymyxa* subsp. *colistinas*, bacteria Gram positiva presente en el suelo (Melgarejo, 2022). En el 2015 fue descrita la resistencia de *Enterobacteriaceae* transferible a la colistina mediada por el plásmido (gen *mcr-1*) en aislados humanos, animales y ambientales (Dalmolin *et al.*, 2018). Actualmente se conocen alrededor de 22 variantes genéticas del “gen” *mcr-1*, las cuales son completamente funcionales y sus diferencias radican en uno o pocos aminoácidos, que les provocan una elevada identidad de nucleótidos y aminoácidos que les permiten efectos similares para la resistencia a la colistina. Estas variantes son: *mcr-1.1*, *mcr-1.2*, *mcr-1.3*, *mcr-1.4*, *mcr-1.5*, *mcr-1.6*, *mcr-1.7*, *mcr-1.8*, *mcr-1.9*, *mcr-1.10*, *mcr-1.11*, *mcr-1.12*, *mcr-1.13*, *mcr-1.14* y *mcr-1.15*, *mcr-1.16*, *mcr-1.17*, *mcr-1.18*, *mcr-1.19*, *mcr-1.20*, *mcr-1.21* y *mcr-1.22* (Melgarejo 2022).

Gen *mcr-1*

En 1996 se identificó resistencia a los carbapenémicos. Esta se convirtió en una preocupación fundamental en el sector sanitario, debido al aumento de la mortalidad y a las limitadas opciones terapéuticas. Por esta situación, la tigeciclina y la colistina se emplean como la “terapia de última línea” para estos organismos resistentes. No

obstante, el uso excesivo de la colistina ha conducido a un aumento de la notificación de patógenos bacterianos resistentes en todo el mundo, y esa es la principal causa de la resistencia a las polimixinas, junto con la modificación del lipopolisacárido [LPS] y su asociación a sistemas de dos componentes: *phoPQ*, *pmrAB* y el regulador *mgrB* (Mobasser *et al.*, 2019).

El gen *mcr-1* fue identificado por primera vez en China en el año 2015, a partir de aislados de *E. coli* en alimentos (Srinivas & Rivard, 2017). Se encontró que era transmitido por plásmidos y que se propagaba fácil y rápidamente entre diferentes poblaciones bacterianas. Este gen codifica una proteína transmembrana citoplásmica conocida como MCR-1, presente en bacterias Gram negativas, la cual se produjo gracias a una modificación de la ubicación 1' o 4' del grupo principal del lípido A. Su efecto consiste en ocultar los grupos fosfato cargados negativamente en la superficie bacteriana y retirar la atracción electrostática inicial de la que dependen en gran medida la colistina y otras polimixinas (Son *et al.*, 2019).

Genes de resistencia en bacterias Gram positivas

Gen *mecA*

Los primeros aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina [SARM] fueron reportados en 1961 tras la introducción de la meticilina en la práctica clínica. Al poco tiempo, se evidenció que presentaba un perfil heterogéneo de resistencia a antibióticos betalactámicos. Algunos estudios han reportado que dicha resistencia puede darse por mutaciones en los genes asociados con la división celular, así como al metabolismo central, los

cuales influyen en la expresión de la resistencia a los betalactámicos y el fenotipo resultante (Rolo *et al.*, 2017).

El gen *mecA* es el encargado de codificar una proteína de unión a la penicilina [PBP] de clase B, llamada PBP2A, la cual presenta un dominio C-terminal que cumple una función de transpeptidación y un dominio N-terminal sin ninguna función atribuida. La resistencia la proporciona el hecho de que esta PBP tiene una menor eficiencia de acilación por los antibióticos betalactámicos.

Este gen se transporta dentro de un elemento genético móvil cuyo nombre y sigla provienen del inglés “Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*” [SCC *mec*], el cual está delimitado por repeticiones directas e inversas. Estos casetes se encuentran en el cromosoma con el gen *orfX*, el cual codifica para una metiltransferasa ribosomal. Todos los casetes poseen un complejo de genes *mec*, que está compuesto por *mecA* (que codifica la PBP2a) y los genes *mecI* y *mecR*, cuyos productos regulan la expresión de la resistencia a meticilina (Aguayo-Reyes, *et al.*, 2018).

Dicho elemento genético móvil está compuesto por dos elementos centrales: el complejo *mec*, que contiene *mecA* y formas intactas y eliminadas de sus reguladores (*mecI*, *mecR1*); y el complejo *ccr*, compuesto por un casete de cromosomas recombinasas [*ccr*] involucrados en su movilidad (Miragaia, 2018).

La estructura genética del SCC *mec* presenta tres clases de complejos *mec*: A, B y C. La A con el complejo *mec* completo (*mecI*-*mecR1*-*mecA*), y las clases B y C que contienen genes reguladores de *mecA*, los cuales se interrumpen debido a la presencia de secuencias de inserción IS431Δ*mecR1*-*mecA* y ΨIS1272-Δ*mecR1*-*mecA*, respectivamente. La combinación de estos complejos ha hecho que actualmente se encuentren ocho tipos denominados de I

a VIII; los tipos I, IV, V, VI y VII codifican únicamente para la resistencia a antibióticos de tipo betalactámicos; los tipos II, III y VIII incluyen genes adicionales que le permiten la expresión de la resistencia a gran variedad de antibióticos (Luján, 2013) (Figura 8).

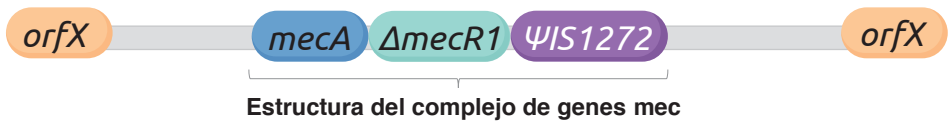


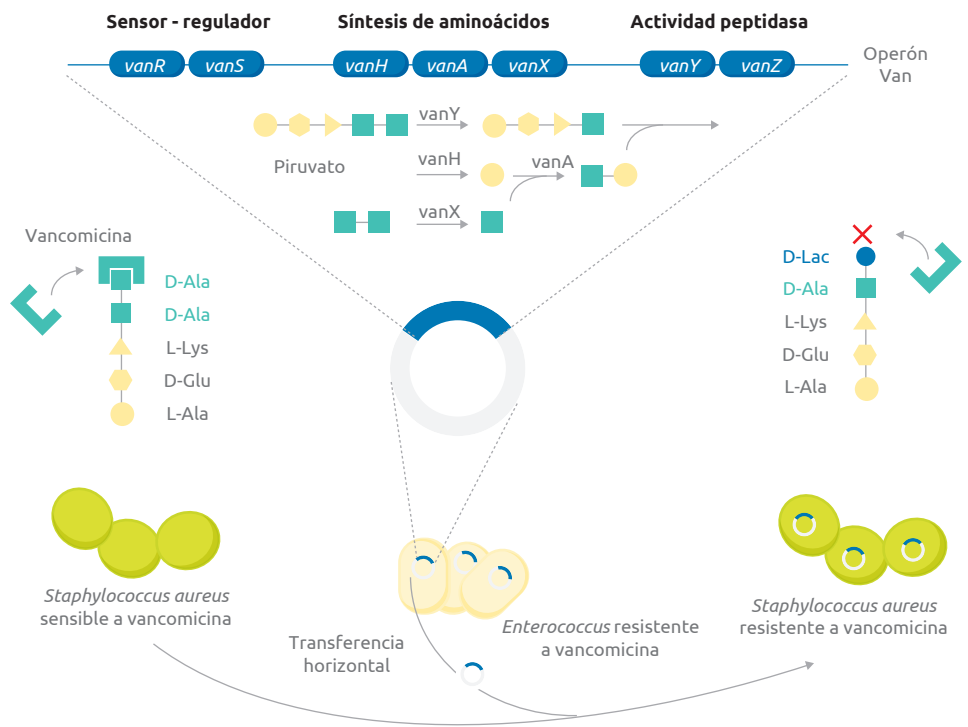
Figura 8. Estructura de SCCmec
Fuente: Elaboración propia

Este es un ejemplo de estructura de SCCmec con el transposón Tn554 en la región J2 (joining), responsable de la resistencia a diferentes antibióticos betalactámicos y no betalactámicos. También muestra los genes que regulan a *mecA* interrumpidos, debido a la presencia de secuencias de inserción IS431Δ*mecR1*-*mecA* y ΨIS1272-Δ*mecR1*-*mecA*, respectivamente.

Gen *Van*

La vancomicina es un glucopéptido que ha sido empleado para tratar infecciones por SARM. Sin embargo, en la década de los 80 se empezó a evidenciar resistencia no solo en *Staphylococcus* spp., sino también en *Enterococcus* spp. Su mecanismo está regulado por *vanA*, un operón que es codificado en el transposón Tn 1546, de un plásmido conjugativo presente en enterococos resistentes a vancomicina [VRE], mientras que *Staphylococcus aureus* [*S. aureus*] puede, durante el proceso de conjugación, adquirir plásmidos enterocócicos. La resistencia a la vancomicina en *S. aureus* se mantiene dentro de un plásmido enterocócico original o mediante una transposición de Tn 1546 del plásmido VRE en un plásmido residente de

estafilococos. La formación de la pared bacteriana de bacterias Gram positivas está dada por cadenas de glucanos NAG [N-acetilglucosamina] y NAM [N-ácido acetilmurámico], anclados entre sí mediante puentes de glicina y pentapéptidos por la unión de varios aminoácidos. La vancomicina interfiere con la síntesis de peptidoglicano en etapa tardía, pues forma enlaces de hidrógeno no covalentes con los penúltimos residuos de D-Ala-D-Ala de pentapéptidos recién sintetizados, lo que interrumpe el ensamblaje de peptidoglicano (Figura 9) (Ghahremani *et al.*, 2018; McGuinness *et al.*, 2017).



Nota: El operón vanA está compuesto por genes *vanA*, *vanH*, *vanX*, *vanS*, *vanR*, *vanY* y *vanZ*. Se controla mediante un sistema sensor-regulador conformado por dos componentes codificados por *vanS* y *vanR*, los cuales detectan la vancomicina y activan la transcripción del operón, respectivamente.

Figura 9. Mecanismo molecular de la resistencia a la vancomicina de tipo vanA en *Staphylococcus aureus*.
Fuente: elaboración propia con base en datos de McGuinness *et al.* (2017).

Gen *erm*

Los genes de la familia de la metilasa ribosómica [*erm*] codifican N-metiltransferasas y metilan el ARNr 23S para prevenir la unión de antibióticos. Este gen confiere resistencia a lincosamidas, macrólidos y estreptogramina B (Schroeder & Stephens, 2016).

La resistencia a los macrólidos está generada por la expresión de varios genes, dados por la modificación en la metilación del sitio diana ribosómico en el rRNA 23S, la protección del ribosoma a través de proteínas ABC-F, la salida activa a través de transportadores de la Superfamilia Facilitadora Mayor [MFS] y por la inactivación enzimática por fosfotransferasas o esterasas (Feßler *et al.*, 2018).

Materiales y métodos: investigaciones realizadas por GRIBAC

Las diferentes investigaciones adelantadas por el Grupo de investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico –GRIBAC– fueron estudios de tipo descriptivo de corte transversal. A partir de aislamientos de cepas bacterianas de origen clínico y animal (Tabla 4), se planteó el objetivo de identificar genes que codifican para la resistencia a antibióticos. Para la ejecución de los diferentes proyectos, se inició con aislamientos bacterianos, seguidos de la extracción de ADN bacteriano. Para ello se utilizaron kits comerciales siguiendo las indicaciones del fabricante. Una vez establecidas las condiciones de pureza y calidad de la muestra, se procedió al montaje de la reacción en cadena de la Polimerasa [PCR] convencional, con previa estandarización de protocolos, con el fin de establecer la presencia de genes codificantes para la resistencia a antibióticos (Tabla 5).

● **Tabla 4.** Resumen de proyectos, población, cepas bacterianas y genes estudiados

Título Proyecto	Población estudiada	Cepas bacterianas	Genes
Tipificación molecular de genes de resistencia en bacilos gramnegativos asociados a infecciones en una Institución Prestadora de Servicios de Salud del departamento de Boyacá.	Muestras provenientes de diferentes servicios de un hospital de tercer nivel de atención del departamento de Boyacá.	<i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>	BLEE: <i>bla</i> <i>TEM</i> , <i>bla</i> <i>SHV</i> , <i>bla</i> <i>CTXM-1</i> <i>AmpC</i>
Tipificación molecular de genes de resistencia en bacilos gramnegativos aislados de urocultivo en una Institución Prestadora de Servicios de Salud del departamento de Boyacá.	Muestras de orina provenientes de diferentes servicios de un hospital de tercer nivel de atención del departamento de Boyacá.	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. maltophilia</i>	BLEE: <i>bla</i> <i>TEM</i> , <i>bla</i> <i>SHV</i> , <i>bla</i> <i>CTXM-1</i> <i>AmpC</i>
Tipificación molecular de genes de resistencia en bacterias en una Institución Prestadora de Servicios de Salud.	Muestras provenientes de diferentes servicios de un hospital de tercer y cuarto nivel de atención del departamento de Boyacá.	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> [<i>E. aerogenes</i>] <i>Enterobacter cloacae</i> [<i>E. cloacae</i>] <i>C. freundii</i> <i>Citrobacter farmerii</i> [<i>C. farmerii</i>] <i>S. marcescens</i> <i>P. aeruginosa</i>	BLEE: <i>bla</i> <i>TEM</i> , <i>bla</i> <i>SHV</i> y <i>bla</i> <i>CTXM-1</i> AmpC: <i>MOX</i> , <i>CMY</i> , <i>DHA</i> , <i>ACC</i> , <i>MIR</i> y <i>FOX</i>
Detección de genes de resistencia a betalactámicos en aislamientos de <i>Staphylococcus</i> spp. asociados a mastitis bovina.	Muestra con mastitis provenientes de 61 fincas lecheras de Boyacá.	<i>Staphylococcus warneri</i> [<i>S. warneri</i>] <i>Staphylococcus xylosus</i> [<i>S. xylosus</i>] <i>Staphylococcus hominis</i> [<i>S. hominis</i>] <i>Staphylococcus epidermidis</i> [<i>S. epidermidis</i>] <i>Staphylococcus hyicus</i> [<i>S. hyicus</i>] <i>Staphylococcus chromogenes</i> [<i>S. chromogenes</i>] <i>Staphylococcus haemolyticus</i> [<i>S. haemolyticus</i>] <i>Staphylococcus simulans</i> [<i>S. simulans</i>] <i>Staphylococcus sciuri</i> [<i>S. sciuri</i>] <i>Staphylococcus lentus</i> [<i>S. lentus</i>] <i>Staphylococcus capitis</i> [<i>S. capitis</i>]	<i>mecA</i> <i>blaZ</i>

Fuente: elaboración propia

Tabla 5. Condiciones de la PCR

Gen	Secuencia 5' – 3'	Tamaño (pb)	Desnaturalización inicial	Ciclos	Alineamiento	Extensión	Extensión final
<i>blaTEM</i>	5'-AAACGC TGG TGAA AGTA 3' 5'-AGCG ATCTGTC TAT 3'	239	94°C, 30 segundos	35	49°C, 1 minuto	72°C 1 minuto	72°C 10 minutos
<i>blaSHV</i>	5'ATGCGT TATAT TCG CCTGTG 3' 5'-TGCTTTG TTA TTCGG GCCAA 3'	241	94°C, 30 segundos	35	56°C	72°C 1 minuto	72°C 10 minutos
<i>blaC-TX-M1</i>	5'-GACGAT GTCACTGG CTGAGC 3' 5'-AGCCG CCGACGCT AATACA 3'	499	94°C, 30 segundos	35	58°C	72°C 1 minuto	72°C 10 minutos
<i>Amp-C</i>	5'-ATCAAA AC TGGCA GCCG-3' 5'-GAGCCC GTT TTATGC ACCCA-3'	170	94°C, 30 segundos	35	56.9°C	72°C 1 minuto	
<i>blaZ</i>	5'-ACTTCA ACACCTGC TG CTTTC-3' 5'-TGACCAC TTT TATCAG CAACC-3'	639	94°C 30 segundos	35	55°C 30 segundos	72°C 30 segundos	72°C 5 minutos
<i>mecA</i>	5'-AAAATC GATGG TAAAGG TTGGC -3' 5' AGTTCTG CAGT ACCGGA TTTGC -3'	356	94°C 30 segundos	30	55°C 30 segundos	72°C 1 minuto	72°C 5 minutos

DN: desnaturalización inicial; CS: ciclos; Alin.: alineamiento;
Ext.: extensión; EF: extensión final

Fuente: Adaptado de Velandia *et al.* (2016),
Soares *et al.*, (2012) y Lee (2006).

Resultados

Los resultados obtenidos en relación con genes de resistencia en Gram negativos muestran una estrecha relación con el fenotipo de resistencia tipo BLEE. Se obtuvo un predominio del gen *TEM*, el cual confiere resistencia a ampicilina, penicilina y cefalosporinas de primera generación. Seguido aparece el predominio del gen *CTXM* que confiere resistencia a cefotaxima y a la ceftriaxona.

Respecto a la presencia del gen *SHV*, este se asocia con la resistencia a las penicilinas y a las cefalosporinas de primera generación. De su parte, el gen *AmpC* es de naturaleza inducible y puede hidrolizar cefamicinas, oximino cefalosporinas, monobactámicos y aminopenicilinas combinadas con inhibidores de betalactamasas (Figura 10).

La presencia de los cuatro tipos de estos genes es alarmante, ya que confirma que son cepas multirresistentes de interés en salud pública al presentarse en el 25 % de los aislamientos. No obstante, la correcta identificación de dichos genes permite ofrecer un tratamiento oportuno y efectivo a los pacientes que cursan infecciones de origen bacteriano, ya que las bacterias pueden presentar falsas sensibilidades. La identificación de genes mediante técnicas moleculares es considerada la prueba de oro, pues su detección ayuda a un tratamiento más rápido y efectivo, ya que disminuye morbilidad y mortalidades en los centros hospitalarios. Sin embargo, las técnicas moleculares son complementarias, ya que las pruebas genotípicas permiten definir si los microorganismos presentan el gen, aunque no siempre esté activo el mecanismo.

Por otro lado, una vez analizados los aislamientos de los dos centros hospitalarios, se observó que había una presencia alta de cepas del servicio de urgencias y consulta externa, por lo que se debería restringir el uso de antibióticos betalactámicos de amplio espectro e implementar medidas rigurosas de higiene para el control de las infecciones y para la prevención y control de la diseminación de microorganismos productores de betalactamasas. A su vez, estos servicios se encuentran dentro de los de mayor demanda, lo cual sugiere una grave problemática debido a que el mayor número de muestras aisladas son de pacientes ambulatorios, lo que demuestra la existencia de patógenos multirresistentes en la comunidad, por lo que se presume un uso indiscriminado de antibióticos en este medio.

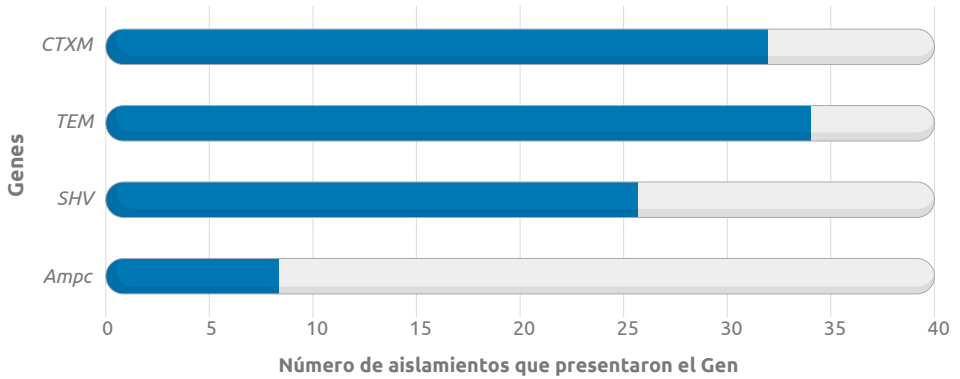


Figura 10. Genes de resistencia identificados en bacterias Gram negativas aisladas a partir de muestras clínicas
Fuente: elaboración propia

En lo relacionado con la detección de genes de resistencia en cepas Gram positivas, estos se identificaron en muestras de origen animal (mastitis) de donde se aislaron diferentes especies de *Staphylococcus* spp. Entre ellas se encuentran especies de *S. aureus*, *S. lentus*, *S. warneri* y *S. epidermidis* (n=87). De estas, el 83,9 % (73 aislamientos) presentaron el gen *blaZ* y el 5,7 % (5 aislamientos) el *mecA* (Figura 11). Las demás no presentaron ninguno de los dos genes.



Figura 11. Genes de resistencia identificados en bacterias Gram positivas de origen animal
Fuente: elaboración propia

Discusión

Los bacilos Gram negativos son una amenaza en los centros hospitalarios por tener circulación clonal con cepas de este tipo de genes, entre los que predomina el gen *TEM*. Esto es similar a lo reportado por Shaoo *et al.* (2019) en su estudio, en el que a partir de aislados clínicos predominaron los genes *TEM* y *CTXM*. De igual forma, en la ciudad de Ghana se detectó el gen *TEM* en un 48,1 %, como el de mayor detección en los aislados clínicos (Oduro *et al.*, 2016). No obstante, la prevalencia de los genes varía de acuerdo con la distribución geográfica.

Otras investigaciones han reportado presencia de genes que codifican para antibióticos betalactámicos en los que han sobresalido cepas productoras de *AmpC*, como *bla CTX-M-2* y *bla SHV-129* (Neto *et al.*, 2020). En Egipto identificaron aislados con multirresistencia en los que se detectaron las variantes *TEM1*, *SHV1*, *SHV11*, *SHV12* y *SHV31*. En México el predominio ha sido de variantes alélicas de *AmpC* como *CMY*, aunque este último es la betalactamasa de tipo *AmpC* más frecuente en enterobacterias como *E. coli*, reportada en países como España y Japón (Merida *et al.*, 2020). Para el año 2017, en Estados Unidos evaluaron diferentes grupos de genes entre los cuales predominaron el *CTXM* y *SHV*, resultados que difieren de lo obtenido en los datos analizados (Castanheira *et al.*, 2019).

Las infecciones dentro del entorno hospitalario son una de las principales problemáticas a nivel mundial, ya que la mortalidad por su causa es de alrededor del 30 %. Esto está directamente relacionado con pacientes inmunocomprometidos o con comorbilidades, que deben prolongar su tiempo de hospitalización, lo que genera mayores costos para el sistema de salud (Gómez y Sánchez, 2018).

La resistencia a betalactámicos está mediada por el gen *blaZ* que codifica la producción de penicilinasas (betalactamasas) que hidrolizan el anillo betalactámico de la penicilina. Los resultados reportados en nuestros estudios no presentan coincidencia, según lo encontrado fenotípicamente, al detectar betalactamasas con la prueba de Cefinasa, pues solo se encontraron 15 (n=67) aislamientos positivos. Genotípicamente, fue más detectable esta resistencia, con un 83,9 %, similar a lo reportado por otros autores como Michael Zschöck, quien en un estudio realizado en Venezuela reportó resistencia a betalactámicos en un 84,91 % (Castellano-González *et al.*, 2012).

La resistencia a la meticilina (oxacilina, meticilina, cloxacilina, nafcilina) en cepas *Staphylococcus* spp. de origen animal se debe a que las bacterias adquieren un gen codificante para la producción de una proteína fijadora de penicilina [PBP] de baja afinidad por los betalactámicos, lo que impide la acción del antibiótico. Las PBP2a o PBP2', de 78 kDa, son codificadas por el gen *mecA*, cuya expresión fenotípica de la resistencia es compleja y se puede afectar por diferentes factores, como presencia de secuencias cromosómicas reguladoras, osmolaridad, pH, temperatura, y de otros genes cromosómicos no relacionados.

Al respecto, es posible la diferenciación de dos tipos de cepas de SARM o de *Staphylococcus* coagulasa negativos resistentes a la meticilina: el primer grupo tiene expresión de resistencia homogénea y el segundo grupo tiene resistencia heterogénea. Las cepas del primer grupo, también conocidas como de alto nivel a la oxacilina, están presentes en la mayor parte de la población (Jiménez *et al.*, 2020).

Adicionalmente, se detectaron aislamientos que expresaron el gen *mecA*. Este resultado concuerda con lo obtenido en el antibiograma, pues los mismos aislamientos con resistencia a la oxacilina y la prueba positiva al cefoxitin presentaron

el gen. El bajo porcentaje de detección de este gen no se relaciona con los resultados de estudios nacionales que reportan prevalencia de 27 % en regiones colombianas, especialmente en leche bovina. Así mismo, se evidenció en los reportes de la literatura que el fenotipo de resistencia a la meticilina (oxacilina) es mucho más frecuente entre las diferentes especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa que en *S. aureus* (Jiménez *et al.*, 2020).

Conclusiones

Es necesario contar con procedimientos bioquímicos y microbiológicos estandarizados que permitan detectar específicamente las cepas multirresistentes, y hacer uso de las herramientas que ofrece la epidemiología molecular para detectar clones y otras características genéticas de la población bacteriana, pues esta es parte crucial de la política de control de la vigilancia antibiótica. Así lo orienta la Organización Mundial de la Salud [OMS], justificada en que la identificación facilita la supervisión del comportamiento y el control de resistencia, particularmente ante el empleo o consumo de un antibiótico específico que genera resistencia cruzada hacia otros antibióticos del mismo grupo o clase o con el mismo mecanismo de acción o incluso a compuestos de familias diferentes.

En los aislamientos de *Staphylococcus* spp. evaluados se encontró la presencia del gen *blaZ*, resultado que no es fenotípicamente comparable con la detección de betalactamasas al usar la prueba de Cefinasa, pues no en todos los aislamientos se tuvo amplificación del gen, como en el estudio realizado en muestras de leche con mastitis bovina. Esto podría significar que la sensibilidad de las técnicas microbiológicas, en comparación con las técnicas moleculares, no es la misma en este caso. Por eso, se sugiere

combinar el uso de diferentes métodos para lograr un diagnóstico seguro.

La importancia epidemiológica de la presencia de estas cepas en productos como la leche no solo es relevante para los animales, sino que también es de interés en el ámbito de salud pública, debido a la posibilidad de diseminación en humanos. Eso porque la multirresistencia de estas cepas provoca dificultades en el tratamiento y complica la resolución de las infecciones.

En cuanto al gen *mecA*, la incidencia registrada en estos estudios es baja, pues solo se presentó en cinco aislamientos de especies de *Staphylococcus* spp. Con ello se corrobora la alta sensibilidad a antibióticos presente en los agentes etiológicos de la mastitis bovina en Boyacá.

Ahora, el conocimiento del perfil de susceptibilidad de los estafilococos y la detección de genes de resistencia permitirían un manejo efectivo de los antibióticos para controlar las infecciones de la glándula mamaria.

Por otro lado, la multirresistencia en bacterias Gram negativas es un importante desafío clínico y de salud pública. El principal mecanismo de resistencia está relacionado con la producción de enzimas que hidrolizan los antibióticos betalactámicos, como las betalactamasas de espectro extendido, y tienen una resistencia cruzada a muchas otras clases de antibióticos, lo que limita las opciones terapéuticas.

El desarrollo de herramientas de biología molecular para el diagnóstico de cepas resistentes permite monitorear los cambios epidemiológicos, la circulación clonal y determinar el impacto socioeconómico. De acuerdo con esto, es necesario generar medidas de detección y vigilancia junto a

programas estrictos de prevención y control de infecciones y programas de administración de antimicrobianos.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que en este capítulo del libro no se realizaron experimentos con animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que los datos tuvieron un manejo ético y confidencial de la información según las normas constitucionales y legales sobre protección de datos personales (Ley habeas data).

Todos los datos analizados de los diferentes proyectos fueron revisados y avalados por el Comité de Bioética Institucional de la Universidad de Boyacá.

- Aguayo-Reyes, A., Quezada-Aguiluz, M., Mella, S., Riedel, G., Opazo-Capurro, A., Bello-Toledo, H., Domínguez, M. y González-Rocha, G. (2018). Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista Chilena de Infectología*, 35(1), 7-14. <https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000100007>.
- Aruhomukama, D., Najjuka, C. F., Kajumbula, H., Okee, M., Mboowa, G., Sserwadda, I., Mayanja, R., & Kateete, D. P. (2019). ^{bla}VIM-and ^{bla}OXA-mediated carbapenem resistance among *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the Mulago hospital intensive care unit in Kampala, Uganda. *BMC infectious diseases*, 19(1), 1-8. <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-4510-5>
- Bello, A., & Dingle, T. (2018). What's That Resistance Mechanism? Understanding Genetic Determinants of Gram-Negative Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Newsletter* 40(20), 165–74. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2018.10.001>
- Bonnin, R. A., Jousset, A. B., Emeraud, C., Oueslati, S., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetic diversity, biochemical properties and detection methods of minor acquired carbapenemases in Enterobacterales. *Frontiers in Medicine*, 7, 1061. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.616490>
- Castanheira, M., Doyle, T., Mendes, R., & Sader, H. (2019). Comparative Activities of Ceftazidime-Avibactam and Ceftolozane-Tazobactam against Enterobacteriaceae Isolates Producing Extended-Spectrum -Lactamases from U.S. Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63(7). <https://doi.org/10.1128/AAC.00160-19>
- Castellano-González, M., Perozo Mena, A., Parra, A. M., Ginestre Pérez, M. y Rincón Villalobos, G. (2012). Genotipos de resistencia antimicrobiana y su expresión fenotípica en cepas de *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*, 40(2), 146-159. <http://ve.scielo.org/pdf/km/v40n2/art05.pdf>
- Chevet, K., Guyot, K., Mellon, G., Vidal, B., Couzigou, C., Misset, B., ... & Nguyen Van, J. C. (2012). Détection phénotypique d'une carbapénémase associée à une bêtalactamase à spectre élargi chez *Klebsiella pneumoniae*. *Médecine et maladies infectieuses*, 42(1), 33. https://www.academia.edu/19890910/_Phenotypic_detection_of_carbapenemase_associated_with_extended_spectrum_beta_lactamase_in_Klebsiella_pneumoniae

- Dalmolin, T. V., Martins, A. F., Zavascki, A. P., de Lima-Morales, D., Barth, A. L. (2018). Acquisition of the Mcr-1 Gene by a High-Risk Clone of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST437/CC258, Brazil. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 90(2), 132–33. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.09.016>
- Dhara, L., & Anusri, T. (2014). Genetic and Structural Insights into Plasmid-Mediated Extended-Spectrum β -Lactamase Activity of CTX-M and SHV Variants among Pathogenic Enterobacteriaceae Infecting Indian Patients. *International Journal of Antimicrobial Agents* 43(6), 518–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.03.002>
- Elmowalid, G. A., Ahmad, A. A. M., Hassan, M. N., Abd El-Aziz, N. K., Abdelwahab, A. M., & Elwan, S. I. (2018). Molecular detection of new SHV β -lactamase variants in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Egypt. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 60, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.09.013>
- Endimiani, A., Ramette, A., Rhoads, D., & Jacobs, M. (2020). The Evolving Role of the Clinical Microbiology Laboratory in Identifying Resistance in Gram-Negative Bacteria: An Update. *Infectious Disease Clinics of North America* 34(4), 659–76. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.08.001>
- Estepa, V., Rojo-Bezares, B., Azcona-Gutiérrez, J. M., Olarte, I., Torres, C. y Sáenz, Y. (2017). Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital español. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(3), 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.014>
- Etemadi, S., Ebrahimzadeh, H., & Ghotaslou, R. (2020). AmpC β -Lactamase among Enterobacteriaceae: A New Insight. *Gene Reports* 19, 1–20.
- Fallah, F., Azimi, T., Azimi, L., Karimi, A., Rahbar, M., Shirdoust, M., Sedighi, I., Sadeghi, A. S., & Armin, S. (2020). Evaluating the antimicrobial resistance and frequency of AmpC β -lactamases blaCMY-2 gene in Gram-negative bacteria isolates collected from selected hospitals of Iran: a multicenter retrospective study. *Gene Reports*, 21, 100868. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100868>

- Fast, W., & Sutton, L. D. (2013). Metallo- β -lactamase: inhibitors and reporter substrates. *Biochim Biophys Acta*, 1834(8), 1648-59. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.04.024>
- Feßler, A., Wang, Y., Wu, C., & Schwarz, S. (2018). Mobile Macrolide Resistance Genes in Staphylococci. *Plasmid* 99, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2018.05.001>
- Ghahremani, M., Jazani, N., & Sharifi, Y. (2018). Emergence of Vancomycin-Intermediate and -Resistant Staphylococcus Aureus among Methicillin-Resistant S. Aureus Isolated from Clinical Specimens in the Northwest of Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 14, 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.01.017>
- Gómez, J. y Sánchez, J. (2018). Perfil Microbiológico y Resistencia Bacteriana En Una Unidad de Cuidados Intensivos de Pereira, Colombia, 2015. *Revista Médicas UIS* 31(2), 9–15. <https://doi.org/10.18273/revmed.v31n2-2018001>
- Haghighatpanah, M., Nejad, A. S. M., Mojtahedi, A., Amirmozafari, N., & Zeighami, H. (2016). Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and plasmid-borne blaCTX-M and blaTEM genes among clinical strains of Escherichia coli isolated from patients in the north of Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 7, 110-113. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.005>
- Jiménez-Velásquez, S. D. C. J., Higuera, L. D. T., Arango, J. L. P., Bautista, J. L. R., Castro, F. E. G., & Burbano, R. E. P. (2020). Perfil de resistencia antimicrobiana en aislamientos de Staphylococcus spp. obtenidos de leche bovina en Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.004>
- Khan, A. U., Maryam, L., & Zarrilli, R. (2017). Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC microbiology*, 17(1), 1-12. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-017-1012-8>
- Lee, J. H. (2006). Occurrence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains from cattle and chicken, and analyses of their mecA, mecR1 and mecI genes. *Veterinary Microbiology*, 114(1-2), 155-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.10.024>

- Limbago, B. M., Rasheed, J. K., Anderson, K. F., Zhu, W., Kitchel, B., Watz, N., Munro, S., Gans, H., Banaei, N. & Kallen, A. J. (2011). IMP-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States. *Journal of clinical microbiology*, 49(12), 4239-4245. <https://doi.org/10.1128/JCM.05297-11>
- Luján, D. (2013). Staphylococcus Aureus Resistente a Meticilina Asociado a La Comunidad: Aspectos Epidemiológicos y Moleculares. *Anales de la Facultad de Medicina* 74(1), 57–62. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000100011
- McGuinness, W., Malachowa, N., & DeLeo, F. (2017). Vancomycin Resistance in Staphylococcus Aureus. *Yale Journal of Biology and Medicine* 90(2), 269–81. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5482303/>
- Melgarejo, N. L. (2022). Resistencia a colistina en enterobacterales. *Revista de Salud Pública del Paraguay*, 12(2): 48-61. <https://doi.org/10.18004/rspp.diciembre.48>
- Merida, J., De Colsa, A., Calderón, Y., & Aquino, A. (2020). Detection of CMY-Type Beta-Lactamases in Escherichia Coli Isolates from Paediatric Patients in a Tertiary Care Hospital in Mexico. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 9(1), 168. <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-00840-4>
- Miragaia, M. (2018). Factors Contributing to the Evolution of Meca-Mediated β -Lactam Resistance in Staphylococci: Update and New Insights from Whole Genome Sequencing (WGS). *Frontiers in Microbiology* 9(NOV), 2723. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02723>
- Mobasser, G., Teh, C., Ooi, P., & Thong, K. (2019). The Emergence of Colistin-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* Strains from Swine in Malaysia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 17, 227–32. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716518302595>
- Monge, M. (2013). Carbapenémicos: Tipos y Mecanismos de Resistencia Bacterianos. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* 1(1): 1–7. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=47783>
- Neto, L. V. P., Oliveira, M. S., Orsi, T. D. A., do Prado, G. V. B., Martins, R. C. R., Leite, G. C., Marchi, A. P., de Lira, E. Farrel, M., Sánchez, E. Dantas de Maio, C., Boszczowski, I., Guimaraes,

- T., Figueredo, S. & Levin, A. S. (2020). Alternative drugs against multiresistant Gram-negative bacteria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.07.025>
- Oduro-Mensah, D., Obeng-Nkrumah, N., Bonney, E. Y., Oduro-Mensah, E., Twum-Danso, K., Osei, Y. D., & Sackey, S. T. (2016). Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1), 1-9. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12941-016-0144-2>
- Partridge, S., Kwong, S., Firth, N., & Jensen, S. (2018). Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 31(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
- Pishtiwan, A., & Khadija, K. (2019). Prevalence of BlaTEM, BlaSHV, and BlaCTX-M Genes among ESBL-Producing Klebsiella Pneumoniae and Escherichia Coli Isolated from Thalassemia Patients in Erbil, Iraq. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 11(1), 2019041. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2019.041>
- Protonotariou, E., Poulou, A., Politi, L., Meletis, G., Chatzopoulou, F., Malousi, A., Metallidis, S., Tsakris, A., & Skoura, L. (2020). Clonal Outbreak Caused by VIM-4-Producing Proteus Mirabilis in a Greek Tertiary-Care Hospital. *International Journal of Antimicrobial Agents* 56(2), 106060. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106060>
- Rodríguez, E. A., Aristizábal-Hoyos, A. M., Morales-Zapata, S., Arias, L., & Jiménez, J. N. (2020). High frequency of gram-negative bacilli harboring blaKPC-2 in the different stages of wastewater treatment plant: A successful mechanism of resistance to carbapenems outside the hospital settings. *Journal of Environmental Management*, 271, 111046. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111046>
- Rolo, J., Worning, P., Boye Nielsen, J., Sobral, R., Bowden, R., Bouchami, O., Damborg, P., Guardabassi, L., Perreten, V., Westh, H., Tomasz, A., de Lencastre, H. & Miragaia, M. (2017). Evidence for the evolutionary steps leading to mecA-mediated β -lactam resistance in staphylococci. *PLoS genetics*, 13(4), e1006674. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006674>

- Sahoo, S., Otta, S., Swain, B., & Kar, S. (2019). Detection and Genetic Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases. *J Lab Physicians* 11(3), 253-258. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_31_19
- Saldanha Ribeiro, P.C, Souza Monteiro, A.S., García Marques, S.G., Gomes Monteiro, S., Monteiro-Neto, V., Melo Coqueiro, M. M., García Marques, A. C., Gomes Turri, R., Goncalves Santos, S., & Quaresma Bomfim, M. R. (2016). Phenotypic and molecular detection of the blaKPC gene in clinical isolates from inpatients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect Dis* 16(737). <https://doi.org/10.1186/s12879-016-2072-3>
- Schroeder, MR. y Stephens, DS. (2016). Resistencia a los macrólidos en *Streptococcus pneumoniae*. *Fronteras en microbiología celular y de infecciones*, 6, 98. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00098>
- Soares, L. C., Pereira, I. A., Pribul, B., Oliva, M. S., Coelho, S. M. O., Souza, M. M. S. (2012). Antimicrobial resistance and detection of mecA and blaZ genes in coagulase-negative Staphylococcus isolated from bovine mastitis. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8), 692-696. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000800002>.
- Soliman, A. M., Zarad, H. O., Nariya, H., Shimamoto, T., & Shimamoto, T. (2020). Genetic analysis of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated from a university teaching hospital in Egypt. *Infection, Genetics and Evolution*, 77, 104065. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104065>
- Son, S., Huang, R., Squire, C., & Leung, I. (2019). MCR-1: A Promising Target for Structure-Based Design of Inhibitors to Tackle Polymyxin Resistance. *Drug Discovery Today* 24(1), 206–16. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.004>
- Srinivas, P., & Rivard, K. (2017). Polymyxin Resistance in Gram-Negative Pathogens. *Current Infectious Disease Reports* 19(11), 1–9. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11908-017-0596-3> .
- Taggar G, Attiq Rheman, M., Boerlin, P., Diarra, MS. (2020). Molecular Epidemiology of Carbapenemases in Enterobacteriales from Humans, Animals, Food and the Environment. *Antibiotics (Basel)*, 9(10), 693. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100693>. PMID: 33066205; PMCID: PMC7602032.

- Tamma, P. D., Doi, Y., Bonomo, R. A., Johnson, J. K., Simner, P. J., & Antibacterial Resistance Leadership Group Tamma PD Doi Y Bonomo RA. (2019). A primer on AmpC β -lactamases: necessary knowledge for an increasingly multidrug-resistant world. *Clinical Infectious Diseases*, 69(8), 1446-1455. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz173>
- Togneri, A. M., Gómez, S. A., Podestá, L. B., Pérez, M. P., Faccone, D. F., Ríos, L. E., Gañete, M., Anchordoqui, M., Pasterán, F. y Corso, A. C. (2013). Diseminación de blaIMP-8 en enterobacterias aisladas en un hospital de Buenos Aires. *Revista Argentina de Microbiología*, 45(2), 104-109. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v45n2/v45n2a08.pdf>
- Torres, M., Castro, L., Prada, C., & López, D. (2018). Antibiotic Resistance: Origins, Evolution and Healthcare-Associated Infections. *Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)* 34(2), 494-505. <http://dx.doi.org/10.14482/sun.34.2.615.32>
- Vargas, J. M., Mochi, M. M., Nuñez, J. M., Cáceres, M., Mochi, S., Del Campo Moreno, R., & Jure, M. A. (2019). Virulence factors and clinical patterns of multiple-clone hypermucoviscous KPC-2 producing *K. pneumoniae*. *Helicon*, 5(6), e01829. <https://doi.org/10.1016/j.helicon.2019.e01829>
- Velandia, D. P. L., Caycedo, M. I. T., Orduz, L. M. C., & Quiroga, C. F. P. (2016). Determinación de genes que codifican la resistencia de betalactamasas de espectro extendido en bacilos Gram negativos aislados de urocultivos. *Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá*, 3(2), 107-126. <https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/182>
- Villa, J., Arana, D. M., Viedma, E., Perez-Montarelo, D., & Chaves, F. (2017). Characterization of mobile genetic elements carrying VIM-1 and KPC-2 carbapenemases in *Citrobacter freundii* isolates in Madrid. *International Journal of Medical Microbiology*, 307(6), 340-345. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.07.001>
- Yamakawa, H., Kosai, K., Akamatsu, N., Matsuda, J., Kaku, N., Uno, N., Morinaga, Y., Hasegawa, H., Tsubouchi, T., Kanejo, Y., Miyazaki, T., Izumikawa, K., Mukae, H., & Yanagihara, K. (2019). Molecular and epidemiological analysis of IMP-1 metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(4), 240-246. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.11.012>

Yasir, M., Farman, M., Shah, M. W., Jiman-Fatani, A. A., Othman, N. A., Almasaudi, S. B., Alawi, M., Shakil, S., Al-Abdullah., Ismaeel, N., & Azhar, E. I. (2020). Genomic and antimicrobial resistance genes diversity in multidrug-resistant CTX-M-positive isolates of *Escherichia coli* at a health care facility in Jeddah. *Journal of Infection and Public Health*, 13(1), 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.06.011>

CAPÍTULO III.

Mecanismos de tolerancia a biocidas y métodos de evaluación de la tolerancia



● **Yaline Sánchez Neira**

ysanchez@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0002-6848-158X>.

Magíster en Salud Pública.
Universidad de Boyacá.

● **María Inés Torres Caycedo**

mariaitorres@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0003-0690-3182>.

Doctora en Seguridad de los Alimentos.
Universidad de Boyacá.

Introducción

Desde hace varios siglos, en el contexto mundial se han utilizado diferentes agentes y compuestos que ejercen una actividad antimicrobiana, para evitar una transmisión de microorganismos patógenos en diferentes entornos. Sin embargo, la actividad de estos agentes biocidas puede verse modificada por varios factores que disminuyen la acción o control de los microorganismos, bien sea por la concentración utilizada, el tiempo de acción, la temperatura, el pH, entre otros. De cierta forma, en estos casos los biocidas permiten que se presenten tolerancias a agentes químicos o biológicos y esto conlleva a la proliferación y diseminación de infecciones causadas por microorganismos. Ante el aumento de estas resistencias, se busca evidencia que permita conocer la relación entre la tolerancia bacteriana que se presenta actualmente en los diferentes biocidas, la resistencia a los antibióticos y los mecanismos de acción de los biocidas.

Es importante conocer y comprender la causa del incremento de la tolerancia de los biocidas y de la expresión de la resistencia de los diferentes microorganismos a las sustancias con acción biocida. El propósito es mitigar el impacto de la transmisión de microorganismos patógenos que implican determinantes de resistencia, tolerancia y a su vez de virulencia.

Este capítulo aborda, clasifica y presenta los mecanismos de acción de los diferentes agentes químicos, ya sean de origen sintético o natural, y de las bombas de eflujo. Estas últimas se caracterizan por transportar varios agentes

químicos del interior al exterior de la bacteria, mediante sistemas que actúan específicamente en cada una de las familias de bombas de eflujo. Por otro lado, describe los métodos de evaluación de la tolerancia a los biocidas que se utilizan en cosmética, desinfección y disminución de cargas microbianas en diferentes superficies y fómites en ambientes hospitalarios, domésticos e industriales. Finalmente, presenta los resultados de investigación en diferentes microorganismos y biocidas.

Biocidas

Las sustancias con efecto antibiótico y biocida son compuestos utilizados desde siglos atrás para la inhibición o eliminación del desarrollo bacteriano. Estos se diferencian entre ellos por aspectos como los mecanismos de acción, las aplicaciones de cada uno y el espectro. Así, se pueden tratar no solo las enfermedades bacterianas con antibióticos, sino que sirven también como agentes que permiten preservar o promover el crecimiento. Por otro lado, los biocidas se utilizan como antisépticos, conservantes o desinfectantes para impedir el crecimiento y multiplicación de diferentes microorganismos (bacterias, hongos, virus) en el entorno hospitalario, doméstico, veterinario o industrial. Por eso, el riesgo de corresponsencia y resistencia cruzada a ambos agentes es un problema de salud pública (Fuentes *et al.*, 2014; Gilbert & McBain, 2003).

Los biocidas son de origen sintético o biológico. Actualmente existe un gran número de compuestos para el control, destrucción y neutralización de microorganismos, pero no ejercen una actividad específica para determinado grupo bacteriano. Estos compuestos forman parte de los procedimientos y estrategias que se utilizan para disminuir la presentación y propagación de infecciones en el ámbito asistencial, pues se ha evaluado su eficacia en métodos de

desinfección (Russell, 2002). Desde el punto de vista de los mecanismos de acción, los antibióticos han sido conocidos y documentados con evidencia científica, mientras que los biocidas se encuentran en investigación respecto a las diferentes concentraciones, interacciones bioquímicas y sitios de acción (Cabrera *et al.*, 2007; Gilbert & McBain, 2003).

Dentro de los biocidas se encuentran los desinfectantes, los antisépticos, los conservantes, los pesticidas, los herbicidas, los fungicidas y los insecticidas (Ministerio de la Presidencia Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática, 2002), ampliamente utilizados tanto en superficies inanimadas como en la piel, bien sea de manera única o a partir de mezclas. De acuerdo con Hernández-Navarrete *et al.* (2014), la actividad de estos productos químicos depende del tipo de formulación, concentración, pH, periodo de contacto y de la presencia de otros compuestos orgánicos e inorgánicos que influyen en la acción y que permiten agruparlos en 22 categorías químicas con una gran variedad de compuestos (Denyer, 1995; Hernández-Navarrete *et al.*, 2014).

Según Garçao Curiao (2014), existe un grupo de agentes químicos “compuestos de amonio cuaternario (QACs), cloruro de benzalconio (BKC) y cetrimida” que hace parte de esos biocidas de origen catiónico formados a partir de un nitrógeno cuaternario y un conjunto de sustancias hidrófobas. Por otro lado, existen agentes químicos formados por dos grupos catiónicos, los cuales se encuentran aislados por un grupo hidrofóbico y son las bisbiguanidas y la clorhexidina (CHX) o alexidina. Finalmente, la biguanida polihexametileno PHMB presenta más de dos grupos catiónicos.

Cabe destacar que, ante la exposición de biocidas catiónicos como los compuestos de amonio cuaternario, se presenta un desequilibrio en la membrana celular de la bacteria, lo que genera una lisis celular por un movimiento de cationes

divalentes. Así mismo, se produce un daño de la membrana externa con pérdida de contenido citoplasmático en bacterias Gram negativas. Por otro lado, la clorhexidina produce una alteración en la permeabilidad de la membrana, gracias a los grupos etilexil terminales, que hacen que sea uno de los agentes más utilizados en higiene de manos y a nivel oral, pues destruyen las bacterias (Denyer, 1995; González *et al.*, 2014).

De acuerdo con Garçao Curiao (2014), uno de los agentes fungicidas y antibacterianos de amplio espectro más utilizado en higiene oral y de la piel es el triclosán, el cual hace parte del grupo de los bisfenoles, conformado por dos anillos fenólicos. Este tipo de biocida ejerce actividades específicas de inhibición en la proteína que participa en el anabolismo de ácidos grasos y de daños a nivel del citoplasma. Según Russell (2004), este agente permite que exista una desestabilización bacteriana según las diferentes concentraciones con las cuales se utilice, pues su resultado varía desde la inhibición en procesos de absorción de nutrientes requeridos por los diferentes microorganismos hasta la destrucción celular. Es así como su uso se extiende a diferentes mercados tanto a nivel industrial como en servicios del hogar (Garçao Curiao, 2014; Russell, 2004).

En ese mismo contexto se encuentra uno de los agentes derivados del cloro. Si bien existen diferentes formas de presentación, el hipoclorito de sodio sigue siendo el más utilizado para la desinfección de superficies, agua e infecciones. Los hipocloritos presentan una gran variedad de actividad que hace que se consideren fungicidas, esporicidas, bactericidas y virucidas, aunque es poco definida la cloración o mecanismo de acción de estos agentes (Sáenz y Sánchez, 2005).

Los datos presentados en la tabla 5 compilan diferentes biocidas de uso frecuente. Allí se describen los grupos, los compuestos y las funciones.

Tabla 5. Biocidas: grupos, compuesto y función

Grupo	Biocida	Función	Fuente
Amonio cuaternario	Cloruro de benzalconio	Son tensoactivos que facilitan la unión de manera irreversible a fosfolípidos y proteínas de membrana. Adicionalmente, la porción hidrofóbica dentro de la membrana genera alteración de la permeabilidad y una disfunción de la cadena respiratoria.	Wessels & Ingmer (2013)
Biguanidinas	Clorhexidina	Se asocian fuertemente a sitios aniónicos encima de la membrana y pared celular, mientras que generan un movimiento de los cationes divalentes Mg2+ y Ca2+. Esto reduce la fluidez de la membrana y provoca variación osmótica en la célula bacteriana.	Gilbert & Moore (2005)
Fenoles	Triclosán	Produce variaciones en la membrana bacteriana y el compuesto logra ser absorbido por difusión al citoplasma bacteriano. Causa daño principalmente en las vías metabólicas de síntesis de ácidos grasos, que inhibe enzimas como la NADH-reductasa dependiente de ácidos grasos.	Schweizer (2001)
Aldehídos	Glutaraldehído	Daño en las proteínas de la pared y membrana bacteriana, lo que interfiere en los grupos tioles, aminos y sulfhídricos. Por lo tanto, la unión a estos grupos “fijan” estructuras y enzimas con inhibición en la función básica de supervivencia bacteriana.	Gilbert & Moore (2005)
Alcoholes	Alcoholes	Produce alteraciones en la membrana y proteínas bacterianas. Ante el contacto con agua, ocasiona la desnaturalización y daños metabólicos que permiten una rápida lisis bacteriana.	Gilbert & Moore (2005)
Halogenados y Peróxido de hidrógeno	Yodo, cloro y peróxido de hidrógeno	Altamente reactivos que participan como oxidantes y radicales libres capaces de interactuar con componentes celulares como ribosomas y diversas proteínas.	Maillard (2002)

Fuente: elaboración propia con base en datos de López *et al.*, (2010).

Estos antisépticos y desinfectantes anteriormente mencionados generan presión ambiental ante su uso indiscriminado, pues este implicaría la posibilidad de

resistencias bacterianas en diferentes entornos y el desarrollo de resistencias cruzadas con antibióticos (Gnanadhas *et al.*, 2013).

Mecanismos de tolerancia a los antisépticos y desinfectantes

Actualmente existen conocimientos significativos respecto a las reacciones de las bacterias frente a aquellos compuestos que pueden producir su muerte. La tolerancia que presentan pueden ser de dos formas: mediante una propiedad intrínseca demostrada principalmente en microorganismos Gram negativos, como esporas bacterianas y micobacterias, y en microorganismos Gram positivos, como especies del género de *Staphylococcus* (Partridge *et al.*, 2018); y, según Cabrera *et al.* (2007), mediante “mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles)”. Por consiguiente, un gen de resistencia en plásmidos se deriva de una mutación puntual en un gen blanco en las bacterias que van a estar susceptibles, así como aquellos genes que van a proveer protección contra otras bacterias.

En efecto, tanto antisépticos como desinfectantes son utilizados frecuentemente en cantidades considerables en centros de salud, laboratorios y sobre todo en la parte asistencial de hospitales, para la prevención de infecciones adquiridas durante la estancia del paciente. En la tabla 6 y en la figura 12 se resumen e ilustran los mecanismos de acción y lugares blanco de los principales agentes químicos utilizados en desinfección (Cabrera *et al.*, 2007; Hernández-Navarrete *et al.*, 2014).

Tabla 6. Mecanismos y lugar de acción de los principales agentes químicos utilizados como antisépticos y desinfectantes

Desinfectante/ Antiséptico	Mecanismo de acción	Lugar de acción
Compuestos de Amonio Cuaternario	Afectación general en la membrana y disminución de la síntesis de fosfolípidos.	Membrana interna citoplasmática
Clorhexidina	Concentraciones disminuidas dañan la integridad de la membrana. Concentraciones elevadas generan congelación del citoplasma.	
Diaminas	Induce la supresión de aminoácidos.	
Fenoles	Pérdida y desajuste.	
Glutaraldehído	Unión cruzada a proteínas	Envoltura celular (pared celular, membrana externa)
EDTA, otros permeabilizantes	Bacteria Gram negativa: eliminación de Mg++, liberación de algunos lipopolisacáridos	
Halógenos	Inhiben la síntesis del ADN	
Peróxido de hidrógeno, iones de Plata	Rompimiento de la hebra de ADN	Alteración del ADN
Acridinas	La acridina se coloca entre dos pares de bases del ADN, lo que ocasiona su separación	
Formaldehído	Uniones y combinaciones entre las proteínas, ARN y ADN.	Unión cruzada a acromoléculas
Glutaraldehído	Forma puentes de unión de proteínas de la envoltura celular y otros sitios celulares	
Compuestos con plata	Acción de grupos tiol con enzimas que se ensamblan a membrana	Interacción con grupos tiol (un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH))
Halógenos	Oxidación de los grupos tioles a disulfitos, sulfóxidos o disulfóxidos	
Peroxígenos	En el peróxido de hidrógeno se forman radicales libres OH- que oxidan a los grupos tioles en enzimas y proteínas. Ácido paracético: inhibe los grupos tioles en proteínas y enzimas	Agentes oxidantes

Fuente: elaboración propia con base en datos de Cabrera *et al.*, (2007)

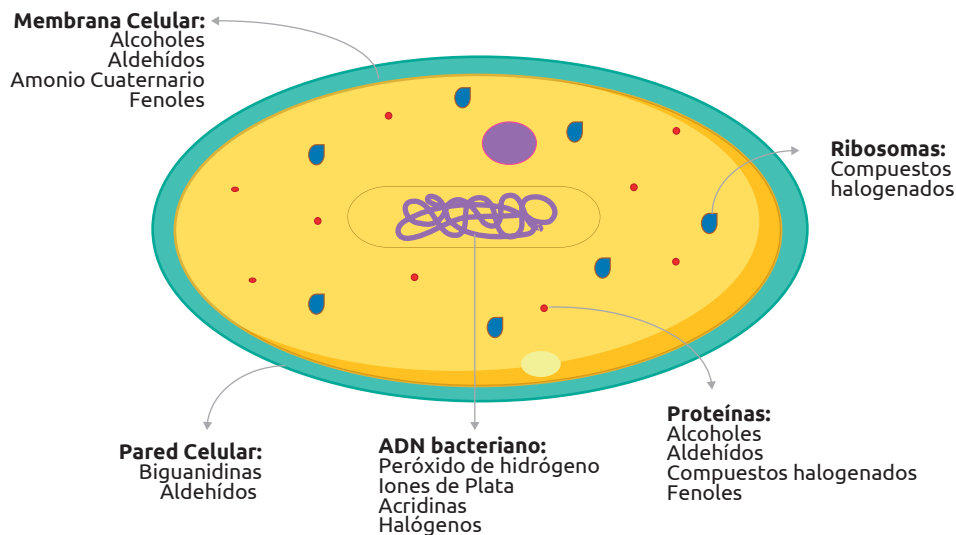


Figura 12. Acción de los biocidas en las células bacterianas
Fuente: elaboración propia

Tolerancia / Resistencia a biocidas

Teniendo en cuenta lo presentado por Russell (1997), la expulsión de los agentes químicos, principalmente a partir de las bombas de eflujo y bloqueo en la entrada de dichos agentes a la membrana celular, se presenta por las formas intrínsecas como extrínsecas, lo que conlleva incrementos en la tolerancia bacteriana a los diferentes biocidas.

Sin embargo, la falta de membrana externa permite en algunos microorganismos que los biocidas actúen directamente en la estructura bacteriana y, como menciona Garçao Curiao (2014), causen daño a las proteínas, composición de ácidos grasos o fosfolípidos, que permiten que se presenten procesos de respuesta y expulsión ante un estrés, cambios en las características hereditarias, así como en la actividad metabólica, que facilitan la resistencia a los biocidas.

Bombas de eflujo

Las bombas de expulsión/eflujo, son un mecanismo de resistencia mixto, puede ser adquirido cuando está presente un elemento genético móvil o cuando una mutación ocasiona su sobreexpresión o es intrínseco si están codificadas por el propio ADN del microorganismo. Estas exportan un amplio rango de compuestos como biocidas, colorantes o antibióticos mediante gradientes de iones transmembrana (protones o sodio) o por la hidrólisis del ATP. La expresión de las bombas de exporte suele estar sometida a regulación transcripcional a través de productos de genes activadores o represores que se unen al ADN.

En la figura 13 se muestra un esquema de bomba de eflujo y su posición en la membrana y el periplasma bacteriano (Tauch *et al.*, 2003).

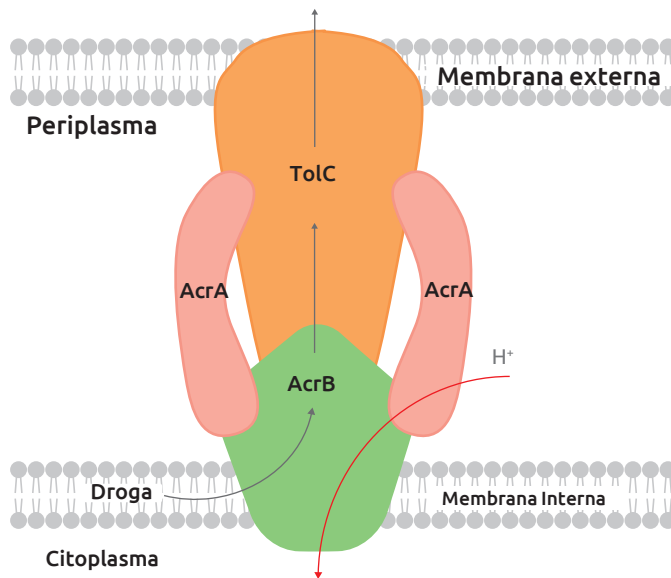
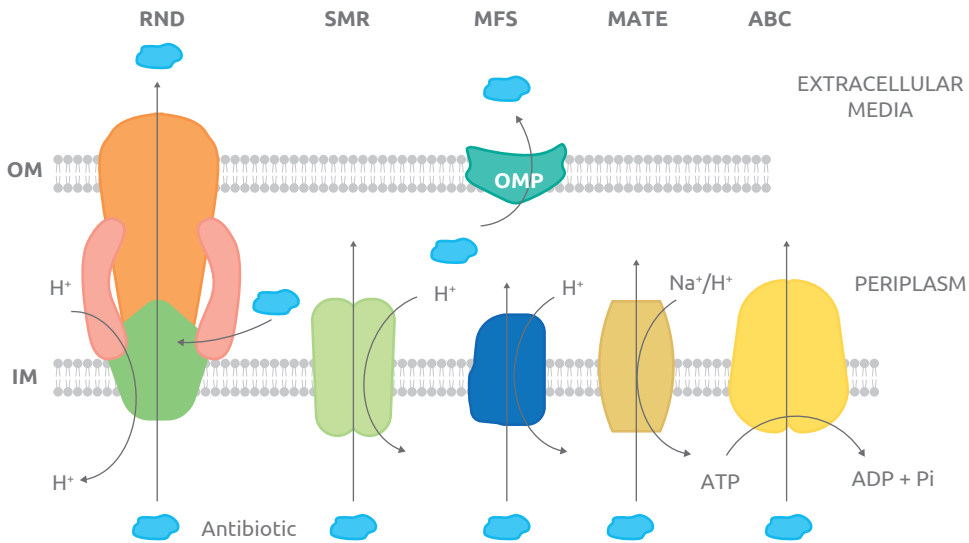


Figura 13. Bomba de eflujo que representa la salida del complejo tripartito ensamblado (AcrAB-TolC). Fuente: Modificado de Blair & Piddock (2009).

Los genes de bombas de expulsión/eflujo, localizados en plásmidos o en el cromosoma bacteriano, se dividen en cinco grandes familias de acuerdo con su composición, el número de regiones transmembrana, las fuentes de energía y los sustratos (figura 14).



● **Figura 14.** Cinco grandes familias que componen los genes de bombas de eflujo
Fuente: Tomado de Wales & Davies (2015).

Familia de resistencia, división, nodulación (RND, resistance nodulation division)

Esta familia se ha descrito en bacterias Gram negativas y sus 16 miembros suelen estar formados por un sistema de tres componentes AcrAB/TolC (como se observa en la figura 15) con un gran dominio periplasmático (en torno a 1000 aminoácidos divididos en 12 hélices). AcrB se une a una proteína periplásmica de fusión AcrA (en torno a 400 aminoácidos) y a un poro de la membrana externa, TolC (sobre 500 aminoácidos), para formar un canal tripartito que va desde el citoplasma hasta el exterior, pasando

por la membrana externa. Se divide en tres subfamilias encargadas del antiporte de fármacos, metales, biocidas o lipooligosacáridos (Rosenberg *et al.*, 2003).

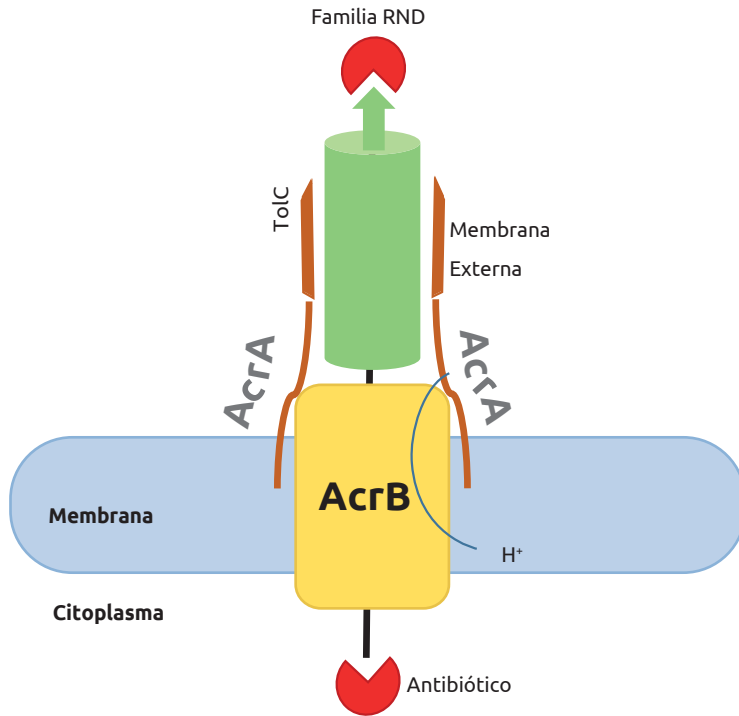


Figura 15. Bomba de eflujo de la familia de resistencia, división, nodulación (RND)

Fuente: elaboración propia con base en datos de Garçao Curiao (2014)

Familia de resistencia a múltiples fármacos de pequeño tamaño (SMR, small multidrug resistance)

Existen bombas de resistencia a múltiples fármacos que se caracterizan por tener proteínas de tamaño reducido con cuatro fracciones. Estas facilitan la expulsión de agentes antibacterianos, principalmente aquellos de origen catiónico como los compuestos de amonio cuaternario (figura 16), y son reguladas por plásmidos que contribuyen a que

se ejerza una defensa contra estos compuestos (Lavilla *et al*, 2014). En este mismo contexto, se resalta lo presentado por Garçao Curiao (2014), para los sustratos como “azúcares, péptidos, carbohidratos, antimicrobianos de alto peso molecular y metales” que son de difícil transporte por ser de gran tamaño.

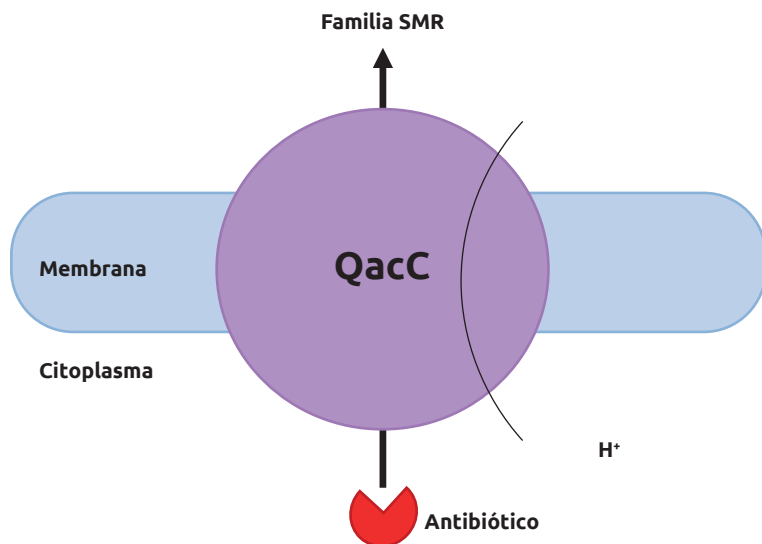


Figura 16. Bomba de eflujo de la familia de resistencia a múltiples fármacos de pequeño tamaño (SMR)
Fuente: elaboración propia con base en datos de Garçao Curiao (2014)

Superfamilia del facilitador mayor (MFS, major facilitator superfamily)

Los miembros de la familia MFS son proteínas transportadoras de membrana con un tamaño cercano a 400 aminoácidos estructurados en 12 hélices transmembrana, como TetB, o en 14 hélices, como QacA (figura17), encargadas del simporte, antiporte o uniporte de varios sustratos como fármacos o biocidas. Se dividen en 17 subfamilias que pueden encontrarse en procariotas y eucariotas y se han descrito aproximadamente 500 miembros. En bacterias Gram negativas, estos sistemas pueden funcionar

como componentes de sistemas tripartitos junto a los canales adicionales MFPs (membrane fusión proteins) y OM (outer membrane), como los sistemas EmrAB-TolC o EmrKY-TolC descritos en *E. coli* (Floyd *et al.*, 2010; Fluman & Bibi, 2009).

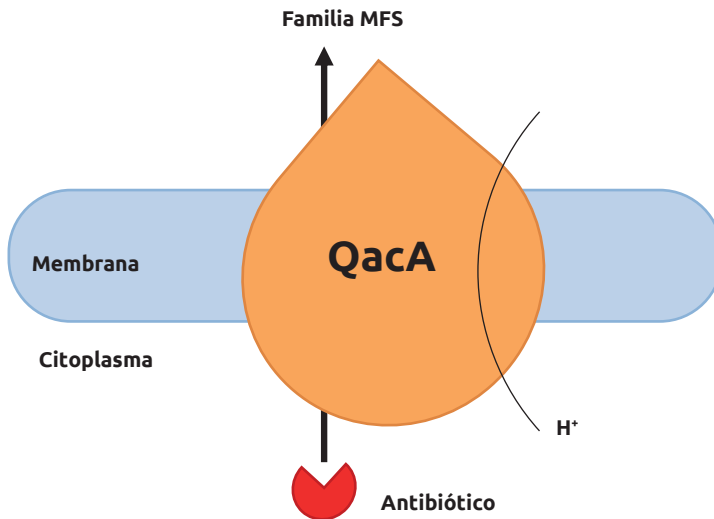


Figura 17. Bomba de eflujo de la Superfamilia del facilitador mayor (MFS)

Fuente: elaboración propia con base en datos de Garção Curiao (2014)

Familia de múltiples fármacos y tóxicos (MATE, multidrug and toxic-compound extrusion)

En esta familia se encuentran proteínas conformadas por 12 fragmentos transmembrana. Según Lavilla (2014), estas usan energía a partir de “iones de Na⁺, con bombas como la NorM de *Vibrio parahaemolyticus* (como se observa en la figura 18), y están presentes en bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas”.

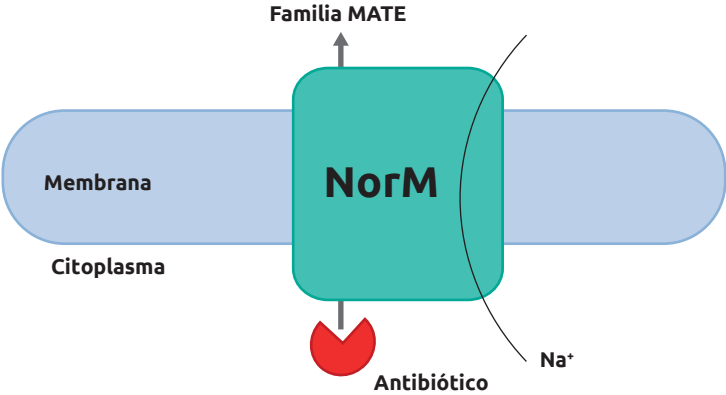


Figura 18. Bomba de eflujo de múltiples fármacos y tóxicos (MATE)
Fuente: elaboración propia con base en datos de Garçao Curiao (2014)

**Familia de casete de unión al ATP
(ABC, ATP binding cassette)**

Esta familia presenta factores que dependen de la hidrólisis del ATP (como se muestra en la figura 19) y utiliza la energía en los procesos de los mecanismos de resistencia bacteriana. En ella se destacan tres condiciones a nivel funcional: “los exportadores (clase I), los no involucrados en transporte (clase II) y los importadores (clase III)” (Céspedes, 2009, p.18).

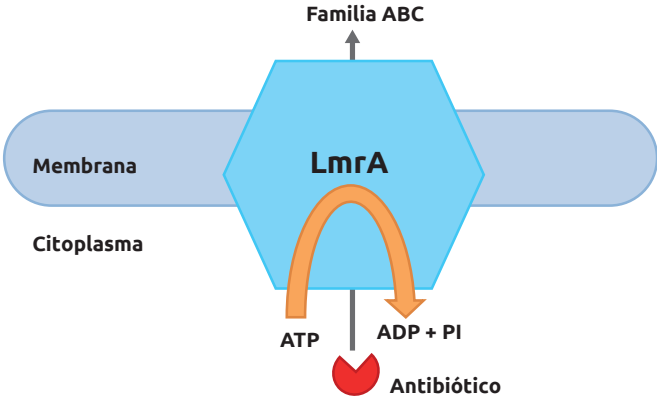


Figura 19. Bomba de casete de unión al ATP (ABC)
Fuente: elaboración propia con base en datos de Garçao Curiao (2014)

Materiales y métodos

Para los ensayos de microtitulación de biocidas fueron probados compuestos como cloruro benzalconio, cetrimide, clorhexidina y triclosán, y se utilizaron diferentes concentraciones de la sustancia del biocida. Las diluciones de cada biocida se prepararon en un medio nutritivo líquido estéril como tripticasa, soya o caldo infusión cerebro corazón. A excepción del triclosán que requiere dilución inicial en alcohol etílico de 96°, los demás biocidas se prepararon en el medio. Las cepas de prueba fueron cultivadas mediante incubación en agitación y alcanzaron en 18 horas el crecimiento exponencial suficiente para obtener un recuento celular estándar equivalente al patrón McFarland N° 0,5 (Cottell, *et al.*, 2009).

El montaje en las placas de microtitulación tuvo un volumen final de 200 μ l por pozo. El inóculo bacteriano correspondió a un volumen de 20 μ l de la dilución del cultivo bacteriano en SS al 0,85 % en 180 μ l de biocida (estandarizando el recuento de células). Las diluciones de biocidas que se propusieron para estos ensayos correspondieron a C1: 1 %, C2: 0,25 %, C3: 0.0025 %, C4: 0.00025 % y C5: 0,00025 %. Las cepas bacterianas se aplicaron a las 5 concentraciones de biocidas, teniendo en el templado de la placa controles para biocidas, medio BHI (control de esterilidad) y control de crecimiento de cepas (control de vitalidad) (figura 20).

# CEPA	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 7	# 8	# 9	# 10	# 11	# 12	# 13
CONCENTRACIÓN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A (A(c1)c1)	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa	180 µl C1 + 20 µl Cepa
B (c2)	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa	180 µl C2 + 20 µl Cepa
C (c3)	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa	180 µl C3 + 20 µl Cepa
D (c4)	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa	180 µl C4 + 20 µl Cepa
E (c5)	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa	180 µl C5 + 20 µl Cepa
F (control cepa)	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa	180 µl caldo BHI + 20 µl Cepa
G (control Biocida)	Ci 200 µl	Ci 200 µl	C1 200 µl	C1 200 µl	C2 200 µl	C2 200 µl	C3 200 µl	C3 200 µl	C4 200 µl	C4 200 µl	C5 200 µl	C5 200 µl
H (control caldo)	180 µl caldo BHI	180 µl caldo BHI										

Figura 20. Montaje microdilución para determinación de tolerancia a biocidas
Fuente: Elaboración propia

Este procedimiento fue realizado en condiciones óptimas de esterilidad e incubado a 37°C por 24 horas. La lectura de la tolerancia se basó en la determinación de la absorbancia de cada pozo de prueba, teniendo en cuenta la lectura inicial de los controles: el control del medio debe ser negativo, la lectura de la absorbancia debe ser <0,050, que es considerado el blanco, y la del medio de cultivo y crecimiento 0. De otra parte, se verificó el control de viabilidad para cada cepa que debe reportar crecimiento. La lectura se realizó a 595 nm. Para los estudios del grupo se trabajó con el equipo Imark – Biorad®. La lectura de tolerancia se realizó calculando el resultado de la lectura de la turbidez de cada pozo de prueba menos el control de biocidas en cada dilución. Se estableció un punto de cohorte con absorbancias > a 0,500. Lecturas inferiores muestran una actividad biocida.

Resultados

Ensayo con bacterias saprófitas (Matriz cárnicos)

La tolerancia reportada por las cepas de Gram negativos a los cuatro biocidas ensayados mostró el 1,2 % de cepas con intolerancia; es decir, no hubo crecimiento de las cepas en la menor concentración ($<C5:0.00025$ %). Sin embargo, el triclosán (TC) fue el biocida en el que se mostró mayor número de cepas intolerantes, seguido de cloruro de benzalconio (BC), clorhexidina (CHX) y, por último, cetrimide (CT). El 98,8 % mostraron tolerancia principalmente en las concentraciones C5 (0,00025 %) y C4 (0,0025 %). La concentración con mayor tolerancia de las cepas en estudio fue en la C4: la clorhexidina es el biocida que muestra mayor número de cepas tolerantes. De otro modo, la tolerancia en las concentraciones C1 y C2 fue poco frecuente.

La resistencia se determinó principalmente en el triclosán y el cloruro de benzalconio, que son biocidas que se han referido como los de mayor espectro de uso y se han utilizado por mayor tiempo. Las cepas en estudio provienen de un ambiente no expuesto a presión antibiótica o antimicrobiana, sin embargo, se debe considerar que estos géneros corresponden a microbiota proveniente posiblemente de la manipulación (sacrificio, preparación en canal, transporte, comercialización) (figura 21).

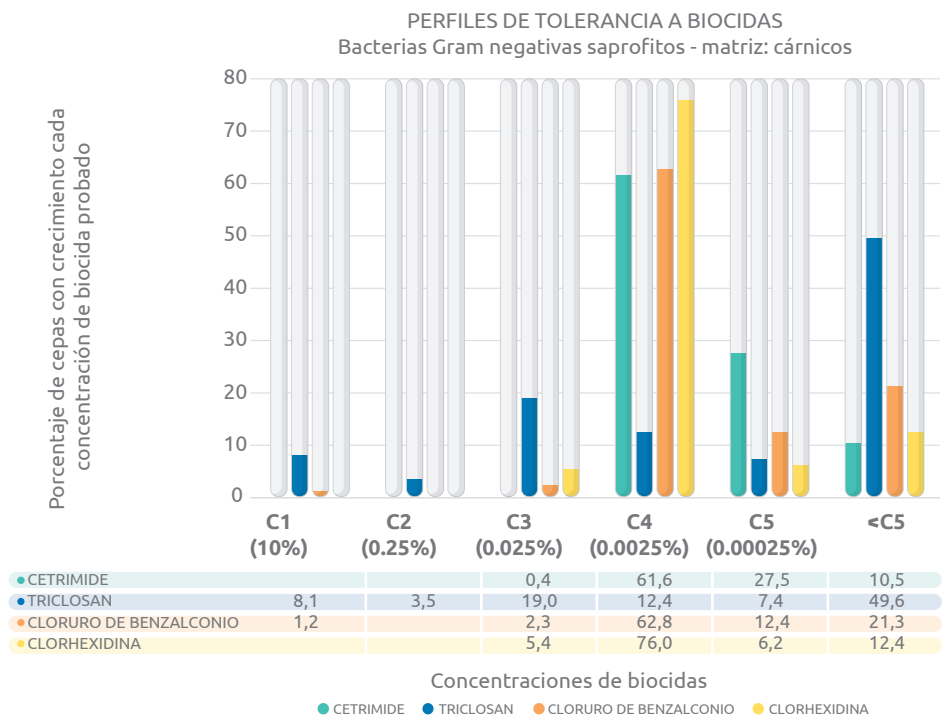


Figura 21. Tolerancia de biocidas a bacterias saprófitas Gram negativas aislados de matriz de cárnicos
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

Los resultados muestran los perfiles de tolerancia frente a los biocidas, probados en diferentes concentraciones. Los géneros bacterianos crecieron principalmente en la concentración C4, donde se colocaron los saprófitos probados para los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*, que muestran tolerancia a los biocidas CHX, BC, CT y en menor porcentaje TC en los otros géneros *Salmonella*, *Shiguelia*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Hafnia*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*. De otra parte, de *Plesiomonas*, *Tatumella*, *Providencia* y *Rahnella* se presentó tolerancia en esta concentración para los biocidas CT, CHX y BC, excepto al triclosán (figura 22 a la 26). La tolerancia a CT se presentó principalmente en las concentraciones C5 y C4.

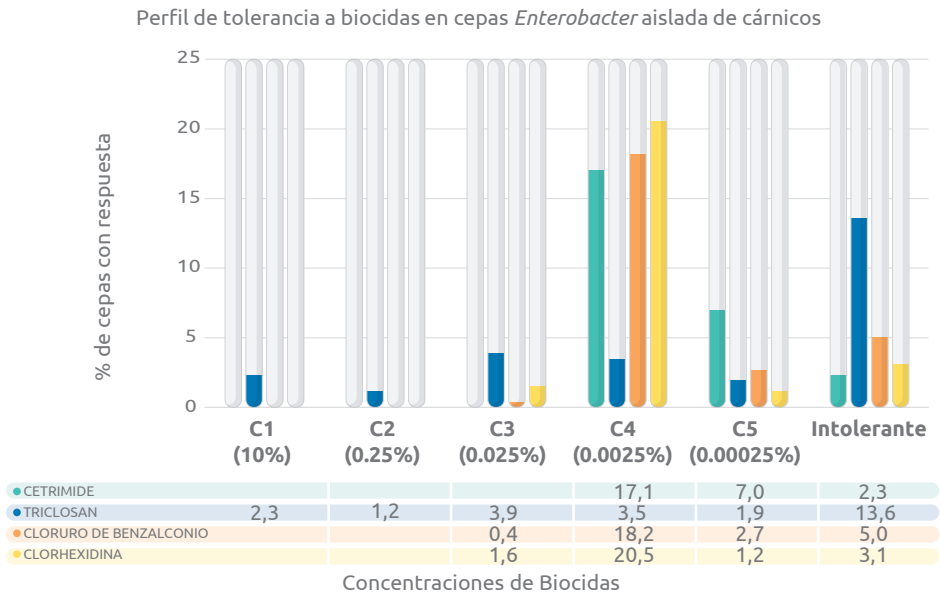


Figura 22. Perfil de tolerancia a biocidas género *Enterobacter* aislado de cárnicos.
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

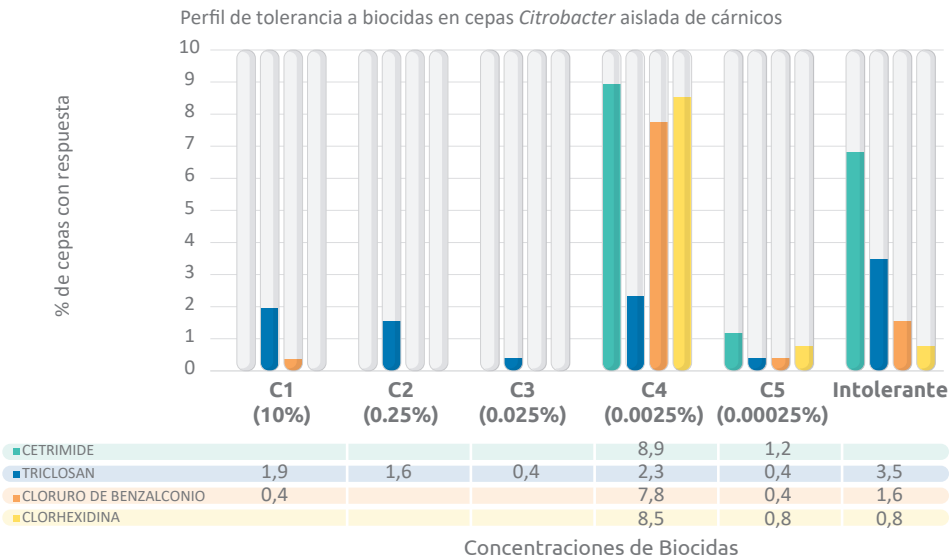


Figura 23. Perfil de tolerancia a biocidas género *Citrobacter* aislado de cárnicos.
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

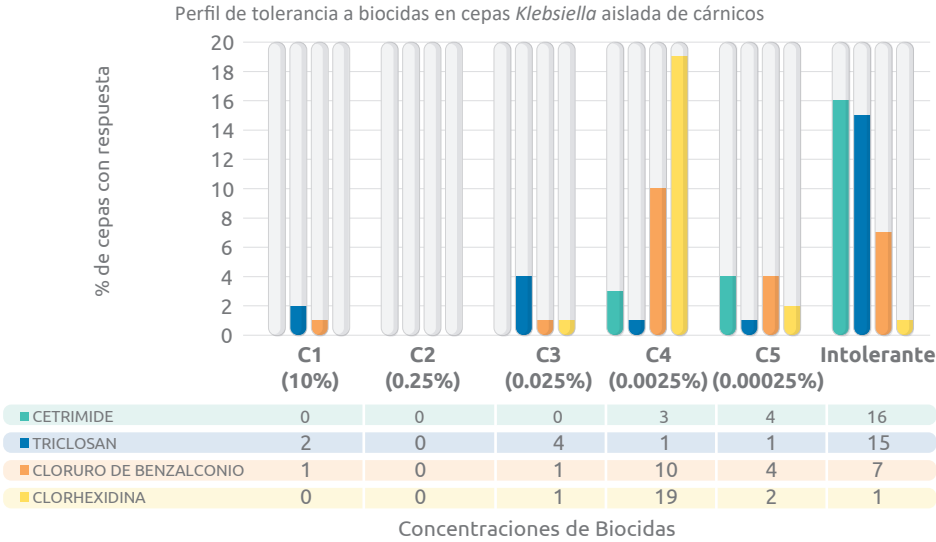


Figura 24. Perfil de tolerancia a biocidas del género *Klebsiella* aislado de cárnicos
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

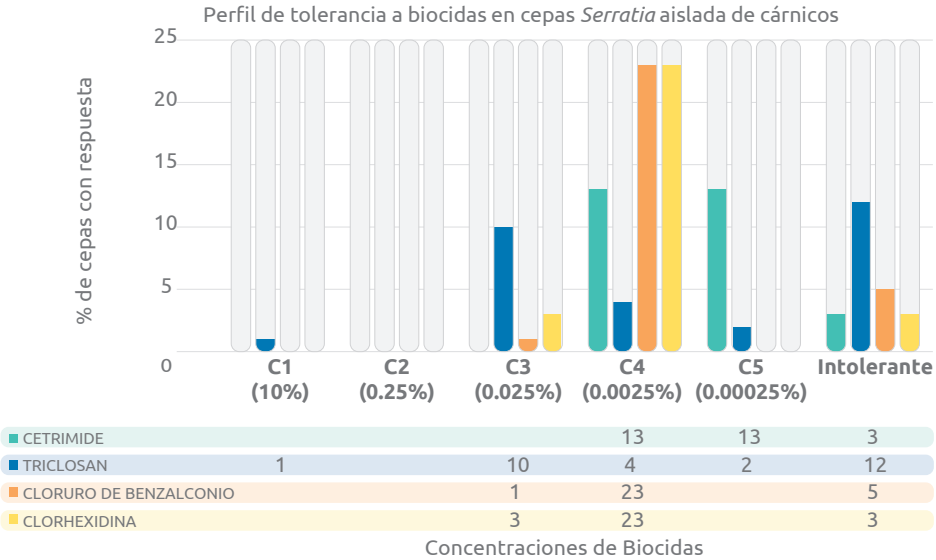


Figura 25. Perfil de tolerancia a biocidas del género *Serratia* aislada de cárnicos.
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

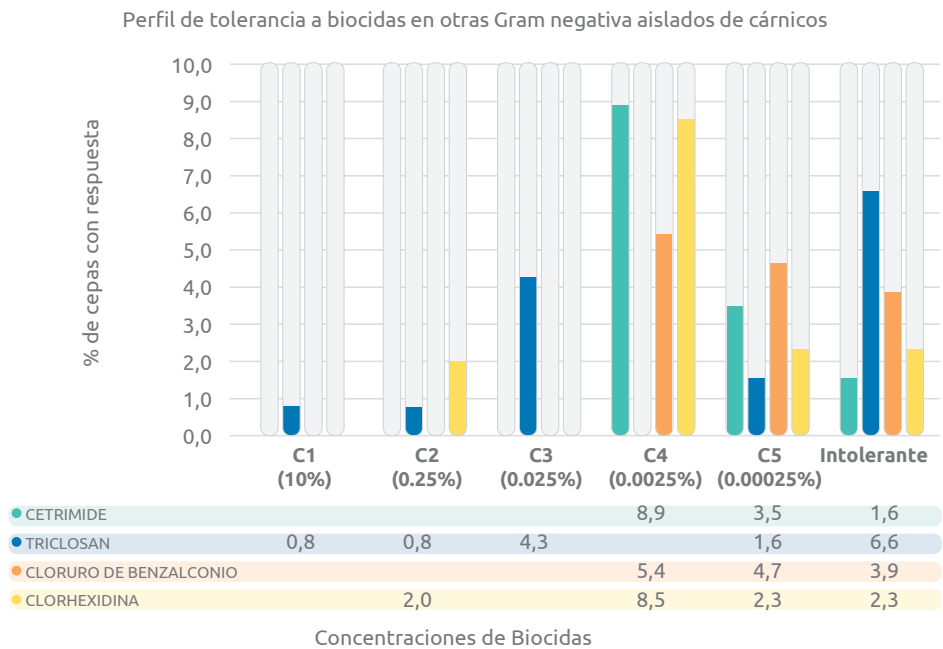


Figura 26. Perfil de tolerancia de otros géneros de Gram negativos aislados de cárnicos
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

Ensayo con bacterias de aislados clínicos

Se expusieron 71 aislados clínicos que presentaron diferentes perfiles de resistencia a sustancias antibióticas. Los fenotipos relacionados fueron AmpC y BLEE. Los ensayos se realizaron con la metodología anteriormente expuesta.

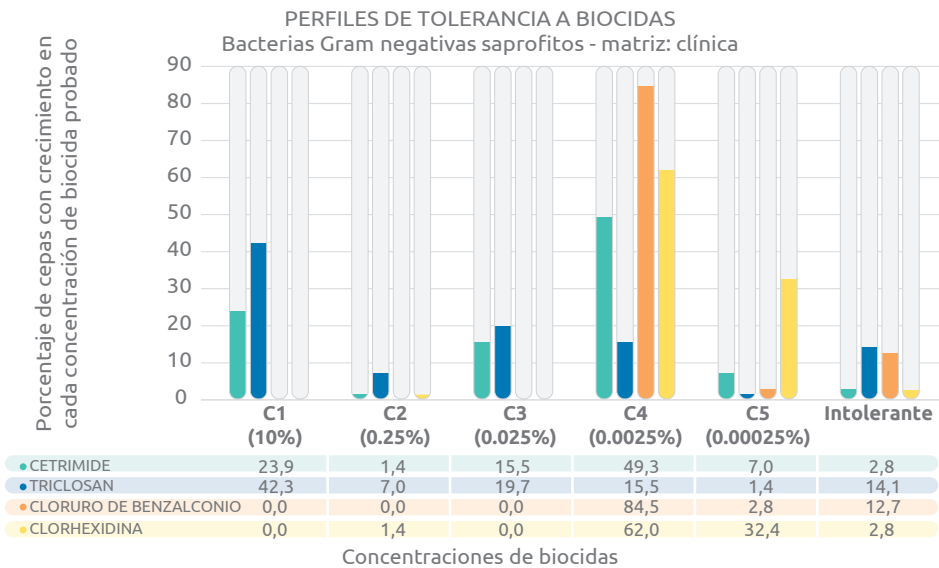


Figura 27. Perfil de tolerancia a biocidas en Gram negativos aislados del ambiente clínico
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

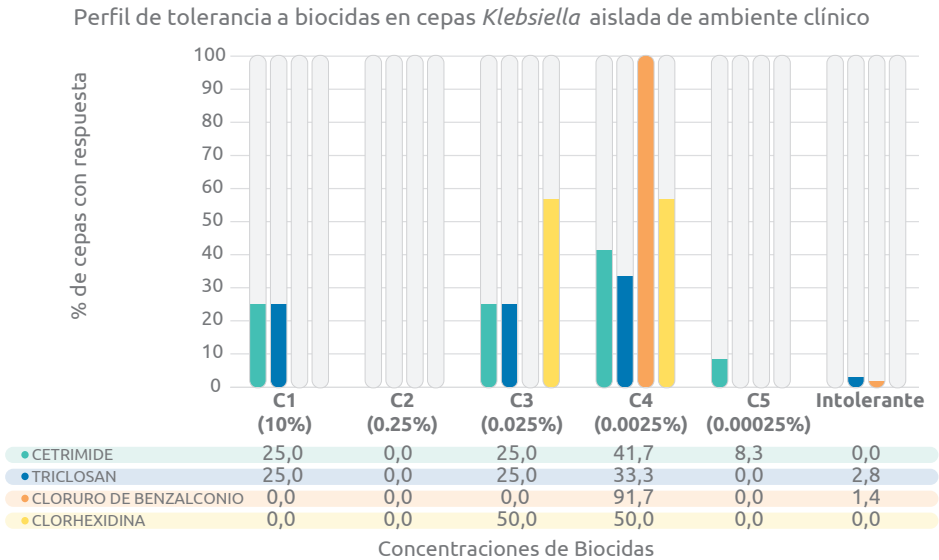


Figura 28. Perfil de tolerancia a biocidas del género *Klebsiella* aislado del ambiente clínico
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

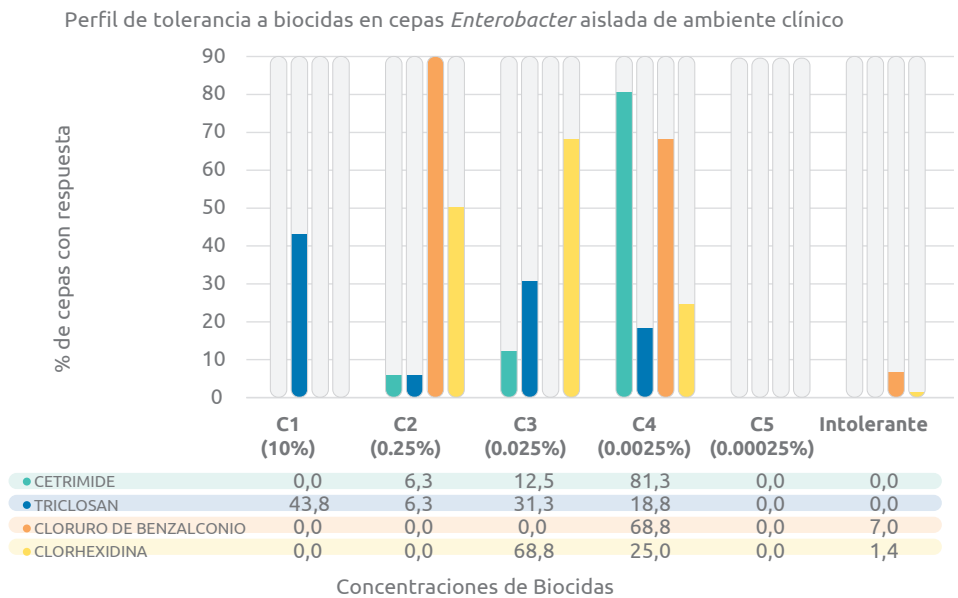


Figura 29. Perfil de tolerancia a biocidas del género *Enterobacter* aislada del ambiente clínico
Fuente: Tomado de Rosas-Leal, López-Velandia, Torres-Caycedo y Merchán (2019).

Discusión

Los géneros aislados de cárnicos muestran bajos perfiles de tolerancia a los cuatro biocidas probados CT, BC, CHX, y TC. Es decir, se presenta crecimiento bacteriano en todos los géneros de Gram negativos. Esta respuesta puede estar mediada por mecanismos de susceptibilidad intrínsecos, como la producción de enzimas, expresión de bombas de eflujo, cambios en la permeabilidad celular o capacidad de producción de biopelículas y quorum sensing. En el presente estudio se aislaron grupos en los que se han reportado estas tolerancias aumentadas anteriormente, y géneros bacterianos relacionados con formación de biofilms. Posiblemente, estos géneros han sido expuestos a la presión microbici­da proveniente de los ambientes que se

generan en una cadena de producción (Mah & O'Toole, 2001; Webber, 2003; Amaral *et al.*, 2014).

En todos los biocidas y géneros bacterianos, tanto en cárnicos como en clínica, la concentración que presentó mayor tolerancia fue la 4 (0,0025 %), con resultados similares a otros estudios (Lerma *et al.*, 2015 y Garrido *et al.*, 2015) en los que se estudiaron psicrófilos y bacterias del género *Salmonella* presentes en producción de cárnicos. Para los aislados clínicos se puede observar similitud en la respuesta de tolerancia en los biocidas cetrimida, cloruro de benzalcohol y clorhexidina con otros estudios que exploraron cepas de *Enterobacter* multirresistentes (Boutarfi *et al.* 2019).

El hallazgo de bacterias que presentan tolerancia a los biocidas implica un riesgo potencial en las cadenas de producción y entornos de procesamiento de carnes. Este incremento en la tolerancia se puede adquirir mediante la exposición a concentraciones de biocidas que no son letales para la célula bacteriana o por la exposición cruzada con antibióticos. En combinación con las prácticas de desinfección, el uso de antibióticos como promotores o agentes terapéuticos podría generar la coselección de bacterias patógenas (Spellberg & Gilbert, 2014).

Los resultados de tolerancia en estas cepas que provienen del ambiente de manipulación son importantes porque el mecanismo por el cual se genera el aumento de la tolerancia a las concentraciones de biocidas que se consideran seguras pueden estar asociados a la presencia de elementos genéticos. Además, al estar estas bacterias en un ambiente de relación zoonótica, podrían transmitirse algunos géneros directamente a través de la cadena alimentaria. Dichos géneros son patógenos transmitidos por alimentos, como *Salmonella* y *Shigella*, que para este estudio fueron aislados en bajo porcentaje y presentaron tolerancia hasta C4, excepto con el triclosán con el cual se inhibió

su crecimiento. Sin embargo, el potencial riesgo puede ser para otros géneros, como se presenta en otros estudios (Garrido et, al. 2015, Holah *et al.*, 2002,).

Las cepas multirresistentes del ambiente clínico mostraron una tolerancia mayor que las cepas saprófitas en las concentraciones C1, C2 y C3, principalmente para ceftriaxona y triclosán. Estas son respuestas similares a otros géneros de bacterias de importancia clínica o involucradas como etiologías infecciosas multirresistentes y en infecciones recurrentes por colonización, dada la inhibición del efecto residual de estos compuestos. Así como se muestra en estas cepas multirresistentes, la tolerancia al triclosán podría interpretarse como el mecanismo cruzado entre la resistencia antibiótica y la tolerancia a sustancias biocidas. Este mismo comportamiento se observó en los géneros de *Klebsiella* y *Enterobacter*, ambos como géneros con mayor porcentaje de aislamiento en los dos ambientes (Hughes & Ferguson, 2017; D'Arezzo *et al.*, 2012; Cottell *et al.*, 2009).

Conclusiones

Los ensayos realizados proporcionan información sobre la respuesta de tolerancia a sustancias biocidas utilizadas con frecuencia. El crecimiento en concentraciones del 1 %, especialmente con el triclosán, tanto en los aislados clínicos multirresistentes como con las bacterias saprófitas, evidencia que el aumento de la tolerancia a sustancias microbicidas circula en ambientes diferentes.

En las muestras estudiadas se hallaron géneros comunes como *Klebsiella* y *Enterobacter*, con respuesta similar a las biocidas entre los ambientes “alimentario” y “clínico”, dado que muestran porcentajes de tolerancia en la concentración C1, principalmente con el triclosán. Esto puede deberse a que esta sustancia biocida ha sido una de las primeras en

usarse para el control del crecimiento bacteriano y en la industria cosmética, lo que ha originado mayor exposición de la microbiota humana y ambiental.

En la producción de los alimentos, específicamente de los cárnicos, confluyen muchos factores humanos, animales y medioambientales que provocan la exposición a las sustancias biocidas, así como tratamientos físicos que conllevan la adaptación de los microorganismos a las condiciones ambientales fluctuantes de temperatura, concentraciones de carga orgánica, humedad y procesos de desinfección. Por eso, los saprófitos llegan a presentar resistencia al efecto biocida y por lo tanto pueden potenciar otros determinantes.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que en este artículo no se realizaron experimentos con animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que los datos tuvieron un manejo ético y confidencial de la información según las normas constitucionales y legales sobre protección de datos personales (Ley habeas data).

Todos los datos analizados de los diferentes proyectos fueron revisados y avalados por el Comité de Bioética Institucional de la Universidad de Boyacá.

- Amaral, L., Martins, A., Spengler, G., & Molnar, J. (2014). Efflux pumps of Gram-negative bacteria: what they do, how they do it, with what and how to deal with them. *Frontiers in pharmacology* 4, 168. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00168>
- Blair, J. M., & Piddock, L. J. (2009). Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Current Opinion in Microbiology*, 12(5), 512–519. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.07.003>
- Boutarfi, Z., Rebiahi, S. A., Morghad, T., Pulido, R. P., Burgos, M. J. G., Mahdi, F., Lucas, R., & Galvez, A. (2019). Biocide tolerance and antibiotic resistance of Enterobacter spp. isolated from an Algerian hospital environment. *Journal of global antimicrobial resistance*, 18, 291-297. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.005>
- Cabrera, E.C., Gómez, F.R., & Zúñiga, E.A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med*, 38. <https://www.redalyc.org/pdf/283/28338208.pdf>
- Céspedes, D.P. (2009). *Detección de genes de resistencia a biocidas en bacterias nosocomiales mediante la reacción en cadena de la polimerasa* [tesis de pregrado, Universidad de Chile]. Repositorio Institucional UCHILE. <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131438/Detecci%C3%B3n-de-genes-de-resistencia-a-biocidas-en-bacterias-nosocomiales-mediante-la-reacci%C3%B3n-en-cadena-de-la-polimerasa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cottell, A., Denyer, S. P., Hanlon, G. W., Ochs, D., & Maillard, J. Y. (2009). Triclosan-tolerant bacteria: changes in susceptibility to antibiotics. *Journal of Hospital Infection*, 72(1), 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.01.014>
- D'Arezzo, S., Lanini, S., Puro, V., Ippolito, G., & Visca, P. (2012). High-level tolerance to triclosan may play a role in Pseudomonas aeruginosa antibiotic resistance in immunocompromised hosts: evidence from outbreak investigation. *BMC research notes*, 5(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-43>
- Denyer, S. P. (1995). Mechanisms of action of antibacterial biocides. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 36(3-4), 227–245. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/0964-8305(96)00015-7)
- Floyd, J. L., Smith, K. P., Kumar, S. H., Floyd, J. T., & Varela, M. F. (2010). LmrS is a multidrug efflux pump of the major facilitator

superfamily from *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(12), 5406–5412. <https://doi.org/10.1128/AAC.00580-10>

Fluman, N., & Bibi, E. (2009). Bacterial multidrug transport through the lens of the major facilitator superfamily. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(5), 738–747. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.020>

Fuentes A.M, F., Morente, E. O., Abriouel, H., Pulido, R. P., & Gálvez, A. (2014). Antimicrobial resistance determinants in antibiotic and biocide-resistant gram-negative bacteria from organic foods. *Food Control*, 37, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.041>

Garçao Curiao, T.I (2014). *Análisis fenotípico, genómico y bioinformático de los elementos genéticos asociados a resistencia a antibióticos y biocidas en enterobacterias* [tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/24967/1/T35262.pdf>

Garrido, A. M., Burgos, M., Márquez, M., Aguayo, M., Pulido, R. P., Árbol, J. T. D., Gálvez, A., & López, R. L. (2015). Biocide tolerance in *Salmonella* from meats in Southern Spain. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(4), 1177–1181. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246420140396>

Gilbert, P., & McBain, A. J. (2003). Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 16(2), 189–208. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.189-208.2003>

Gilbert, P., & Moore, L. E. (2005). Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 703–715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>

Gnanadhas, D. P., Marathe, S. A., & Chakravorty, D. (2013). Biocides—resistance, cross-resistance mechanisms and assessment. *Expert opinion on investigational drugs*, 22(2), 191–206. <https://doi.org/10.1517/13543784.2013.748035>

González, L. L., Isabel Gutiérrez Pérez, M., Eulalia Lucio-Villegas Menéndez, M., Lluch, N. A., Luisa Morató Agustí, M., & Cachafeiro, S. P. (2014). Introducción a los antisépticos. *Atencion Primaria*, 46(SUPPL. 2), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0212-6567\(14\)70055-1](https://doi.org/10.1016/S0212-6567(14)70055-1)

- Hernández-Navarrete, M. J., Celorrio-Pascual, J. M., Moros, C. L., & Bernad, V. M. S. (2014). Principles of antiseptics, disinfection and sterilization. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(10), 681–688. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.04.003>
- Holah, J. T., Taylor, J. H., Dawson, D. J., & Hall, K. E. (2002). Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *Journal of applied microbiology*, 92, 111S-120S. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.18.x>
- Hughes, C., & Ferguson, J. (2017). Phenotypic chlorhexidine and triclosan susceptibility in clinical *Staphylococcus aureus* isolates in Australia. *Pathology*, 49(6), 633-637. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.05.008>
- Lavilla Lerma, L., Benomar, N., Knapp, C. W., Correa Galeote, D., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2014). Diversity, distribution and quantification of antibiotic resistance genes in goat and lamb slaughterhouse surfaces and meat products. *PloS one*, 9(12), e114252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114252>
- Lerma, L. L., Benomar, N., Muñoz, M. D. C. C., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2015). Correlation between antibiotic and biocide resistance in mesophilic and psychrotrophic *Pseudomonas* spp. isolated from slaughterhouse surfaces throughout meat chain production. *Food microbiology*, 51, 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.010>
- López Aguayo, M. C., Lucas López, R., Grande Burgos, M. J., & Gálvez-del-Postigo-Ruiz, A. (2010). Resistencia a biocidas de diferentes cepas de *Escherichia coli*. <https://core.ac.uk/download/pdf/60878292.pdf>
- Mah, T. F & O'Toole, G. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology* 9(1), 34-39. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(00\)01913-2](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(00)01913-2)
- Maillard, J. Y. (2002). Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 92(1), 16S-27S. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.3.x>
- Ministerio de la Presidencia Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. (2002). Real Decreto 1054/2002, de 11 de octubre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2002-19923>

- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
- Rosas-Leal, D. A., López-Velandia, D. P., Torres-Caycedo, M. I., & Merchán, M. A. (2019). Perfiles de susceptibilidad de grupos bacterianos aislados de productos cárnicos en Tunja, Boyacá. *Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá*, 6(2), 19-39. <https://doi.org/10.24267/23897325.439>
- Rosenberg, E. Y., Bertenthal, D., Nilles, M. L., Bertrand, K. P., & Nikaido, H. (2003). Bile salts and fatty acids induce the expression of *Escherichia coli* AcrAB multidrug efflux pump through their interaction with Rob regulatory protein. *Molecular Microbiology*, 48(6), 1609–1619. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03531.x>
- Russell, A. D. (1997). Plasmids and bacterial resistance to biocides. *Journal of applied Microbiology*, 83(2), 155-165.
- Russell, A. D. (2002). Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 92(1), 121S-135S. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.12.x>
- Russell, A. D. (2004). Whither triclosan? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5), 693–695. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh171>
- Sáenz-Anduaga, E., & Sánchez-Saldaña, L. (2005). Antibióticos tópicos. *Dermatología Peruana*, 15(1), 7. https://www.dermatologiaperuana.pe/assets/uploads/revista_a1XZ_a02.pdf
- Schweizer, H. P. (2001). Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics. *FEMS Microbiology Letters*, 202(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10772.x>
- Spellberg, B., & Gilbert, D. N. (2014). The Future of Antibiotics and Resistance: A Tribute to a Career of Leadership by John Bartlett. *Clinical Infectious Diseases*, 59(suppl 2), S71–S75. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu392>
- Tauch, A., Schlüter, A., Bischoff, N., Goesmann, A., Meyer, F., & Pühler, A. (2003). The 79,370-bp conjugative plasmid pB4 consists of an IncP-1 β backbone loaded with a chromate resistance transposon, the strA-strB streptomycin resistance gene pair, the

- oxacillinase gene blaNPS-1, and a tripartite antibiotic efflux system of the resistance-nodulation-division family. *Molecular Genetics and Genomics*, 268(5), 570–584. <https://doi.org/10.1007/s00438-002-0785-z>
- Wales, A. D., & Davies, R. H. (2015). Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics* 4(4), 567–604. <https://doi.org/10.3390/antibiotics4040567>
- Webber, M. A. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(1), 9–11. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg050>
- Wessels, S., & Ingmer, H. (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 67(3), 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.006>

CAPÍTULO IV.

Resistencia antimicrobiana en levaduras



● **Astrid Maribel Aguilera Becerra**

amaguilera@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0003-2892-6916>

Magíster en Sistemas Integrados de Gestión.
Universidad de Boyacá.

● **Eliana Ximena Urbano Cáceres**

eliurbano@uniboyaca.edu.co.
<https://orcid.org/0000-0001-7218-7300>

Magíster en Ciencias Biológicas.
Universidad de Boyacá.

Introducción

Las especies de *Candida* son la causa más común de infecciones por hongos. La más prevalente es *Candida albicans*. Estas son patógenos comensales que hacen parte de los microorganismos normales de la piel, los genitales y la zona gastrointestinal. Otras especies de este género han surgido como patógenos emergentes y pueden llegar a hacer parte de la microbiota mucocutánea. El estado inmune y la enfermedad de base del hospedador pueden llegar a influenciar la patogenicidad de este grupo de microorganismos (Denning *et al.*, 2018; Jiménez-Guerra *et al.*, 2018; Rodríguez M.O., 2019).

La frecuencia de *Candida* spp. en hemocultivos en Colombia corresponde al 5 % y se notifica como el quinto microorganismo más comúnmente aislado. Entre los datos más recientemente reportados se indica que el porcentaje de resistencia a los azoles es bajo y permanece estable, en comparación con el de otros gérmenes, como es el caso de algunas bacterias. Sin embargo, dicha resistencia no se ha estudiado a profundidad y se desconocen muchos de los mecanismos de resistencia de las especies de *Candida* frente al grupo de antifúngicos empleados para combatirlos (Rojas *et al.*, 2020). Por ejemplo, en la última década se ha visto un aumento de las candidemias generadas por especies de *Candida* y No - *C. albicans* (NCA). Dentro de los antifúngicos está el fluconazol, que es un antimicótico de primera línea empleado para contrarrestar las candidemias, debido a que este actúa de manera sistémica con toxicidad reducida. Comercialmente se presenta para toma oral o intravenosa. Su mecanismo de acción se fundamenta en la

inhibición de la síntesis del ergosterol, el principal esterol presente en la membrana de los hongos (Popp *et al.*, 2019)

En ese orden, el presente capítulo presenta los principales mecanismos de resistencia desarrollados por las diferentes especies del género *Candida* spp. encontrados en la revisión de literatura en bases de datos como Science Direct, Google Scholar, NCBI, Scielo, libros en archivos digitales y físicos, así como artículos de estudios seleccionados a conveniencia. En general, se evidencia un cambio permanente del perfil epidemiológico de la resistencia de las levaduras a los antifúngicos, directamente relacionado con el huésped, el microorganismo involucrado, el mecanismo de resistencia y la etiología de la enfermedad. De acuerdo con este panorama epidemiológico, el manejo de los pacientes se torna complicado, lo que genera una alta tasa de mortalidad. Es por ello por lo que es importante realizar una vigilancia local y regional que permita conocer la distribución de especies de *Candida* presentes, así como el perfil de sensibilidad, con el objetivo de instaurar en los pacientes una terapia antifúngica adecuada (Zurita Macalupú, 2018).

Las especies del género *Candida* spp. pueden adquirir resistencia mediante dos mecanismos: el primero de ellos se debe a una resistencia de tipo natural, y el segundo al desarrollo de una resistencia adquirida, como la resistencia a los azoles. La resistencia natural es provocada por procesos como la alteración de las enzimas relacionadas en la síntesis del ergosterol, la generación de mutaciones moleculares de la enzima diana del antifúngico y, finalmente, la alteración en las bombas de expulsión: facilitadores mayores (MF) y ATPbinding cassette (ABC) (Perurena *et al.*, 2016; Quintana *et al.*, 2017).

Generalidades del género *Candida*

El género *Candida* tiene aproximadamente 163 especies; a 10 de ellas se les atribuye la mayoría de las infecciones fúngicas invasivas y es *Candida albicans* la especie más importante clínicamente. *Candida* spp. son microorganismos comensales en el ser humano y tienen la capacidad de colonizar mucosas de la boca (30 % a 50 %), del tracto intestinal (50 % a 70 %), de piel (4 % a 7 %) y de vagina (5 % a 30%) (De Bedout y Gómez, 2010; Zurita Macalupú, 2018).

Candida albicans y especies emergentes de *Candida* no *albicans* como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* pueden causar infecciones superficiales de la mucosa oral y vaginal, así como infecciones diseminadas en el torrente sanguíneo y en el tejido profundo (Whaley *et al.*, 2017).

Candida es un microorganismo que tiene la capacidad de formar biopelículas mediante la producción de polisacáridos extracelulares, que le permite a la levadura adherirse a prácticamente cualquier tipo de superficie, evadir el sistema inmune y aumentar su resistencia a moléculas antimicrobianas, en comparación con microorganismos en estado planctónico (Bermúdez *et al.*, 2018; Del Pozo y Cantón, 2016; Gil *et al.*, 2017).

La candidiasis comprende una serie de afecciones clínicas variadas que pueden generar desde una infección superficial hasta una diseminada (Duque *et al.*, 2020). Sin embargo, la principal fuente de infección para el hombre es de origen endógeno. Para el caso de *C. albicans* puede presentarse una alteración del balance de la microbiota que, junto con la alteración del sistema inmune, generan un aumento de

las levaduras y, por ende, una sobrecolonización e invasión (De Bedout y Gómez, 2010; Pappas *et al.*, 2018).

A lo largo del tiempo, el patrón etiológico de la candidemia ha venido cambiando, aunque *C. albicans* continúa presentando prevalencias significativas. Actualmente las estadísticas han disminuido drásticamente y han dado lugar al aumento de especies no albicans. Con ellas han emergido nuevos patrones de sensibilidad a los antifúngicos que en ocasiones son desconocidos (Clancy y Nguyen, 2018; Lamoth *et al.*, 2018; Lazo *et al.*, 2018).

Mecanismos de resistencia naturales en levaduras

En Colombia se reporta una incidencia de infecciones por especies de *Candida* de 2,3 casos por cada 1000 días de estancia de pacientes en unidades de cuidado intensivo, y presenta una mortalidad entre el 36 % y el 78 % (Cortés Hidalgo *et al.*, 2018; Cortés *et al.*, 2020). La prevalencia de candidiasis invasiva ha presentado altas tasas de morbimortalidad, debido probablemente al incremento de pacientes VIH positivos y al aumento de resistencia al fluconazol, medicamento que ha sido de elección para el tratamiento, por varios años, de especies previamente sensibles (*Candida albicans*) (Cortés Hidalgo *et al.*, 2018)

La infección por *C. albicans* depende de diversos factores de virulencia. Particularmente se destaca su capacidad de adhesión, pues este proceso es esencial para generar la patogenicidad, ya que favorece la formación de biopelículas que le permiten al microorganismo adherirse y ocasionar la invasión y diseminación de la infección. Este es un importante mecanismo de resistencia antifúngica (De la Calle Rodríguez *et al.*, 2012)

Resistencia a los azoles en especies de *Candida*

Existen varias clases de compuestos utilizados para tratar las infecciones por *Candida*. Dentro de ellos se destacan polienos, azoles, equinocandinas, análogos de nucleósidos y alilaminas, que se utilizan con eficacia variable según el tipo y el sitio de infección y la sensibilidad de la especie *Candida* (Cortés *et al.*, 2020). La anfotericina B y el fluconazol son los principales antifúngicos utilizados para el tratamiento de micosis causadas por estos microorganismos. Sin embargo, es un problema importante en el área clínica la actual resistencia a ellos (Carrillo-Muñoz *et al.*, 2010; Rodríguez, M.O., 2019).

El fluconazol apareció hacia los años ochenta y combatió las candidemias causadas por *Candida tropicalis* y por *Candida albicans*. Sin embargo, las causadas por *Candida glabrata* y *Candida krusei* aumentaron drásticamente, debido a que este último patógeno posee resistencia intrínseca al fluconazol. Por su parte, *C. glabrata* es una de las especies consideradas de baja virulencia, pero que en comparación con *C. albicans* presenta una mortalidad mayor, debido a la dificultad de tratar las infecciones que causa. Así mismo, sus características genéticas le confieren por sí mismas resistencia a fármacos azólicos, principalmente al fluconazol (Cárdenas Parra y Pérez Cárdenas, 2020; Zurita Macalupú, 2018).

Los azoles inhiben la 14- α -esterol desmetilasa, codificada por el gen *ERG11*, la cual es una enzima involucrada en la biosíntesis del esteroide ergosterol de membrana específico para hongos. Dado que algunas especies de NCA exhiben resistencia intrínseca a los azoles, su uso es probablemente un factor que contribuye a la incidencia más frecuente de infecciones causadas por ellas (Arrieta, 2018; Rivero Menéndez, 2019). Además, muchos estudios han

documentado la capacidad de la *Candida* para desarrollar un alto nivel de resistencia a los antifúngicos azoles (Whaley *et al.*, 2017). A continuación, se describirá la principal problemática de la frecuencia de las levaduras patógenas del género *Candida*.

***Candida albicans*:** las infecciones causadas por *C. albicans* se asocian a diferentes niveles de resistencia al fluconazol según el tipo de infección. Los aislamientos de *C. albicans* de pacientes candidémicos tienen la menor incidencia de resistencia a los azoles (0 a 5 %). La incidencia de resistencia al fluconazol en aislados de *C. albicans* de candidiasis orofaríngea es mayor y depende del tratamiento previo con fluconazol y de infecciones previas (Herrera Díaz, 2018).

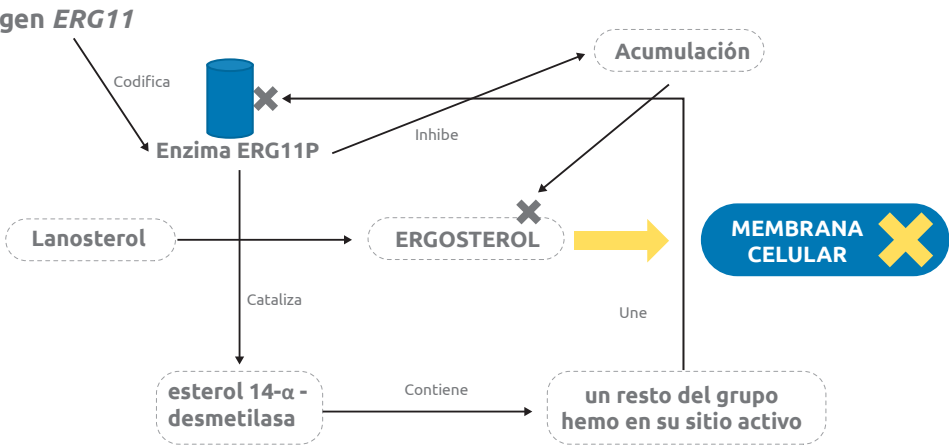
***Candida glabrata*:** esta levadura presenta una mayor incidencia de resistencia antifúngica a los azoles entre las especies de *Candida*. Presenta una susceptibilidad intrínseca disminuida a la clase de antifúngicos azoles, incluida la adición más reciente a la clase isavuconazol. *C. glabrata* también puede desarrollar un alto nivel de resistencia después de la exposición a antifúngicos azólicos y es una de las especies más frecuentes aisladas en infecciones de pacientes que reciben profilaxis con azol. Dentro de sus mecanismos de resistencia se resalta la sobreexpresión o la mutación del gen *ERG11*, que media la regulación de las bombas de expulsión de drogas, que se traduce en la disminución de la acumulación del fluconazol en el medio intracelular (Carton Herrán, 2018 y Muñoz del Valle, 2015).

***Candida tropicalis*:** la resistencia al fluconazol de esta especie de *Candida* varía de 0 a un máximo del 83 % (Quintero, 2010). Esta es típicamente más susceptible a los azoles; sin embargo, en países asiáticos como China, India y Tailandia en los últimos tiempos se ha convertido en un problema que va en aumento (Fan *et al.*, 2019).

***Candida parapsilosis*:** la incidencia mundial de resistencia al fluconazol en infecciones diseminadas oscila entre el 2 % y el 5 %. Como *C. krusei*, exhibe resistencia intrínseca al fluconazol. Existe cierta controversia sobre si su mayor tasa de infección está relacionada con la profilaxis con fluconazol o con un tratamiento previo. Esto evidencia la necesidad de incluir procesos de diagnóstico molecular para la identificación de aislamientos pertenecientes a este complejo, pues pueden existir diferencias en los patrones de sensibilidad a los antifúngicos, especialmente para los azoles (Colombo *et al.*, 2017; Moreno *et al.*, 2017 y Whaley *et al.*, 2017).

Alteración de las enzimas que permiten la síntesis del ergosterol

ERG11P es una enzima del citocromo P450 de la familia 51 (CYP51) codificada por el gen *ERG11*. Esta enzima convierte el lanosterol en ergosterol, que cataliza la eliminación oxidativa del grupo 14 α -metilo del lanosterol. El esteroide 14- α -desmetilasa contiene un resto del grupo hemo en su sitio activo. El nitrógeno sin obstáculos de los azoles se une al hierro hemo de ERG11P e inhibe la reacción enzimática. Además, un segundo nitrógeno en los azoles tiene el potencial de interactuar directamente con la apoproteína de lanosterol-desmetilasa. La inhibición de ERG11P conduce a la acumulación de esteroides 14 α -metilados y bloquea la biosíntesis de ergosterol, con lo que provoca defectos en la membrana y la integridad celular (Fuentes *et al.*, 2014; López-Ávila *et al.*, 2016 y Mellado *et al.*, 2002) (Figura 30).



● **Figura 30.** Alteración de las enzimas que permiten la síntesis del ergosterol
Fuente: elaboración propia

La resistencia a los agentes antifúngicos azólicos se ha asociado a cambios en la expresión del gen *ERG11* y/o mutaciones puntuales y alteraciones en la vía biosintética del ergosterol. La sobreexpresión del *ERG11* aumenta el número de copias de la enzima ERG11P, lo que da como resultado una síntesis elevada de ergosterol que sobrepasa la capacidad del fármaco antifúngico (Fan *et al.*, 2019; López-Ávila *et al.*, 2016).



● **Figura 31.** Cambios en la expresión del gen *ERG11*
Fuente: elaboración propia

Alteración en las bombas de expulsión: Facilitadores Mayores (MF) y los ATPbinding cassette (ABC).

Los transportadores Facilitadores Mayores (MF) y los ATPbinding cassette (ABC) son un sistema de bombeo mediado por ATP que se localiza en la membrana citoplasmática. Se encarga de contribuir en la resistencia de múltiples drogas, incluyendo casi todos los azoles. Su mecanismo de acción se fundamenta en la expulsión del antifúngico hacia el exterior de la célula. Los transportadores MF y ABC son codificados por los genes CDR [*Candida* Drug Resistance] y genes *MDR* [Multidrug Resistance] respectivamente (López-Ávila *et al.*, 2016).

Actualmente, la sobreexpresión de estos transportadores son la causa más común de resistencia a los antifúngicos, en su mayoría a los azoles. En la figura 32, por ejemplo, se muestra el fenómeno ocurrido en una célula susceptible, en la que los antifúngicos azólicos entran por difusión pasiva y actúan sobre la enzima lanosterol desmetilasa, que es producto del gen *ERG11*, lo cual inhibe la síntesis del ergosterol (Hernández Santiago, 2018).

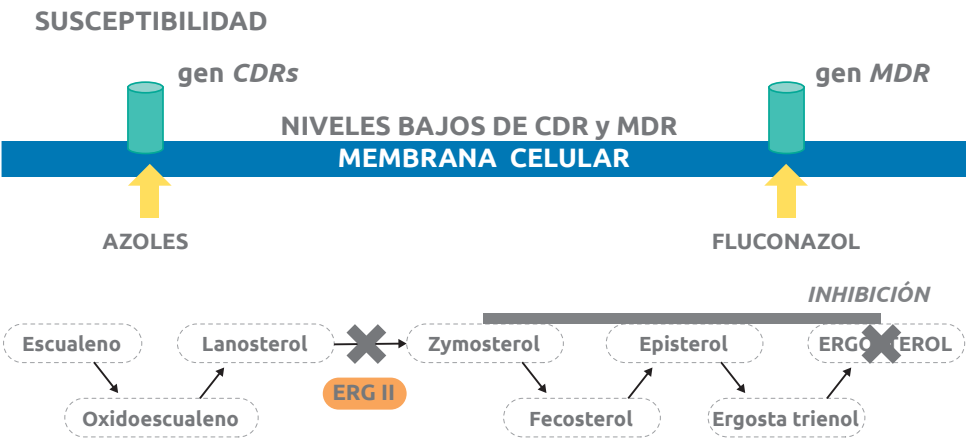


Figura 32. Susceptibilidad y alteraciones en el transporte de fármacos
Fuente: elaboración propia

Así mismo, en la figura 33 se muestra el proceso que ocurre en las células sensibles que tienen niveles bajos de los genes *CDR* (Hernández Santiago, 2018).

En especies de *C. albicans* se han logrado caracterizar los genes *CDR1* y *CDR2*, que representan más del 50 % de las cepas resistentes a los antifúngicos (Rojas *et al.*, 2020).

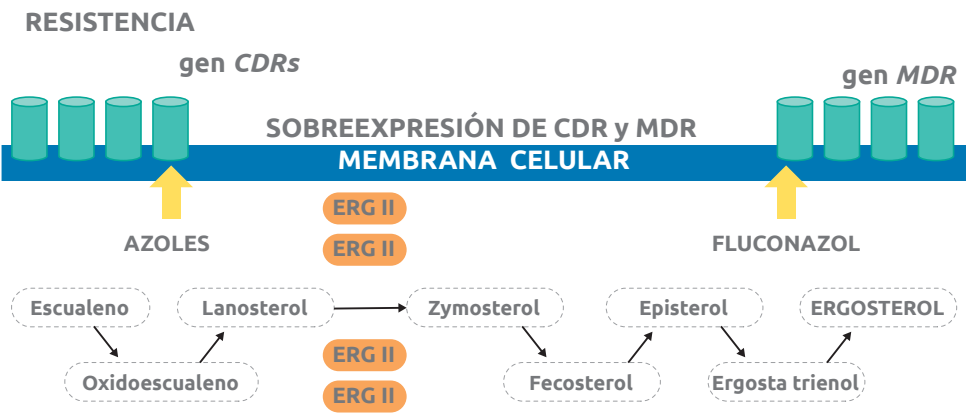


Figura 33. Resistencia y alteraciones en el transporte de fármacos
Fuente: elaboración propia

Fluconazol

El fluconazol es un antimicótico de tipo triazol. Los azoles funcionan inhibiendo la enzima lanosterol desmetilasa (14 α -desmetilasa) en la vía de biosíntesis del ergosterol. Más específicamente, el átomo de nitrógeno libre del anillo de azol se une a un átomo de hierro dentro del grupo hemo de la enzima y evita la activación de oxígeno y la desmetilación del lanosterol. Esto inhibe el proceso de biosíntesis de ergosterol, el cual es un componente esencial de la membrana celular de los hongos. La inhibición ocasionada es tóxica y genera que los esteroides metilados se acumulen en la membrana celular, lo que detiene el crecimiento de la célula (Berkow y Lockhart, 2017; Cárdenas Parra y Pérez Cárdenas, 2020).

El fluconazol es fungistático en lugar de fungicida, por lo que el tratamiento brinda la oportunidad de que se desarrolle una resistencia adquirida en presencia de este antifúngico. En los EE. UU., *C. albicans* tiene una baja incidencia de resistencia al fluconazol: aproximadamente de 0,5 % a 2 %. Por otro lado, *C. tropicales*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata* tienen tasas más altas: de 4 a 9 %, 2 a 6 % y 11 a 13 %, respectivamente. La levadura emergente *C. auris* puede presentar una tasa de resistencia al fluconazol de hasta 93 %. Alternativamente, sin la introducción previa del antifúngico, la resistencia al fluconazol también puede ser innata, como se observa con *C. krusei*. Comprender los mecanismos que subyacen a la resistencia al fluconazol es una parte crucial de la gestión de nuestro limitado repertorio antifúngico y del objetivo de mantener el fluconazol como una posible opción para tratar muchas infecciones por *Candida* (Carton Herrán, 2018).

A este grupo de medicamentos fungistáticos se le asocian dos mecanismos de acción principalmente: la acumulación de peróxido de hidrógeno, que genera una alteración de

los mecanismos enzimáticos intracelulares encargados de intervenir en su síntesis y detoxificación, y una lesión en los organelos intracelulares; y la inhibición de la enzima C-5 desaturasa, implicada en la deshidratación del episterol, que es un precursor del ergosterol, y del mecanismo asociado a la enzima 14 alfa-desmetilasa encargada de la desmetilación del antifúngico (Cárdenas Parra y Pérez Cárdenas, 2020).

Mecanismos de resistencia especies de Candida

La resistencia que presenta la Candida varía respecto a las especies que generan la infección fúngica. Por ello, en la tabla 7 se presentan los mecanismos de resistencia de las especies más prevalentes en el ámbito médico-clínico.

Tabla 7. Mecanismos de resistencia en especies de Candida

Microorganismo	Mecanismo de resistencia	Fuente
Candida albicans	La levadura tiene capacidad de adhesión y de formar biofilms.	López-Ávila <i>et al.</i> (2016); Whaley <i>et al.</i> (2017); Bermúdez <i>et al.</i> (2018); Pinilla Bermúdez <i>et al.</i> (2020); Hoffmann Vieira, A. J., & dos Santos, J. I. (2017)
	Presencia de mutaciones puntuales en <i>ERG11</i> .	
	Es capaz de invadir tejidos y evadir la fagocitosis.	
	Presenta la habilidad de cambiar su morfología entre levaduras, hifas y pseudohifas.	
Candida auris	Actualmente no se tienen identificados de forma clara los mecanismos de resistencia empleados por esta especie. Posiblemente sería inducible por la presión de selección, lo que le produce cambios mutacionales rápidos.	Araújo Ribeiro <i>et al.</i> (2020); Correa-Delgado <i>et al.</i> (2020); Tapia y Batarce (2017); Pereira <i>et al.</i> (2022).
	Esta especie podría tener genes que se relacionan con resistencia a los antifúngicos como son <i>ERG3</i> , <i>ERG11</i> , <i>FKS1</i> , <i>FKS2</i> y <i>FKS3</i> ; y genes que codifican para las familias de transportadores ABC y MSF (bombas de flujo). Esto podría explicar la multirresistencia del patógeno.	
Candida glabrata	Presencia de genes <i>MDR</i> (Multi Drug Resistance) y <i>CDR</i> (Candida Drug resistance).	Colombo <i>et al.</i> (2017); Torres (2018); Rodríguez P.N. (2019); Campos <i>et al.</i> (2020).
	La resistencia a los polienos se ha relacionado con cambios en el contenido de esteroides de la membrana plasmática de hongos que, a su vez, se han relacionado con mutaciones en los genes <i>ERG2</i> , <i>ERG6</i> o <i>ERG11</i> .	
	Mutaciones en los genes codificantes de la subunidad catalítica de la enzima b-1,3-D-glucano sintasa se han relacionado con la resistencia a la equinocandina.	

Fuente: compilación autores

Conclusiones

Esta revisión confirmó que en los últimos años se han producido cambios no solo en el diagnóstico, sino en el tratamiento de las micosis oportunistas. Por eso, es indispensable conocer los mecanismos de resistencia de las levaduras con el fin de disminuir las tasas de mortalidad generadas por estos microorganismos.

Finalmente, se concluye que la resistencia a los antifúngicos es un serio problema de salud pública, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, debido a la gravedad de los cuadros clínicos causados por estas infecciones fúngicas que pueden ser fatales. El antifúngico que genera mayor resistencia actualmente es el fluconazol, lo que requiere de manera urgente la adopción de nuevas estrategias para el tratamiento. Entre dichas estrategias se sugiere el aumento de procesos de investigación para el desarrollo de antifúngicos con mecanismos de acción diferentes.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que en este artículo no se realizaron experimentos con animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que los datos tuvieron un manejo ético y confidencial de la información según las normas constitucionales y legales sobre protección de datos personales (Ley habeas data).

Todos los datos analizados de los diferentes proyectos fueron revisados y avalados por el Comité de Bioética Institucional de la Universidad de Boyacá.

- Araújo Ribeiro, E., Mellory C L de Almeida, I. F., Johnson Gomes Ribeiro, L. B., & Mroginski Weber, D. (2020). Fatores de virulência descritos para *Candida auris* em infecções/colonizações nosocomiais-revisão integrativa. *Revista Saber Científico*, 9(1). <https://doi.org/10.22614/resc-v9-n1-1298>
- Arrieta, I. (2018). *Diagnóstico molecular de especies de Candida y otras levaduras. Identificación de mutaciones en los genes ERG11, TAC1 y UPC2 en relación con la sensibilidad reducida a azoles, y equinocandinas en el gen FKS*. Universidad del País Vasco.
- Berkow, E. L., & Lockhart, S. R. (2017). Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infection and Drug Resistance*, 10, 237–245. <https://doi.org/10.2147/IDR.S118892>
- Bermúdez, P., Muñoz, E., Ospina, N., Molina, M., Constanza, L., Celis, L., Alejandra, D., Aponte, M., Alexandra, J., Castillo, M., María, J., & Gladys Pinilla Bermúdez, D. (2018). Herramientas para el análisis de mecanismos de resistencia de *Candida albicans*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 38(3).
- Campos, T., Cosentino, C., Simioni, P. U., & Ugrinovich, L. A. (2020). Avaliação do comportamento de leveduras do gênero *Candida* a fármacos antifúngicos. *Ciência & Inovação*, 5(1).
- Cárdenas Parra, L. Y., & Pérez Cárdenas, J. E. (2020). Mecanismos de resistencia a fluconazol expresados por *Candida glabrata*: una situación para considerar en la terapéutica. *Investigación en Enfermería: Imagen y Desarrollo*, 22. <https://doi.org/10.11144/javeriana.ie22.mrfe>
- Carton Herrán, J. D. (2018). Actividad antifúngica de la combinación de fluconazol con otros fármacos: Un enfoque terapéutico alternativo de las candidiasis. Universidad del País Vasco.
- Carrillo-Muñoz, A. J., Tur-Tur, C., Hernández-Molina, J. M., Santos, P., Cárdenes, D., & Giusiano, G. (2010). Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(2), 49-56.
- Clancy, C. J., & Nguyen, M. H. (2018). Diagnosing invasive candidiasis. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 56, Issue 5). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/JCM.01909-17>
- Colombo, A. L., Júnior, J. N. D. A., & Guinea, J. (2017). Emerging multidrug-resistant *Candida* species. *Current Opinion in*

- Infectious Diseases, 30(6), 528–538. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000411>
- Correa-Delgado, K. J., Aguilera-Becerra, A. M., & Alfonso-Vargas Nadia Catalina. (2020). *Candida auris*, un microorganismo emergente. *Dermatología Revista Mexicana*, 64(4), 393–404.
- Cortés Hidalgo, A. P., Roa Dueñas, O. H., Méndez Fandiño, Y. R., & Álvarez Moreno, C. A. (2018). Opciones terapéuticas frente a especies de *Candida* resistentes a las equinocandinas. *Universitas Médica*, 59(2). <https://doi.org/10.11144/javeriana.umed59-2.cand>
- Cortés, J. A., Ruiz, J. F., Melgarejo-Moreno, L. N., Lemos, E. V, Ja, C., Jf, R., & Ln, M.-M. (2020). Candidemia en Colombia. *Biomédica*, 40, 195–207. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4400>
- De Bedout, C., & Gómez, B. L. (2010). *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano *Candida and candidiasis: the challenge continues for an early diagnosis. Infectio*, 14(2S). <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/27>
- De la Calle Rodríguez, N., Santa Vélez, C., & Cardona Castro, N. (2012). Virulence factors of *Candida albicans* and dermatophytes in keratinized tissues infection. *CES Medicina*, 26(1).
- Del Pozo, J. L., & Cantón, E. (2016). Candidiasis asociada a biopelículas. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33(3), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2015.06.004>
- Denning, D. W., Kneale, M., Sobel, J. D., & Rautemaa-Richardson, R. (2018). Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(11), e339–e347. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30103-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30103-8)
- Duque, C. M., Sánchez, D. M., Gaviria, A., Acosta, A. V., Gómez, B., Mauricio Gómez, O., Giraldo, A. R., & Hernández, O. (2020). Caracterización de *Candida* spp. aisladas a partir de urocultivos en la ciudad de Medellín. *Infectio*, 24(4), 217–223. <https://doi.org/10.22354/in.v24i4.879>
- Fan, X., Xiao, M., Zhang, D., Huang, J. J., Wang, H., Hou, X., Zhang, L., Kong, F., Chen, S. C. A., Tong, Z. H., & Xu, Y. C. (2019). Molecular mechanisms of azole resistance in *Candida tropicalis* isolates causing invasive candidiasis in China. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 885–891. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.11.007>

- Fuentes, M., Hermosilla, G., Albuquerque, C., Falconer, M. A., Amaro, J., & Tapia, C. (2014). Caracterización de los mecanismos de resistencia a azoles en aislados clínicos chilenos de *Candida albicans*. *Revista Chilena de Infectología*, 31(5), 511–517. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000500001>
- Gil, M., González, L., Mendoza, V., Ochoa, M., Castrülo, S., Sánchez, J., & Briceño, A. (2017). Capacidad de formación de biopelículas en especies del género *Candida* de procedencia clínica. *Revista Médica de Risaralda*, 23(2), 4–9. <https://doi.org/10.22517/25395203.13791>
- Hernández Santiago, M. (2018). Frecuencia de fenotipos de resistencia bacteriana y susceptibilidad antifúngica de levaduras, en cultivos aislados de pacientes del Hospital General del Sur en el periodo enero 2015 a abril 2017 (tesis de pregrado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/7731>
- Herrera Díaz, A. C. (2018). Comparación entre pacientes con Candidemia causada por *Candida Albicans* versus *Candida No-albicans* en una población de adultos Fundación Cardio-Infantil, Bogotá, Colombia, periodo 2012-2017. *New England Journal of Medicine* 373(15). <https://doi.org/10.1056/NEJMra1315399>
- Hoffmann Vieira, A. J., & dos Santos, J. I. (2017). Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. *Revista Brasileira de Análisis Clínicos*, 49(3), 235–234. www.trasso.com.br
- Jiménez-Guerra, G., Moreno-Torres, I. C., Gutiérrez-Soto, M., Vázquez-Alonso, F., Sorlózano-Puerto, A., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2018). Inpatient candiduria: Etiology, susceptibility to antifungal drugs and risk factors. *Revista Española de Quimioterapia*, 31(4), 323–328. [/pmc/articles/PMC6172686/](https://pmc/articles/PMC6172686/)
- Lamoth, F., Lockhart, S. R., Berkow, E. L., & Calandra, T. (2018). Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(suppl_1), i4–i13. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx444>
- Lazo, V., Hernández, G., & Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte*

- Médico (Lima), 18(1), 75–85. <https://doi.org/10.24265/horiz-med.2018.v18n1.11>
- López-Ávila, K., Dzul-Rosado, K. R., Lugo-Caballero, C., Arias-León, J. J., & Zavala-Castro, J. E. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista Biomédica*, 27(3), 127–136. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>
- Mellado, E., Cuenca-Estrella, M., & Rodríguez-Tudela, J.L. (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 20(10), 523–530.
- Moreno, X., Reviakina, V., Panizo, M. M., Ferrara, G., García, N., Alarcón, V., Garcés, M. F., & Dolande, M. (2017). Molecular identification and in vitro antifungal susceptibility of blood isolates of the *Candida parapsilosis* species complex in Venezuela. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(3), 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.11.005>
- Muñoz del Valle, G. M. (2015). *Candida glabrata*: un patógeno emergente *Candida glabrata*: an emerging pathogen. *Biociencias*, 10(1), 89–102. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5460373&info=resumen&idioma=SPA>
- Pappas, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., & Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1–20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>
- Pereira, C. M., de Barros, N. B., & Martins, T. S. (2022). Epidemiologia, biología, resistência a antifúngicos e virulência do fungo emergente *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance and virulence of the emerging fungus *Candida auris*. *Brazilian Journal of Development*, 8(11), 74815–74825. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n11-274>
- Perurena LM, Pérez MY, Fernández ACM, Martínez MG, & Illnait MT. (2016). Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(3), 248–254. <http://scielo.sld.cu>
- Pinilla Bermúdez, G., Muñoz Molina L. C., & Navarrete Ospina, J. (2020). Biopelícula como mecanismo de resistencia en *Candida albicans*. En: *Diario de Campo: Resultados del Desarrollo de Métodos y Técnicas de Investigación* (pp. 190–330). <https://www.researchgate.net/profile/Jeanette-Vargas-Hernandez/>

publication/343843265_Una_modelacion_de_mecanismos_de_construccion_y_las_propiedades_de_los_logaritmos/links/5f6e817a92851c14bc9726a7/Una-modelacion-de-mecanismos-de-construccion-y-las-propiedades-de-los-logaritmos.pdf

- Popp, C., Ramírez-Zavala, B., Schwanfelder, S., Krüger, I., & Morschhäuser, J. (2019). Evolution of fluconazole-resistant candida albicans strains by drug-induced mating competence and parasexual recombination. *MBio*, 10(1). <https://doi.org/10.1128/mBio.02740-18>
- Quintana, S. C., Sjöstrom, P. D., Mazón Baldeón, G., Socarrás, D. A., Calderón Paz, M., Herrera Molina, A., Margarita, S., Quintana, C., Lizarzaburu, A., Upano, R., & Riobamba, E. (2017). Genoma de Candida albicans y resistencia a las drogas Genome of Candida albicans and drug resistance. *Barranquilla (Col.)*, 33(3), 438–450. <http://www.candidagenome.org/>
- Quintero, C. H. G. (2010). Resistencia de levaduras del género Candida al fluconazol. *Infectio*, 14, 172-180.
- Rivero Menéndez, O. (2019). *Estudio de la resistencia a los antifúngicos en hongos patógenos humanos*. Universidad Complutense de Madrid.
- Rodríguez, M.O. (2019). Molecular mechanisms associated with azole resistance in Candida species. *Collection of Articles on Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. 1*. https://www.scipedia.com/public/Orjuela_2019a
- Rojas, A. E., Pérez, J. E., Hernández, J. S., & Zapata, Y. (2020). Análisis cuantitativo de la expresión de genes de resistencia a fluconazol en cepas de Candida albicans aisladas al ingreso de adultos mayores a una unidad de cuidados intensivos de Manizales, Colombia. *Biomédica*, 40, 153–165.
- Tapia, C., & Batarce, C. (2017). Multidrugresistant Candida auris: “new kid on the block” in hospital-associated infections? *Revista Chilena de Infectología* 34(2), 192. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000200015>
- Torres, B. V. (2018). *Mecanismos de resistencia antifúngicos y nuevos antifúngicos en desarrollo*. Universidad Complutense.

- Whaley, S. G., Berkow, E. L., Rybak, J. M., Nishimoto, A. T., Barker, K. S., & Rogers, P. D. (2017). Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* Species. *Frontiers in Microbiology* 7(JAN), 2173. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173>
- Zurita Macalupú, S. (2018). Situation of anti-fungal resistance of species of the genus *Candida* in Peru. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(1), 126–131. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563>



Este libro se terminó de imprimir
en el mes de enero de 2025, en
Búhos Editores Ltda.

Tunja - Boyacá - Colombia