



Estudio de los mecanismos de resistencia de los principales microorganismos Gram negativos no fermentadores asociados a infecciones nosocomiales

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de grado
Bogotá D.C., 2022



Estudio de los mecanismos de resistencia de los principales microorganismos Gram
negativos no fermentadores asociados a infecciones nosocomiales

Presentado por:

Miguel Ángel Sánchez Porras

Asesora interna:

Karen Andrea Cubillos Abello MSc.

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de grado

Bogotá D.C., 2022



Estudio de los mecanismos de resistencia de los principales microorganismos Gram negativos no fermentadores asociados a infecciones nosocomiales

APROBADO: _____

JURADOS: Paola Santos Ruiz

Gladys Pinilla Bermudez

ASESORA: Karen Andrea Cubillos Abello

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de grado

Bogotá D.C., 2022

DEDICATORIA

A mi madre Luz Elena por darme la vida, la educación y el apoyo en todos los proyectos que me he propuesto. A mi padre Angel Maria por darme fortaleza y enseñarme a luchar por lo que yo quiero. A mi hermano Juan Camilo por darme siempre su apoyo en todas las metas y proyectos de mi vida, a ellos les dedico este trabajo de grado. A mis familiares especialmente a Leidy Yohana por su apoyo incondicional que me ha brindado desde que yo inicie mi vida universitaria. A mis compañeros de estudio especialmente a Maria Stefany por las experiencias universitarias que nos formaron para lograr este gran proyecto de nuestra vida.

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por darme la oportunidad de aprender de esta hermosa profesión. A mi asesora Karen Cubillos por guiarme en el proceso y ayudarme a desarrollar este trabajo .

Miguel Angel Sanchez Porras

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiar mi camino y permitirme lograr finalizar este trabajo de grado asi como tambien permitirme llegar hasta este momento tan importante para mi vida profesional

A mi Familia por acompañarme y apoyarme en los momentos más complicados de mi vida. También le agradezco a la bacteriología por enseñarme lo importante que son todas las cosas en particular las microscópicas

Gracias a todas las personas que directa e indirectamente ayudaron al desarrollo de este proyecto y en mi formación como profesional.

Miguel Angel Sanchez Porras

Lista de abreviaturas

- A. baumannii Acinetobacter baumannii
- ADC Cefalosporinas derivadas de Acinetobacter
- AMC Ácido clavulánico
- AME's Enzimas modificadoras de aminoglucósidos
- APB Ácido Borónico
- BGN Bacilos Gram Negativos
- BGNNF Bacilos Gram Negativos No Fermentadores
- BLEE's Betalactamasas de espectro extendido
- CDC Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
- CLSI Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
- CMI Concentración Mínima Inhibitoria
- D-test Dilución de doble disco
- E. coli Escherichia coli
- EDTA Ácido etilendiaminotetraacético
- MBL Metalobetalactamasas
- MDR multidrogoresistente
- OMS Organización Mundial de la Salud
- P. aeruginosa Pseudomonas aeruginosa
- PDC Cefalosporinas derivadas de P. aeruginosa
- PDR panresistente
- qPCR Quantitative polymerase chain reaction
- UCI Unidad de cuidados intensivos
- XDR extremadamente resistente

Tabla de contenido

Índice de figuras	1
Índice de Tablas	2
Índice de anexos	3
Resumen	4
Introducción	5
Objetivos	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
1. Antecedentes	8
2. Marco referencial	13
2.1 Infecciones nosocomiales	13
2.2 Pared celular de los bacilos gram negativos	14
2.3 Bacilos gram negativos no fermentadores	15
2.4 Complejo A. baumannii/calcoaceticus	16
2.4.1 Mecanismos de resistencia intrínsecos	17
2.4.1.1 Betalactamasas tipo ADC	17
2.4.1.2 Betalactamasas tipo OXA	18
2.4.1.3 Pérdida de porinas	18
2.4.1.4 Bombas de eflujo	19
2.4.2 Mecanismo de resistencia adquirido	19
2.4.2.1 Betalactamasas	20
2.4.2.2 Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)	20
2.4.2.3 Serinocarbapenemasas clase A	21
2.4.2.4 Serinocarbapenemasas clase D	21
2.4.2.5 Metalcarbapenemasas clase B	21
2.4.2.6 Enzimas modificadoras de aminoglucósidos	22
2.5 P. aeruginosa	22
2.5.1 Mecanismos de resistencia natural	23
2.5.1.1 Betalactamasas cromosómicas tipo PDC	24
2.5.1.2 Bombas de eflujo	24

2.5.1.3 Pérdida de la porinas	25
2.5.2 Mecanismos de resistencia adquiridos	25
2.5.2.1 Serinocarbapenemasas tipo A	25
2.5.2.2 Serinocarbapenemasas tipo D	26
2.5.2.3 Metalobetalactamasas tipo B	26
2.5.2.4 Betalactamasa de espectro extendido BLEE	27
2.5.2.5 Enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA)	27
2.5.2.6 Metilasas del ARNr16S	27
2.6 Métodos de identificación fenotípica de betalactamasas según el manual de la CLSI29	
2.6.1 Método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer	29
2.6.2 Test de sinergia de doble disco	30
2.6.3 Test modificado de inactivación de carbapenémicos	31
2.6.4 Carba NP	32
2.6.5 Microdilución en caldo	33
2.6.6 Técnica molecular GeneXpert Carba	34
2.6.7 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real o qPCR	35
3. Diseño metodológico	36
3.1 Tipo de investigación	36
3.2 Nivel o alcance de la investigación	36
3.3 Población objeto de muestra	36
3.4 Muestra de análisis	36
4. Resultados	38
5. Discusión	45
6. Conclusiones	51
7. Referencias bibliográficas	52

Índice de figuras

Figura 1: Estructura de pared bacteriana en las bacterias Gram negativas.	15
Figura 2: Bomba de flujo conformada por una proteína transmembranal	24
Figura 3 : Prueba de difusión en disco	30
Figura 4: Prueba de sinergia doble disco	31
Figura 5: Resultados de la prueba modificado de inactivación de carbapenémicos	32
Figura 6: Posibles resultados del prueba Carba NP	33
Figura 7: Prueba de CMI	34
Figura 8: Técnica molecular de GeneXpert Carba.	34
Figura 9: Técnica de qPCR	35
Figura 10: Diseño metodológico	37
Figura 11: Porcentaje de bacilos Gram negativos multirresistentes	39
Figura 12: Porcentaje de carbapenemasas expresadas en Colombia durante 2012-2018	40
Figura 11: Mapa de la movilidad de turista internacional en el mundo	46

Índice de Tablas

Tabla 1: Resumen de los diferentes mecanismos de resistencia natural y adquirida de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Acinetobacter baumannii</i> así como también a los antibióticos que genera resistencia.	41
Tabla 2: Pruebas complementarias para la determinación de mecanismos de resistencia para bacilos Gram negativos según el manual de la CSLI	44

Índice de anexos

Anexo 1: Clasificación de las carbapenemasas según Ambler y el de Bush-Jacoby-Medeiros con los diferentes inhibidores	61
--	----

Resumen

Las infecciones nosocomiales son causadas por una gran variedad de microorganismos que se encuentran en los ambientes hospitalarios, estos pueden ocasionar diversas patologías que ponen en riesgo la vida del paciente o alargar los periodos de hospitalización. Se ha reportado que para el año 2018 cerca del 14% de las infecciones nosocomiales en el mundo fueron asociadas a *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) un 11% y *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) 3%, así mismo se ha encontrado que estos microorganismos tienen la capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia con los cuales son capaces de resistir a variedad de los antibióticos creados para su tratamiento. La multirresistencia de estos microorganismos ha ocasionado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2017 los declaró de prioridad crítica.

En *P. aeruginosa* y *A. baumannii* se han encontrado como principales mecanismos de resistencia intrínsecos la pérdida de porinas, las bombas de eflujo y la producción de betalactamasas, siendo estas últimas, también el principal mecanismo de resistencia adquirida. Con este trabajo se pretende profundizar en los mecanismos de resistencia presentados en estos microorganismos y así mismo, dar a conocer las técnicas fenotípicas para su identificación, avaladas por el instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés).

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, CLSI, infecciones nosocomiales, multirresistencia.

Introducción

La OMS ha extendido su preocupación por el aumento en el número de microorganismos resistentes a los antibióticos. Se estima que cerca de setenta mil personas cada año mueren a causa de microorganismos multirresistentes y se prevé que para el año 2050 la resistencia bacteriana ocasione la muerte de diez millones de personas. Así mismo esta Organización menciona que este es uno de los 3 problemas más importantes que está afrontando los seres humanos debido a la cantidad de muertes ocasionadas por estas infecciones y a la dificultad de lograr tratamientos efectivos¹.

Es conocido que las cepas resistentes a diversidad de antibióticos circulan principalmente a nivel hospitalario y están relacionadas con variedad de infecciones nosocomiales. Estas infecciones constituyen una de las principales preocupaciones de la salud pública, debido a su difícil control y a las limitadas opciones terapéuticas encontradas para su tratamiento². Se ha encontrado que en el mundo para el año 2020 alrededor de 1.4 millones de personas en el mundo contraen infecciones nosocomiales, siendo las infecciones asociadas al ventilador mecánico y catéter las más frecuentes y a su vez los microorganismos Gram negativos los más comunes en estas infecciones³.

De acuerdo con el informe de resultados de la vigilancia realizado por el laboratorio de resistencia antimicrobiana en infecciones asociadas a la atención en salud presentado por el Instituto Nacional de Salud de Colombia en el 2018, los principales bacilos Gram negativos (BGN) asociados a infecciones nosocomiales son: *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterobacter spp*².

A. baumannii y *P. aeruginosa* son los microorganismos que con mayor frecuencia se asocian con infecciones nosocomiales en gran medida por sus características de resistencia a los desinfectantes, duración en los entornos, facilidad de formar biopelículas y resistencia natural y adquirida a los antimicrobianos usados para su tratamiento, estos microorganismos a su vez se asocian principalmente a infecciones de ventilador ocasionando infecciones de tracto respiratorio superior e inferior y a catéter ocasionando infecciones de tracto urinario o en algunos casos bacteriemias por lo cual su importancia en este estudio.

Por otro lado *A. baumannii* y *P. aeruginosa* son una pareja de microorganismos pertenecientes al grupo ESKAPE consideradas como un problema en la salud pública debido a su facilidad para convertirse en multirresistentes (MDR), extremadamente resistentes (XDR) o en el peor de los casos panresistentes (PDR). Con este estudio se pretende profundizar en las investigaciones realizadas sobre los mecanismos de

resistencia de los principales microorganismos gram negativos no fermentadores, asociados a infecciones nosocomiales mediante la revisión de diferentes estudios a nivel nacional y a nivel mundial; así como también por medio del manual del CLSI identificar cuáles son los mejores métodos para la determinación de los mecanismos de resistencia, con el fin de desarrollar un documento actualizado que sirva como guía para la identificación de estos mecanismos.

Este trabajo se va a realizar utilizando diferentes bases de datos a nivel mundial en la cuales describen los diferentes mecanismos de resistencia de los bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) así como también la distribución y la frecuencia en los institutos prestadores de salud; así mismo con este trabajo se busca recoger información actualizada sobre los mecanismos de resistencia y a su vez que pueda ser aplicada como una guía práctica para la clínica.

Objetivos

Objetivo general

Describir los mecanismos de resistencia antimicrobianos de los principales bacilos Gram negativos no fermentadores asociada con infecciones nosocomiales.

Objetivos específicos

Diferenciar los mecanismos de resistencia naturales y adquiridos de las principales bacterias gram negativas no fermentadoras asociadas con infecciones nosocomiales.

Describir las técnicas fenotípicas para el diagnóstico de resistencia bacteriana según el manual CLSI.

1. Antecedentes

Miltgen et al junto con el centro para el control de enfermedades de Atlanta (CDC por sus siglas en inglés) definen la infección nosocomial como la infección que se desarrolla después del tercer día de ingreso al hospital o tres días después de salir de hospitalización. La incidencia de estas infecciones son muy variadas, fluctuando entre 4,5% a 23,5% y se ven relacionadas a la situación económica y la infraestructura hospitalaria de cada país³. Leonardo et al en el 2000 mencionan que la prevalencia de infecciones nosocomiales en América latina es de 21.3% dentro de los cuales el 72.3% están asociadas a BGN principalmente, *E coli*, *A baumannii*, *P. aeruginosa* y *Klebsiella spp*⁴.

Barie et al en el 2010 describió que en Estados Unidos desde el año 1986 se creó el sistema de Vigilancia Nacional de Infecciones Nosocomiales, esto, en respuesta al aumento de los casos de infecciones a nivel hospitalario, como neumonía, infección de heridas quirúrgicas, infección del tracto urinario e infección del torrente sanguíneo en los pacientes internados en la Unidad de Cuidados intensivos (UCI). Gracias a este sistema de vigilancia, se identificaron: *Enterobacter spp*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* como los microorganismos más frecuentemente implicados en las infecciones nosocomiales⁵. Así mismo, la investigación realizada por Ávila et al en el 2021 concuerda con estos datos reportados; el 31% de 762 pacientes hospitalizados

desde el 2010 hasta el 2018 en el *University Teaching Hospital* desarrollaron infecciones principalmente en heridas quirúrgicas por *K. pneumoniae* y *A. Baumannii* multirresistentes, por lo cual el autor recalca no sólo el riesgo para la sobrevivencia de los pacientes por presentar infecciones con estos microorganismos, sino que además el incremento en los costos por tiempos prolongados en los centros de salud⁶. Así mismo, en el estudio realizado en el 2019 por Mamishi et al observaron que en el hospital pediátrico Clínica Children's Medical Center de Teherán, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *A. baumannii* son los principales responsables de las infecciones intrahospitalarias y detectaron diferentes mecanismos de resistencia que les confiere resistencia a diversos antibióticos como la piperacilina (PRL), Imipenem (IMP), Meropenem (MEM), Gentamicina (CN) y Amikacina (AK). Como conclusión recalcan que las infecciones nosocomiales por *K. pneumoniae* y *A. baumannii* cobran cada vez más importancia a nivel hospitalario, debido a la gran facilidad que tienen para adaptarse y adquirir mecanismos de resistencia a los diversos antibióticos usados para su tratamiento⁷.

En el estudio realizado por HU et al en el 2010 encontraron que un 16% de *P. aeruginosa* aisladas en los hospitales de India presentaban resistencia frente a las cefalosporinas de tercera generación mediada por las metalobetalactamasas (MBL) tipo VIM y así mismo que los pacientes diabéticos eran más propensos a infecciones por este microorganismo⁸. En concordancia con esta investigación Suarez et al en el 2010 encontró que la presión selectiva de las cepas resistentes de *P. aeruginosa* se debe en gran medida a la mala administración y el mal uso de los antibióticos así, como también a la facilidad de este

microorganismo para adaptar nuevos mecanismos de resistencia transferidos a través de plásmidos⁹.

En las investigaciones realizadas por Pang et al en el año 2019, y por Tobío et al en el 2020 mencionan que, los principales mecanismos de resistencia intrínsecos en *P. aeruginosa*; son, cambios en la permeabilidad en la membrana, con lo cual evita el paso del fármaco al interior de la célula; el desarrollo de bombas de eflujo con las cuales atrapa al antibiótico y lo expulsa de la célula antes de alcanzar su blanco; y por último la presencia de betalactamasas de tipo AmpC inducibles, las cuales se expresan inducidas por los antibióticos betalactámicos^{10,11}.

Por otro lado, Gaete et al en el 2021 y Asif en el 2018 explican que *P. aeruginosa* adicionalmente, tiene mecanismos de resistencia adquiridos, como lo son los genes que codifican para las betalactamasas tipo penicilinasas, betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), carbapenemasas (tipo serin A: PER-1, VEB-1, CTX-M, TEM, SHV y clase D OXA 23,24 y 58), así como también las carbapenemasas de tipo MBL (IMP, SIM, VIM). Debido a estos mecanismos de resistencia la OMS en el 2017 clasificó a *P. aeruginosa* como un microorganismo de prioridad crítica^{12,13}.

Ribeiro et al en el 2019 analizaron la relación de los microorganismos presentes en diferentes insumos médicos y elementos personales de trabajadores con la incidencia de infecciones nosocomiales; encontraron con mayor frecuencia los géneros *Bacillus spp* , *Staphylococcus spp* y *Pseudomonas spp.*, aislados principalmente de computadores y de los teléfonos móviles del personal; estos hallazgos sugieren que los elementos personales ubicados dentro de las UCI sirven como reservorios para microorganismos que causan infecciones en los pacientes. Adicionalmente, se menciona que la prevalencia de infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp* y *Bacillus spp* es de 25, 40 y 12 %, respectivamente en los principales hospitales de brasil¹⁴.

En el estudio realizado por Li et al en el 2021 encontraron la presencia de diferentes carbapenemasas de tipo OXA-23 y por primera vez OXA-40 y SIM-1 en aislados de *A. baumannii* sudafricana. El único antibiótico que presentó susceptibilidad entre los aislamientos del estudio fue colistina, y resistencia a antibióticos como; ceftazidima, cefepima, piperacilina+tazobactam, imipenem y meropenem¹⁵.

Harding et al en el 2016 identificó que *Acinetobacter baumannii* puede durar hasta cien días en las superficies inertes debido a los diferentes mecanismos que expresa para resistir a la desinfección, desecación y al estrés oxidativo. Los autores sugieren que estos procesos de resistencia pueden estar mediados por la creación de biofilms, lo cual además de conferir la resistencia les permite entrar en un periodo de “latencia” disminuyendo su

metabolismo y manteniéndose con vida un mayor periodo de tiempo¹⁶. En concordancia con este estudio Cendra et al en el 2021 mencionan que las betalactamasas, más la formación de biopelículas dificultan el tratamiento de infecciones causadas por este microorganismo. Así mismo, cuando el fenotipo mucoide de *Acinetobacter baumannii* se asocia con otros microorganismos producen sustancias como el alginato que junto con las biopelículas dificultan la acción del sistema inmunológico y de los antibióticos¹⁷.

2. Marco referencial

2.1 Infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales son las infecciones contraídas por un paciente durante el tiempo que permanece en el hospital y que se desarrollan 72 horas después del ingreso hospitalario, tres días después de salir de alta o bien dentro de los 30 primeros días después de una intervención quirúrgica^{18,19,20}. Se estima que en el 2016 cerca del 14% de las infecciones nosocomiales se desarrollan a causa de los bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF) de los cuales los de mayor importancia médica son *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, debido a su alta tasa de resistencia frente a antibióticos^{21,22}.

Las infecciones nosocomiales constituyen un riesgo frecuente en la salud de los pacientes internados en los centros hospitalarios así como también un riesgo en la salud pública. Según los estudios realizados por la OMS en el 2010 se estimaba que entre un 5 a 16% de los pacientes hospitalizados en los países desarrollados adquieren alguna infección y en los países escasos recursos esta tasa puede aumentar de 2 a 20 veces.^{23,24,25}

La forma de transmisión de los microorganismos implicados en infecciones nosocomiales puede ser de manera directa (por contacto con las personas infectadas) o de forma indirecta (por medio de equipos e instrumentos médicos)^{22,33,54,65}. Factores importantes

que favorecen el desarrollo de estas infecciones son: el compromiso inmunológico del paciente y la gravedad de la lesión o enfermedad. Este problema ocasiona que aumenten los costos por el tratamiento y, por el aumento en la estadía de los pacientes en los centros de salud^{2,7}. Las infecciones nosocomiales son causadas principalmente por bacterias, seguido por virus y en menor frecuencia por hongos.

2.2 Pared celular de los bacilos gram negativos

La pared celular de los gram negativos tienen un diámetro de 0.3 a 1.5 μm y tiene una estructura multilaminar: conformada por una membrana plasmática, una membrana externa y en el medio de las dos se encuentra el espacio periplásmico en el cual se pueden encontrar diferentes proteínas implicadas en el transporte de sustancias al interior de la célula. En la parte externa de la célula se encuentra una bicapa lipídica que contiene fosfolípidos y proteínas que la unen a la fina capa de peptidoglicano, el cual le da la característica de gram negativo al tener solo un 10%, en comparación con un 90% que contienen los gram positivos^{2,28} (Figura 1).

El peptidoglicano está constituido por unidades repetidas monoméricas formadas por dos derivados de carbohidratos, N-acetilGlucosamina y N-acetilMurámico, el cual puede llegar a tener un espesor de aproximadamente de 0,140 μm y 0,510 μm .³⁰ Los polisacáridos O se encuentran en la región hidrofílica de la membrana externa y sus variaciones son las responsables de la especificidad del antígeno somático O y la virulencia^{12,31}.

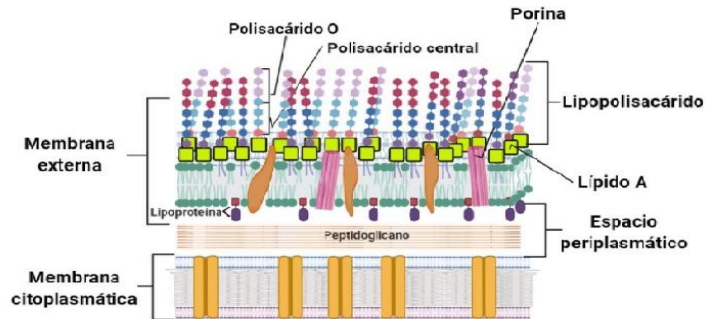


Figura 1: Estructura de pared bacteriana en las bacterias Gram negativas: Tomada de²⁹

Adicionalmente, para el transporte de moléculas al interior de la célula bacteriana, los microorganismos pueden usar proteínas transmembrana específicas o inespecíficas, denominadas porinas. Las porinas específicas solo van a permitir el paso selectivo de sustancias que cuenten con el tipo de unión característico, mientras que aquellas específicas van a permitir el paso de diferentes sustancias sin selección^{32,33}.

2.3 Bacilos gram negativos no fermentadores

Los bacilos Gram negativos no fermentadores son un conjunto de microorganismos no capaces de fermentar los hidratos de carbono, entre ellos la lactosa, glucosa, sacarosa entre otros. Generalmente estos microorganismos pueden ser aerobios estrictos o aerobios facultativos, abundan en la naturales como en el suelo o el agua. Algunas de estas especies pueden ser patógenos oportunistas o causar infecciones graves en especial en pacientes inmunosuprimidos. Los más importantes en las infecciones nosocomiales son: *P. aeruginosa*, y *A. baumannii*,³⁴.

2.4 Complejo *A. baumannii/calcoaceticus*

El complejo *A. baumannii/calcoaceticus* está compuesto por bacilos cortos o cocobacilos para algunos autores Gram negativos, no móviles, aerobios o anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia Moraxellaceae, involucrado frecuentemente en las infecciones intrahospitalarias^{14,35,36}. Viene de la palabra “Acinetobacter” que es una negación, “kinetos” que significa móvil, y “bakter” significa “bacilo”. por lo cual es un grupo de bacterias inmóviles con morfología bacilar³⁷. El complejo *A. baumannii/ calcoaceticus*, está conformado por un grupo de cuatro especies indiferenciables por métodos fenotípicos, las cuales son: *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* (comúnmente encontradas en las infecciones nosocomiales^{12,20}).

El complejo *A. baumannii-calcoaceticus* dentro de su cromosoma presenta un elemento denominado “isla de resistencia” lo cual le permite almacenar genes y expresarlos de manera rápida cuando están en contacto con antibióticos. Además contiene una gran selección de proteínas de membrana externa tipo (OmpA) involucradas en el ciclo y metabolismo celular, las cuales se expresan en la fase de latencia del microorganismo contribuyendo a la mayor persistencia en superficies inertes^{30,40}. Este microorganismo se ha reportado como multirresistente y panresistente. Los que tienen multirresistencia, son resistentes al menos a un agente antimicrobiano de al menos tres categorías de antimicrobianos, así mismo pueden estos microorganismos presentar panresistencia cuando son resistentes a todos los agentes antimicrobianos utilizados para su tratamiento^{40,41}.

2.4.1 Mecanismos de resistencia intrínsecos

Los mecanismos de resistencia natural o intrínsecos están asociados a genes cromosomales. Estos mecanismos son: betalactamasas cromosómicas tipo ADC, betalactamasas tipo OXA (51/69), pérdida de porinas, y sobreexpresión de bombas de eflujo^{42,43,44}.

2.4.1.1 Betalactamasas tipo ADC

Las Betalactamasas son el mecanismo de resistencia enzimática del *complejo A. baumannii/calcoaceticus* en el cual este microorganismo utiliza una serie de enzimas que le permiten destruir el anillo betalactámico de antimicrobianos como los betalactámicos, monobactámicos y carbapenémicos.

Las cefalosporinas derivadas de *Acinetobacter* (ADC por sus siglas en inglés), son las enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico de algunos grupos de antibióticos^{1,18}. La expresión basal de las betalactamasas de tipo ADC confiere resistencia a los primeros dos grupos de cefalosporinas y a las penicilinas. Así mismo, es frecuente encontrar aumentada la expresión de estas betalactamasas cuando hay presencia de secuencias de inserción o genes saltarines que se comportan como promotores fuertes favoreciendo la transcripción del gen. “Insertion sequence *Acinetobacter baumannii* 1” o ISAbal genera la sobre expresión de ADC lo cual confiere resistencia frente a

antibióticos como cefalotina, piperacilina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam. Se estima que más del 49.9% de las cepas de *Acinetobacter baumannii* son hiperproductoras de ADC^{1,41}.

2.4.1.2 Betalactamasas tipo OXA

Las oxacilinasas son un grupo de carbapenemasas que se encuentran de forma natural en *Acinetobacter baumannii* y se encargan de generar resistencia a las penicilinas y a los carbapenémicos, está mediada por la secuencia de inserción ISAba1 y los genotipos más comunes en este grupo son la OXA 51 y la 69. Aunque no son las únicas, dado que la expresión de otras betalactamasas tipo OXA como 23, 24/ 40, entre otras, pueden ser transmitidas a través de plásmidos, sin requerir secuencias de inserción.^{25,47,48}

2.4.1.3 Pérdida de porinas

Las porinas son estructuras específicas de las bacterias gramnegativas que tienen la función de permitir el paso de diferentes sustancias a través de la membrana. Estas estructuras son utilizadas por algunos antibióticos, como los aminoglucósidos, los betalactámicos, las fluoroquinolonas y las tetraciclinas. Las bacterias como mecanismo de resistencia, mutan estas estructuras lo cual limita el acceso del antibiótico a los sitios diana intracelulares. Las más importantes en el complejo *A. baumannii/calcoaceticus* son OprC y OprE que le confieren resistencia principalmente a las quinolonas. Las OprC son porinas específicas que permiten el paso de aminoácidos, péptidos pequeños y a los

carbapenémicos y la porina OprE es muy inespecífica y permite el paso de todas las moléculas pequeñas^{49,50,51}.

2.4.1.4 Bombas de eflujo

Este mecanismo de resistencia se caracteriza por sacar del interior de las células los antibióticos por medio de proteínas de membrana encargadas del transporte de distintos compuestos. Se estiman que actualmente hay más de 60 diferentes tipos de bombas de eflujo, clasificadas en 6 familias^{47,52,53}, las más importantes y consideradas como mecanismos de resistencia son: la familia de resistencia-nodulación-división celular RND, la familia de resistencia a múltiples fármacos tipo SMR y la Familia de casete de unión al ATP ABC las cuales les confieren resistencia principalmente a cefalosporinas, carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas^{47,54}.

2.4.2 Mecanismo de resistencia adquirido

Son aquellos mecanismos que desarrolla el microorganismo cuando está en contacto con diferentes antimicrobianos para los cuales no tenía resistencia natural; estos mecanismos están dados por mutación puntuales en el cromosoma o por plásmidos transferidos de otras bacterias^{30,31}. Las estructuras más características que confieren resistencia al complejo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* son las islas de resistencia “AbaR1” la cual está conformada por 86 Kb y 45 genes de resistencia, de este grupo las más importantes son las que les permite producir las b-lactamasas tipo VEB-1, AmpC,

OXA-10, y la sobreexpresión de bombas de flujo. Debido a estas estructuras de resistencia, este complejo conforma uno de los grupos bacterianos más peligrosos, a causa de la facilidad de expresar multiresistencia o panresistencia^{10,15}.

2.4.2.1 Betalactamasas

Son un grupo de enzimas capaces de hidrolizar los betalactámicos ocasionando la pérdida de la acción antimicrobiana del mismo, estas tiene diferentes clasificaciones de las cuales las más utilizadas son las de Ambler y el de Bush-Jacoby-Medeiros (Anexo 1). La clasificación de Ambler divide las betalactamasas según su similitud y características en los aminoácidos sin tener en cuenta las características fenotípicas por lo cual se clasifican en 4 grupos las tipo serinocarbenemasas clase A y D, las metalo beta lactamasa clase B y las tipo AmpC sobreexpresado tipo C. Así mismo la clasificación de Bush-Jacoby tiene en cuenta otros parámetros como: la similitud funcional y las características de inhibitorias o de resistencia a los inhibidores⁵⁵.

2.4.2.2 Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las betalactamasas de espectro extendido son enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico y generar resistencia frente a las penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación^{2,56}.

2.4.2.3 Serinocarbapenemasas clase A

Las serinocarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo con residuo de serina que les permite hidrolizar los anillos betalactámicos. Este grupo de carbapenemasas pertenecen a la clase A de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo1). Ocasionan resistencia al grupo de antibióticos que contienen anillos betalactámicos en su estructura^{57,58}.

2.4.2.4 Serinocarbapenemasas clase D

Las serinocarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo con residuo de serina que les permite hidrolizar los anillos betalactámicos. Este grupo de carbapenemasas pertenecen a la clase A de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo1). Ocasionan resistencia al grupo de antibióticos que contienen anillos betalactámicos en su estructura, entre estos se encuentran las oxacilinas y otros antibióticos de alto espectro como las cefalosporinas de primera, segunda, tercera y en algunos casos hasta de cuarta generación^{59,60}.

2.4.2.5 Metalcarbapenemasas clase B

Las metalcarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo tiene 2 iones de zinc que le permite hidrolizar el anillo betalactámico. Este

grupo de carbapenemasas pertenecen a la clase B de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo 1). Son de gran importancia clínica debido a que este grupo de carbapenemasas son capaces de hidrolizar la mayoría de los betalactámicos a excepción de los monobactámicos como el aztreonam por lo cual es una de las pocas opciones para el tratamiento de estos pacientes infectados.

2.4.2.6 Enzimas modificadoras de aminoglucósidos

Las enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AMES por sus siglas en inglés) son el mecanismo por el cual este microorganismo presenta resistencia a aminoglucósidos ya que el *complejo A. baumannii/calcoaceticus* lo posee. Estas enzimas pueden ser clasificadas como: transacetilasa que se encargan de transferir grupos acetilo, adeniltransferasas y fosfotransferasas encargadas de catalizar reacciones de fosforilación. La función de estas enzimas son modificar los grupos amino e hidroxilo de los aminoglucósidos ocasionando la pérdida de la afinidad del antibiótico frente a la subunidad 30S del ribosoma de la bacteria^{61,62,63}.

2.5 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa es un bacilo gram negativo encapsulado móvil, no fermentador, perteneciente a la familia Pseudomonadaceae comúnmente encontrado en las infecciones intrahospitalarias, se caracteriza por crecer mejor en aerobiosis. Etimológicamente

“*Pseudomonas*” significa “falsa unidad”, y “monas” “una sola unidad”. este nombre fue inicialmente en la bacteriología como sinónimo de germen y “aeruginosa” que significa “color de cobre oxidado”; reflejando así su color característico azul verdoso al producir pigmentos fluorescentes como la pioverdina, piocianina y en menor frecuencia la piorrubina y la piomelanina^{64,65,66}.

En relación a la morfología de las colonias puede variar, dependiendo de los medios utilizados para su crecimiento y los pigmentación que desarrollen, se encuentran algunas colonias mucoides y brillo metálico, debido a sus pigmentos^{67,68,69}. *P. aeruginosa* posee un flagelo polar y pili en la superficie celular, así mismo algunas cepas tienen genes para la producción de cápsulas exo polisacárida que les confieren ventajas de resistencia frente a otros microorganismos que no las poseen^{70,71,72}.

2.5.1 Mecanismos de resistencia natural

P. aeruginosa es un microorganismo que cuenta con diversos mecanismos de resistencia natural que le permiten resistir a una gran variedad de antibióticos. Dentro de los mecanismos de resistencia natural más comunes para este microorganismo se encuentran: las betalactamasas cromosómicas tipo PDC (Pseudomonas derived cefalosporinase), las bombas de eflujo y la impermeabilidad de la membrana celular^{70,71,72}.

2.5.1.1 Betalactamasas cromosómicas tipo PDC

Las cefalosporinas derivadas de *P. aeruginosa* (PDC por sus siglas en inglés), son uno de los mecanismos de resistencia a los β -lactámicos más frecuentes en este microorganismo desarrollado de forma natural por este microorganismo. Este mecanismo le confiere resistencia natural a la primera y segunda generación de cefalosporinas o a una gran parte de los antibióticos que tienen anillos betalactámicos en su estructura ^{2,21}.

2.5.1.2 Bombas de flujo

Este mecanismo de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por sacar del interior de las células los antibióticos. Está formada por tres componentes: una proteína transmembranal (Omf), una proteína en el espacio periplásmico (Mfp) y una proteína citoplasmática (Rmd), este mecanismo le confiere resistencia principalmente a ceftazidime, carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas^{49,50} (Figura 2).

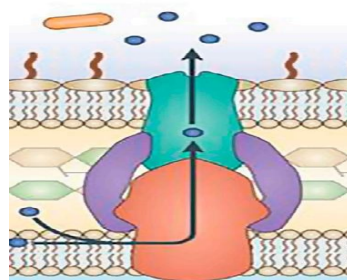


Figura 2: Bomba de flujo conformada por una proteína transmembranal (color verde), una proteína en el espacio periplásmico (color morado) y una proteína citoplasmática (color rojo). Tomada y modificada de⁷³

2.5.1.3 Pérdida de la porinas

Las porinas son proteínas de membrana que permiten el ingreso de diferentes sustancias al interior de la célula. Cuando la bacteria no expresa alguna de estas proteínas se vuelve resistente frente a los antibióticos que ingresan a través de ellas. Las porinas más importantes en *Pseudomonas aeruginosas* son Oprf, OprM, OprD y OprO^{50,53}, las cuales le confieren resistencia principalmente a los carbapenémicos y quinolonas.

2.5.2 Mecanismos de resistencia adquiridos

2.5.2.1 Serinocarbapenemasas tipo A

Las serinocarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo con residuo de serina que les permite hidrolizar los anillos betalactámicos. Este grupo de carbapenemasas pertenecen a la clase A de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo1). Ocasionan resistencia al grupo de antibióticos que contienen anillos betalactámicos en su estructura, entre estos se encuentran las oxacilinas y otros antibióticos de alto espectro como las cefalosporinas de primera, segunda, tercera y en algunos casos hasta de cuarta generación^{59,60}.

2.5.2.2 Serinocarbapenemasas tipo D

Las serinocarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo con residuo de serina que les permite hidrolizar los anillos betalactámicos. Este grupo de carbapenemasas pertenecen a la clase A de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo 1). Ocasionalmente ocasionan resistencia al grupo de antibióticos que contienen anillos betalactámicos en su estructura, entre estos se encuentran las oxacilinas y otros antibióticos de alto espectro como las cefalosporinas de primera, segunda, tercera y en algunos casos hasta de cuarta generación^{59,60}.

2.5.2.3 Metalobetalactamasas tipo B

Las metalocarbapenemasas son un grupo de carbapenemasas monoméricas que contienen un sitio activo que tiene 2 iones de zinc que le permite hidrolizar el anillo betalactámico. Este grupo de carbapenemasas son dependientes de zinc, pertenecen a la clase B de Ambler, y al grupo 2 de la clasificación de Bush (anexo 1). Son de gran importancia clínica debido a que este grupo de carbapenemasas son capaces de hidrolizar la mayoría de los betalactámicos a excepción de los monobactámicos como el aztreonam por lo cual es una de las pocas opciones para su tratamiento, cuando se detectan estas carbapenemasas los pacientes deben ser aislados debido al riesgo de transferencia de estas carbapenemasas a otros microorganismos susceptibles^{15,32,83}.

2.5.2.4 Betalactamasa de espectro extendido BLEE

Las BLEE son enzimas capaces de crear resistencia frente a las penicilinas, cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos^{18,25,47,81}. De este grupo las más estudiadas en *P. aeruginosa* son: TEM, SHV, PER, VEB, GES/IBC. Estas les confieren resistencia a las tres primeras generaciones de cefalosporinas, monobactámicos y a las penicilinas de espectro extendido^{76,78,80}.

2.5.2.5 Enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMA)

Las EMA son un grupo de enzimas que se encargan de unir grupos metilo, fosfato o adenilo con el cual impiden que los aminoglucósidos actúen sobre la subunidad 30S del ribosoma, por lo cual pierden su función permitiendo que la bacteria se siga produciendo las proteínas que necesitan para crecer y multiplicarse. Dentro de los genes más comunes relacionados con la resistencia a la gentamicina se encuentra el gen de las betalactamasas bla TEM-21⁴⁵.

2.5.2.6 Metilasas del ARNr16S

Las metilasas del ARNr16S son un grupo de enzimas basadas en la modificación del sitio diana impidiendo la acción de los aminoglucósidos. Las cepas productoras de este tipo de metilasas generalmente son multirresistentes, difíciles de tratar o panresistentes en

algunos casos aislados, su estrategia consiste en modificar sus ribosomas mediante una metilación específica en la diana situada en el ARNr 16S confiriéndoles de esta manera altos niveles de resistencia a los aminoglucósidos. En *P. aeruginosas* se han aislado una decena de metilasas de ARNr16S de importancia clínica.^{74,75,76.}

2.6 Métodos de identificación fenotípica de betalactamasas según el manual de la CLSI

La CLSI es una organización sin ánimo de lucro financiada por el gobierno de Estados Unidos y posteriormente financiada por organizaciones privadas, elabora estándares de calidad para mejorar las prácticas en los laboratorio clínico. Estos documentos son elaborados en conjunto con las partes involucradas: usuarios, fabricantes, universidades, institutos y entes reguladores de diferentes partes del mundo, creando documentos estándar que se aplican a todos los países pertenecientes a las américas.

2.6.1 Método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer

El método de difusión en disco es un método cualitativo, que sirve para el tamizaje de sensibilidad o resistencia de cepas en estudio. Consiste en inocular en un agar Mueller Hinton (MH) a los microorganismos problema y posteriormente depositar en la superficie de una placa con sensidiscos impregnados con diferentes antibióticos. Tan pronto los sensidisco impregnado con los antibióticos se pone en contacto con la superficie del agar húmedo, absorbe agua y el antibiótico se difunde por el agar, formando un gradiente de concentración. Pasadas de 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano (Figura 3). La interpretación de los halos de inhibición se realizará de acuerdo a los umbrales establecidos en el manual del CLSI vigente^{77,78}.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se valora e interpreta la resistencia de un microorganismo frente a un antibiótico; sin embargo es a través de métodos fenotípicos y genéticos que se determina los diferentes mecanismos de resistencia presente⁷⁹. Aun así, el método de difusión en disco no es la técnica de referencia para detectar los mecanismos de resistencia debido a diferentes variables como el tipo de microorganismo a analizar, la calidad de los agares, la calidad de los sensidiscos, la calidad de los inóculos entre otros, por lo cual solo se debe usar como un método cualitativo orientado al tratamiento. En caso de ser necesario determinar los mecanismos de resistencia se debe usar la técnica de microdilución en caldo la cual presenta buenos resultados⁸⁰.

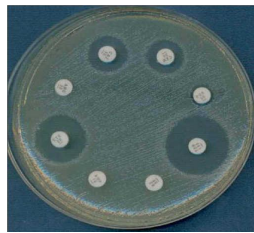


Figura 3: Prueba de difusión en disco, los halos de inhibición (espacios transparentes en el medio) indican la capacidad del antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano. Tomada de:⁸¹

2.6.2 Test de sinergia de doble disco

El test de difusión de doble disco (D-test), consiste en colocar en un agar mueller hinton previamente inoculado con una concentración del inóculo de 0.5 en la escala de mcfarland, un disco de un inhibidor y un antibiótico sustrato. Dentro de los inhibidores se

encuentran el ácido clavulánico, EDTA y el ácido borónico. El EDTA se utiliza para la detección de metalobetalactamasas clase B, el ácido clavulánico para la detección de BLEE y el ácido borónico para la detección de serincarbapenemasas clase A.

Para este test se ubican los discos a una distancia de 10-15 mm, se incuba a 37°C por 18 a 24 horas. Transcurrido ese tiempo se evalúa la sinergia entre los antibióticos y los inhibidores (Figura 4). Este test tiene una sensibilidad aproximadamente del 80%. No todas las carbapenemasas presentan inhibidores (carbapenemasas tipo OXA), así mismo, los resultados son dependientes del grado de hidrólisis de la enzima, de la potencia y la calidad de los discos, de los inhibidores y la distancia a la cual se colocan estos discos respecto el uno al otro.

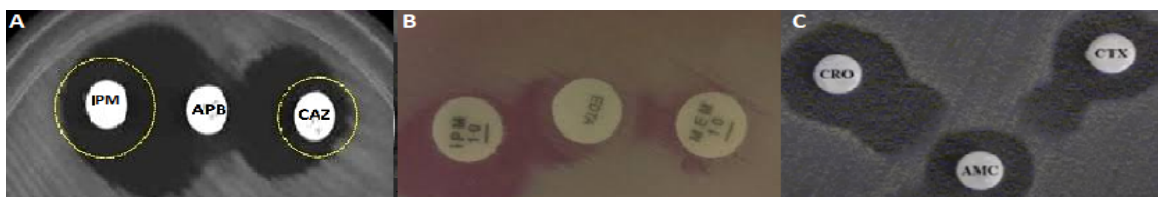


Figura 4: Prueba de sinergia doble disco. (A) prueba positiva presuntiva para carbapenemasas tipo A. (B) prueba positiva para metalobetalactamasas. (C) prueba positiva para betalactamasas de espectro extendido. IPM imipenem, CAZ ceftazidima, APB ácido Borónico, CRO ceftriaxona, CTX cefotaxima, AMC ácido clavulánico, EDTA ácido etilendiaminotetraacético, y MEM meropenem. Tomada de:⁸²

2.6.3 Test modificado de inactivación de carbapenémicos

Esta prueba consiste en la degradación del meropenem debido a la degradación o hidrólisis causada por el microorganismo problema debido a la producción de carbapenemasa. la técnica consiste en poner un disco de meropenem en una suspensión

del microorganismo problema, luego sacamos el disco de la suspensión y lo enfrentamos con una cepa susceptible a los carbapenémicos^{30,47}. En caso de que la carbapenemasa no esté presente, el meropenem no será hidrolizado y podrá inhibir el crecimiento de la cepa, pero en caso de que la carbapenemasa esté presente, el meropenem será hidrolizado y habrá inhibición del crecimiento de la cepa *E.coli* ATCC 25922(Figura 5). Este método demostró una sensibilidad mayor al 97% y una especificidad del 100% para la detección de KPC, NDM, VIM, IMP, IMI, SPM, y carbapenemasas tipo OXA en *P. aeruginosa* pero en el caso de *Acinetobacter spp.*, mostró poca especificidad y baja reproducibilidad, por lo cual no se recomienda para *A. baumannii*.

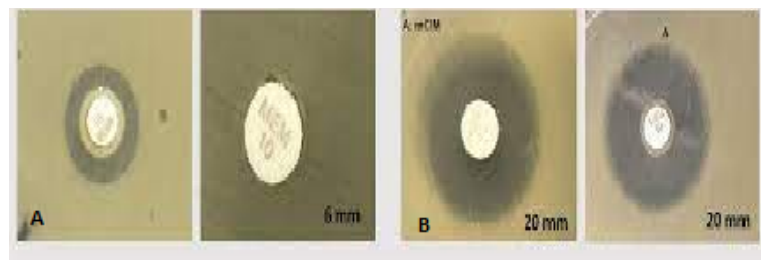


Figura 5: Resultados de la prueba modificada de inactivación de carbapenémicos. (A) prueba positiva para carbapenémicos. La cepa control sensible (*E.coli* ATCC 25922) se muestra como resistente por la hidrólisis del carbapenémico en el disco (B) Prueba negativo para carbapenémicos. La cepa control sensible (*E.coli* ATCC 25922) se muestra sensible al carbapenémico por ausencia de su hidrólisis. Tomado y modificado de:⁸³

2.6.4 Carba NP

La prueba de Carba NP es una prueba basada en el viraje del color del medio utilizado, a su vez es una prueba de detección rápida aproximada de 2 h para la detección de carbapenemasas en BG. Está basado en la hidrólisis de imipenem a causa de la ruptura de los anillos betalactámicos del antibiotico, lo que es detectado por un cambio de pH, esat

tecnica usa el rojo de fenol que al acidificarse vira a amarillo (Figura 6). La lectura de la prueba se hace observando el cambio de color con relación al control negativo. Cuando el medio vira a rojo la prueba es negativa, pero cuando el medio vira a amarillo la prueba es positiva para la producción de carbapenemasas⁸⁵.

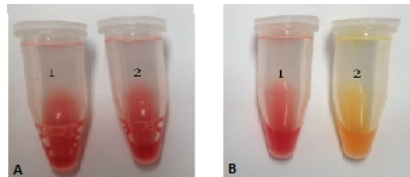


Figura 6: Posibles resultados de la prueba Carba NP, (A) prueba negativa, esto debido a que el microorganismo no hidrolizan el antibiótico por lo cual el medio no viro de color, (B) Prueba positivo, en este se observa un cambio de color rojo a amarillo en uno de los viales debido a la hidrolisis del antibiotico Tomado y modificado de:⁸⁴

2.6.5 Microdilución en caldo

El test de microdilución en caldo es una técnica cuantitativa que permite identificar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la presencia de resistencia de los microorganismos estudiados frente a diferentes antibióticos. Para ello se elaboran diferentes diluciones del antibiótico (Figura 7). La CMI es la concentración más baja de un antimicrobiano, que logra inhibir el crecimiento visible de un microorganismo. Esta es la técnica más recomendada por la CLSI ya que permite determinar de forma específica la concentración mínima del antibiótico que se necesita para inhibir el crecimiento del microorganismo y de esa manera determinar si es resistente, intermedio o susceptible.

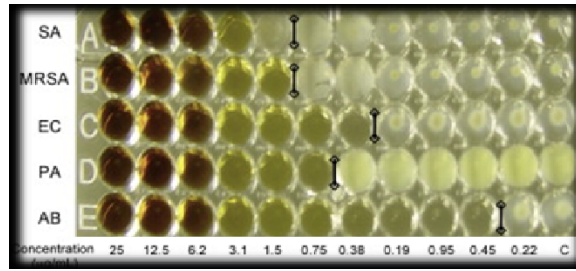


Figura 7: Prueba de CMI con la técnica de microdilución. (A) *Staphylococcus aureus* CMI 1.5. (B) *Staphylococcus aureus* meticilino resistente CMI 1.5. (C) *Escherichia coli* CMI 0.38. (D) *Pseudomonas aeruginosa* CMI 0.75. y (E) *Acinetobacter baumannii* CMI 0.45. Tomada y modificada de:⁸⁵

2.6.6 Técnica molecular GeneXpert Carba

Este prueba de biología molecular permite identificar los genes de resistencia bla_{KPC} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} , bla_{IMP-1} y bla_{NDM} presentes en las muestras analizadas, este método está constituido por un cartucho desechable en cuyo interior se encuentran todos los componentes para el desarrollo de la PCR en tiempo real⁵⁶ (Figura 8). Con esta metodología se obtienen resultados aproximadamente en 48 minutos lo cual la convierte en una técnica rápida para la detección de mecanismos de resistencia, así mismo la metodología que permite utilizar muestras directas o muestras de cultivos.



Figura 8: Técnica molecular de GeneXpert Carba. (1) solución buffer y muestra, (2) cassette del test GeneXpert Carba (3) equipo de biología molecular GeneXpert Carba (4) panel de resultados de la prueba mostrando positividad mediante fluorescencia, lo cual indica la amplificación del gen que confiere la resistencia Tomada de:⁸⁶

2.6.7 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real o qPCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente^{81,82}. En el caso de la qPCR esta técnica utiliza unos reporteros fluorescentes en cada ciclo lo cual permite cuantificar la presencia de una secuencia específica sin necesidad de utilizar geles de agarosa para saber si la reacción fue exitosa^{83,84}. Actualmente, la PCR en tiempo real es uno de los métodos más sensibles para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. Aún en muestras muy pequeñas, presenta una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia. Esta técnica consiste en extraer el material genético de la muestra de interés utilizando un kit comercial, después se agregan los cofactores esenciales de las polimerasas, las polimerasas, los primers, las moléculas fluorescentes, las dNTPs y un buffer para la reacción, posteriormente a esto se pondrá en un termociclador especial que a medida que van pasando los ciclos se va a poder leer las lecturas de la fluorescencia generada y análisis de la muestra⁸⁵ (figura 9).

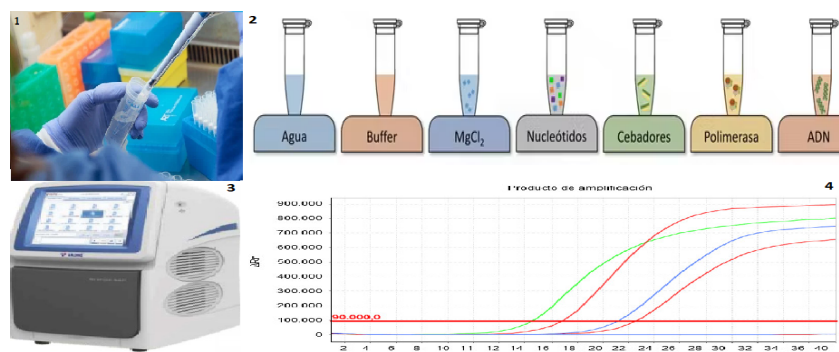


Figura 9: Técnica de qPCR. (1) muestra, (2) reactivos necesarios para el desarrollo de la PCR (3) Termociclador para PCR en tiempo real (4) panel de resultados de la prueba, en la que se muestra la unidades relativas de fluorescencia frente a los ciclos desarrollados por el termociclador. Tomado de:⁸⁷

3. Diseño metodológico

3.1 Tipo de investigación

Cualitativa. Se hace una revisión de documentos actualizados y relacionados con los diferentes mecanismos de resistencia antimicrobiana de los principales BGNNF causantes de infecciones nosocomiales. como palabras clave se utilizaron las palabras clave: Mecanismos de resistencia, Infección nosocomial, BGN, *P. aeruginosa*, y *A. baumannii* (ver figura 10).

3.2 Nivel o alcance de la investigación

Descriptiva porque esta monografía busca describir los mecanismos de resistencia de los principales BGNNF causantes de enfermedades nosocomiales.

3.3 Población objeto de muestra

Para el desarrollo de este trabajo se consultaron 520 artículos relacionados con el tema de los cuales seleccionamos 80 artículos que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión; 10 artículos fueron relacionados con estudios experimentales, 65 artículos fueron relacionados con revisiones bibliográficas y 5 trabajos de grado.

3.4 Muestra de análisis

Literatura acerca de los mecanismos de resistencia de los BGNNF causantes de enfermedades nosocomiales. Los criterios de inclusión fueron: Estudios de resistencia

bacteriana de BGNNF en Colombia y el mundo durante los años 2015-2022. Así mismo las publicaciones relacionadas con infecciones nosocomiales asociadas a los BGNNF. Y los criterios de exclusión fueron todos los documentos no relacionados con los temas de interés o que fueran de años anteriores al 2015.

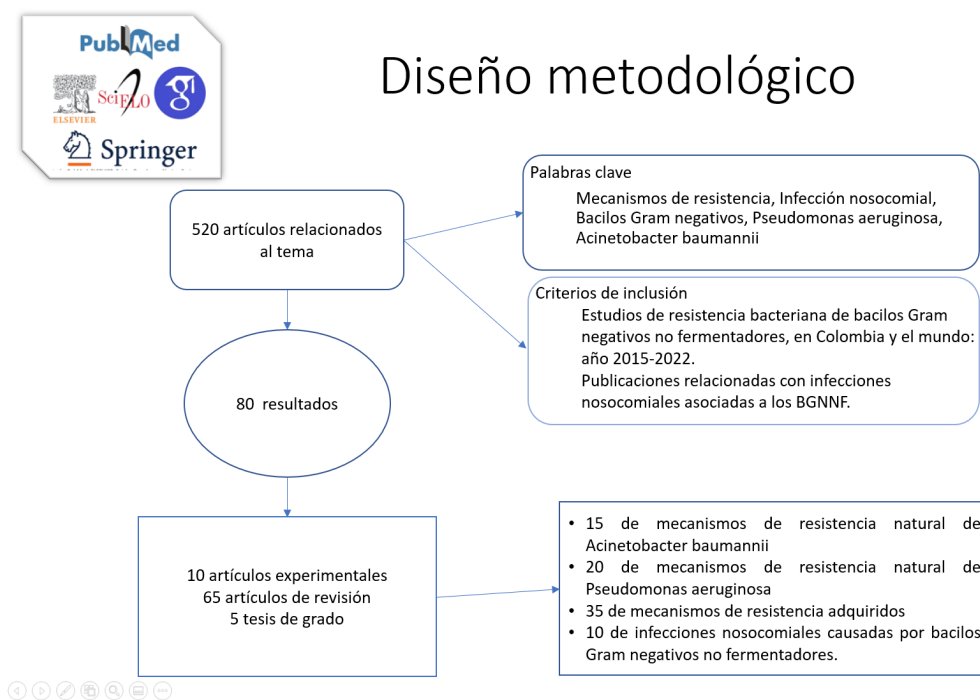


Figura 10: Diseño metodológico

4. Resultados

Fuentes de investigación y selección de estudios

Se filtró y seleccionó la literatura encontrada en las páginas web de cinco diferentes bases de datos: Mendeley, Medclatina, Informe académico, Sciencedirect y Scopus, así como también el motor de búsqueda de google académico que contenían información de infecciones nosocomiales, mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* y mecanismos de resistencia de *A. baumannii* desde el 2015 hasta el 2021.

Después de la selección, se organizó la literatura consultada en temas de interés como mecanismos de resistencia natural y adquirido de *A. baumannii*, mecanismos de resistencia natural de *P. aeruginosa*, infecciones nosocomiales y métodos de diagnóstico de los mecanismos de resistencia según el manual de la CLSI. Se revisaron 80 textos de los cuales; 15 fueron clasificados en mecanismos de resistencia natural de *A. baumannii*, seguido de 20 de mecanismos de resistencia natural de *P. aeruginosa*, 35 de mecanismos de resistencia adquiridos y 10 de infecciones nosocomiales causadas por BGNF.

Resultados de la búsqueda bibliográfica

En la literatura consultada, se encontró que los principales BGN asociados a infecciones intrahospitalarias (infecciones del tracto urinario, tracto respiratorio, de heridas quirúrgicas y sepsis) en Estados Unidos para el año 2018 son: *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* (figura 11).

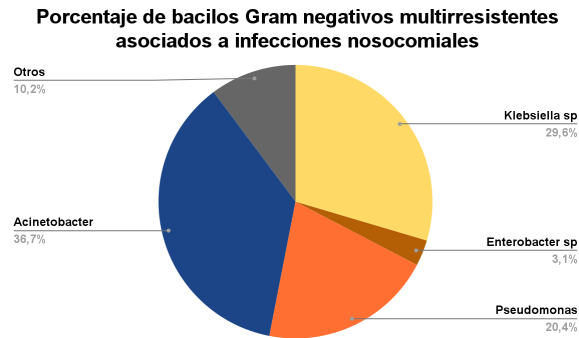


Figura 11: Porcentaje de bacilos Gram negativos multirresistentes asociados a las infecciones nosocomiales. Elaborado con datos del.⁸⁹

En Colombia, durante el periodo de septiembre de 2012 a marzo de 2013 se reportaron 57 aislamientos de *P. aeruginosa*, dos fueron presentaron sensibles a los carbapenémicos y, 43 tenían resistencia a los carbapenémicos; de estos aislados 33 presentaron carbapenemasas de tipo VIM, 9 de tipo KPC y 1 presentó co-producción de KPC+VIM. Así mismo, en ese mismo año se describe un aumento en la resistencia a los carbapenémicos de este microorganismo en la unidad de cuidados intensivos alcanzando un promedio de 32.4%. De igual forma, se observa aumento de la resistencia a los carbapenémicos en *A. baumannii* aislados de unidades de cuidados intensivos, alcanzando un promedio del 53.8%.

Durante el periodo de 2012 al 2016 se reportaron en Colombia, 1669 casos de infecciones causadas por *P. aeruginosa* y por *A. baumannii* multirresistente, de esos casos, 1462 fueron por *P. aeruginosa* y 207 por *A. baumannii*, siendo las carbapenemasas su principal mecanismo de resistencia⁸⁴. En el caso de *P. aeruginosa*, las carbapenemasas más

prevalentes son VIM y en segundo lugar KPC, y las co-producciones más comunes son de tipo KPC + VIM y las KPC +GES. En el caso de *A. baumannii* las carbapenemasas más prevalentes son OXA23 y 51 y en segundo lugar NDM, las co-producciones más comunes son de tipo NDM +OXA51 y las VIM +OXA23/51.

En el año 2019 el INS informó que en Colombia, durante el periodo de 2012 al 2018 se reportaron 2182 casos de infecciones asociadas a la atención en salud por BGNNE, de esos casos 1885 fueron por *P. aeruginosa* y 297 por *A. baumannii*, de los cuales 2094 presentaron resistencia a los carbapenémicos; de esos 2094 casos con resistencia a carbapenémicos, 1667 eran a causa de carbapenemasas y 427 por otros mecanismos de resistencia¹⁷ Las principales carbapenemasas expresadas por estos microorganismos son: KPC, VIM, NDM, OXA₂₃, GES, OXA₅₁, IMP y algunas co producciones, por ejemplo en *P. aeruginosa* KPC+VIM, KPC+NDM, KPC+GES, NDM+ VIM, GES+VIM y en *A. baumannii* KPC+NDM, NDM+OXA₅₈, NDM+OXA₂₃ y VIM+ OXA₂₃ (figura 12)

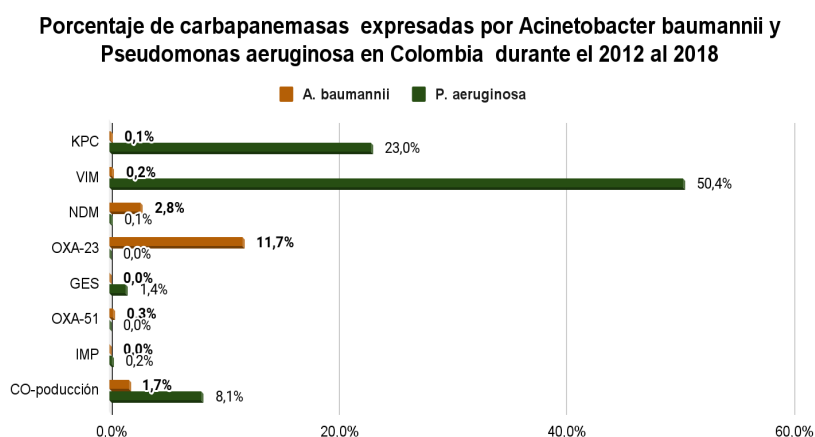


Figura 12: Porcentaje de carbapenemasas expresadas en *P. aeruginosa* y *A. baumannii* en Colombia durante 2012-2018. Elaborada con datos del ⁹⁰.

Como se observa en la figura 12, *P. aeruginosa*, presenta mayor producción de carbapenemasas tipo serin (KPC) y metalobetalactamasas (VIM), en comparación con lo expresado en *A. baumannii*, que según el estudio realizado en Colombia, expresa con mayor frecuencia OXA-23 (11.7%) y NDM (2,8%).

Los mecanismos de resistencia presentados por *P. aeruginosa* y *A. baumannii* son diversos. A continuación, en la tabla 1 se resumen estos mecanismos y, se detalla a qué antibióticos les confiere resistencia cada uno de estos.

Complejo <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>		
Mecanismos de resistencia intrínseca		
Mecanismo	Acción	Resistencia frente a
Betalactamasas tipo ADC	Hidroliza el anillo betalactámico	Penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos.
Betalactamasas tipo OXA	Hidroliza el anillo betalactámico	Penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos
Pérdida de porinas	Limita el acceso del antibiótico a los sitios diana intracelulares	Aminoglucósidos, betalactámicos, fluoroquinolonas y tetraciclinas
Bombas de eflujo	Limita la acción del antibiótico al eliminarlo sin permitir llegar a la diana	Cefalosporinas, carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas
Mecanismos de resistencia adquiridos		
Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)	Hidroliza el anillo betalactámico	Penicilinas, monobactamas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación

Metalcarbapenemasas clase B	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico a excepción de los monobactámicos principalmente el aztreonam
Serincarbapenemasas clase A	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico y también las primeras cuatro generaciones de cefalosporinas.
Serincarbapenemasas clase D	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico.
Enzimas modificadoras de aminoglucósidos	Modificar los grupos amino e hidroxilo de los aminoglucósidos	Aminoglucósidos

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Mecanismos de resistencia intrínseca		
Mecanismo	Acción	Resistencia frente a
Betalactamasas cromosómicas tipo ADC	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico y también las primeras dos generaciones de cefalosporinas.
Bombas de eflujo	Evita la llegada de los antibióticos a los sitios diana mediante la captura y expulsión	Ceftazidime, carbapenémicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas
Pérdida de las porinas	Limita el acceso a los antibióticos al sitio diana intracelular	Carbapenémicos y quinolonas
Mecanismos de resistencia adquiridos		

Enzimas modificadoras de aminoglucósidos EMA	Acetilan y fosforilan las moléculas de los aminoglucósidos bloqueando su actividad	Aminoglucósidos
Metilasas del ARNr16S	Modifica el sitio diana del antibiótico	Aminoglucósidos
Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)	Hidroliza el anillo betalactámico	Penicilinas, monobactamas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación
Metalcarbapenemasas clase B	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico a excepción de los monobactámicos principalmente el aztreonam
Serincarbapenemasas clase A	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico y también las primeras cuatro generaciones de cefalosporinas.
Serincarbapenemasas clase D	Hidroliza el anillo betalactámico	Todos los antibióticos que tengan en su estructura un anillo betalactámico.

Tabla 1: Resumen de los diferentes mecanismos de resistencia natural y adquirida de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*.

En relación a los métodos estandarizados para la detección fenotípica de los mecanismos de resistencia, de acuerdo al CLSI se utilizan como test de rutina: el método de difusión en disco o microdilución en caldo o en agar. El CLSI recomienda tener en cuenta pruebas complementarias para la determinación de algunos de los mecanismos de resistencia, como se indica en la siguiente tabla.

Pruebas complementarias (opcionales)			
Prueba complementaria	Microorganismo	Descripción de la prueba	Opcional para
ESBL	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Microdilución en caldo o prueba de inhibición de clavulanato por difusión en disco para ESBLs	Aislados que muestran sensibilidad reducida a las cefalosporinas o resultados que indican la presencia o ausencia de betalactamasas de espectro extendido
CarbaNP	<i>Enterobacteriales</i> <i>P. aeruginosa</i>	Ensayo colorimétrico para detectar hidrólisis de carbapenem	Aislados que muestran sensibilidad reducida al carbapenem Resultados que indican la presencia o ausencia de ciertas carbapenemasas
mCIM con o sin eCIM	.Solo con cCIM Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> .mCIM con eCIM Solo enterobacterias	difusión en disco para detectar hidrólisis del carbapenem (inactivación) El complemento de eCIM permite diferenciar entre las metalobetalactamasas y las serinocarbapenemasas en aislados entero basales que son de mCIM	Aislados que muestran una susceptibilidad reducida a los carbapenemes Resultados que indican la presencia o ausencia de ciertas carbapenemasas
Prueba de colistina en agar	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>	Dilución de agar modificado	Determinación de la CMI de la colistina
Elución en disco de caldo de colistina	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>	dilución en tubo utilizando tubos de colistina como fuente del agente antimicrobiano	Determinación de la CMI de la colistina

Tabla 2: Pruebas complementarias para la determinación de mecanismos de resistencia para bacilos Gram negativos Tomado y modificado del:⁹¹

5. Discusión

La diseminación de los BGNNF multirresistentes han incrementado a nivel hospitalario; este aumento representa un problema para los centros de salud, así como también para la salud pública debido al incremento de fallas terapéuticas y aumento en la morbi-mortalidad de los pacientes³. Basados en la bibliografía revisada se puede decir que los principales BGNNF asociados a las infecciones nosocomiales son *A. baumannii* y *P. aeruginosa*¹⁵, las cuales están asociadas principalmente a infecciones de tracto respiratorio, tracto urinario y en heridas quirúrgicas. Por otra parte, en un estudio descriptivo en Colombia catalogaron a *A. baumannii* y *P. aeruginosa* como los BGNNF que tienen mayor facilidad de adquirir genes de resistencia y expresar betalactamasas de tipo SHV, VEB, PER, GES, CTX, IMP, KPC, VIM, NDM, OXA₂₃, OXA₅₁, GIM, SIM-1 y SPM¹⁷.

Se ha observado que los microorganismos multirresistentes están dados principalmente por presión selectiva, donde el uso indiscriminado de los antimicrobianos disminuye las opciones terapéuticas para algunas cepas bacterianas⁸⁶. Así mismo, la Organización Mundial de la Salud estima que para el 2050 mueran más personas por infecciones bacterianas no tratables que por cáncer⁷.

Un estudio realizado en el año 2017 por Woerther et al⁶ muestra que una de las causas del incremento de microorganismos multirresistentes dentro de un país podría deberse a la movilidad de la población por el turismo (figura 11), según este estudio la tasa de

infección de BGN productores de betalactamasas de espectro extendido aumentó un 20.70% en visitantes de zonas subtropicales⁶. Los factores de riesgo más comunes que predisponen a estas infecciones son: La diarrea del viajero que conduce a una disbiosis intestinal que disminuye la resistencia a la colonización por bacterias exógenas multidrogresistentes entre otras así como también, el país de destino y el uso de antibióticos.

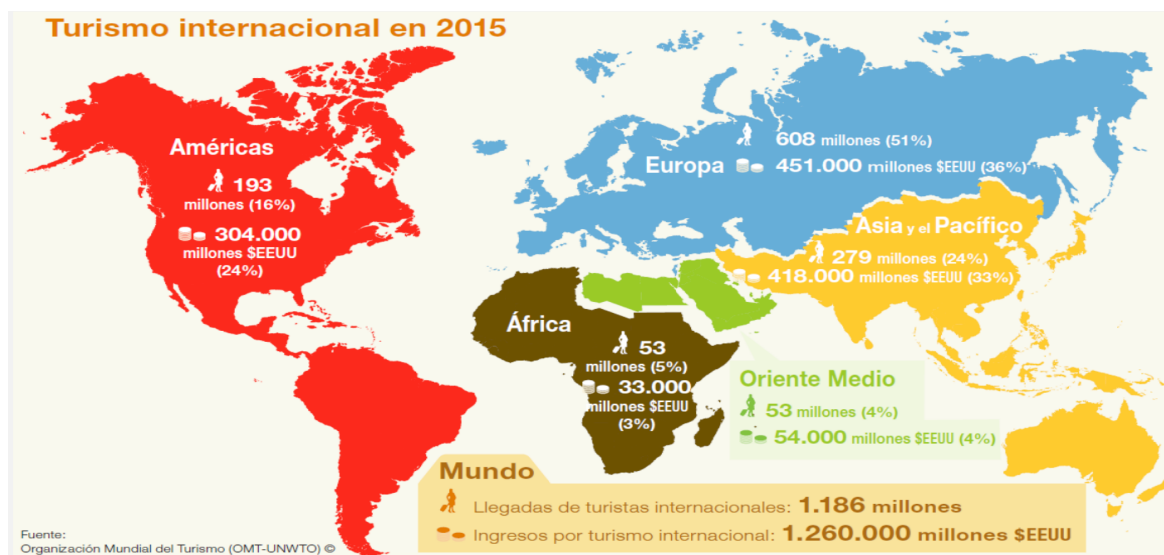


Figura 13: Mapa de la movilidad de turista internacional en el mundo, a su vez mostrando el incremento de personas se mueven de país en país, facilitando el traspaso de cepas bacterianas multirresistentes a países donde no existían esas variantes.

Tomado de: Maillo;2017, Bacterias multirresistentes importadas

Los países con mayor porcentaje de microorganismos multirresistentes son los países no desarrollados con sistemas de salud deficientes⁶⁸; sin embargo, Alharbi et al⁶⁷ contradicen esta afirmación ya que muestran que países como China y Estados Unidos tienen un índice alto de cepas bacterianas multirresistentes, posiblemente debido al uso indiscriminado de antibióticos y al gran número de población flotante.

P. aeruginosa y *A. baumannii* son microorganismos capaces de adquirir nuevos genes de resistencia mediados por elementos genéticos móviles y asociadas a otros genes de resistencia. Hussain H et al, afirman que es importante desarrollar métodos rápidos que facilitan el diagnóstico y el estudio de los mecanismos de resistencia, así mismo, debe seguir siendo prioritaria la regulación para la circulación de antibióticos de venta libre ya que esto puede ayudar a disminuir las cepas multirresistentes que pueden ocasionar brotes en las comunidades o los centros de salud^{16,42}.

P. aeruginosa es uno de los BGN más comunes en las infecciones nosocomiales, principalmente en las UCI, seguido de hospitalización y urgencias⁸². Las cepas resistentes a los carbapenémicos está dada por las carbapenemasas tipo metalobetalactamasas (IMP, VIM, NDM, GIM, SPM, FIM AIM) y las serino (KPC) y sus coproducciones; actualmente, las principales carbapenemasas detectadas en estas cepas son de tipo VIM y en coproducción con KPC.

En un estudio realizado en la Unión Europea en el 2018 se encontró que los principales antibióticos a los que presenta resistencia *P. aeruginosa* son a las fluoroquinolonas

(20,3%), seguido de piperacilina/tazobactam (18,3%), carbapenémicos (17,4%), ceftazidime (14,7%) y aminoglucósidos (13,2%)⁸⁹. Así mismo, un estudio en Colombia en el año 2021, indica que la resistencia a los carbapenémicos en *P. aeruginosa* es de 67.6%, seguida por fluoroquinolonas 33.3%, ceftazidime 29.1%, piperacilina/tazobactam 35.6%, y aminoglucósidos 40%²⁴. Según estos resultados, se puede observar como en Colombia los porcentajes de resistencia a carbapenémicos son superiores en comparación con Europa, y así mismo, el uso de piperacilina/tazobactam es menor debido a la resistencia ya presente en nuestro país.

A. baumannii es uno de los principales microorganismos causantes de infecciones nosocomiales debido, principalmente a la formación de biopelículas lo que le permite resistir y alargar su tiempo de vida en las superficies inertes, adicionalmente, tienen la facilidad de adquirir y transmitir plásmidos de resistencia que confieren mecanismos para la evasión de la acción de la mayoría de antibióticos utilizados para su tratamiento. La resistencia a carbapenémicos, está dada por las carbapenemasas tipo metalobetalactamasas (IMP, VIM, NDM, GIM, SIM) y las tipo serino (KPC y las OXA) o por métodos no enzimáticos como la pérdida o cambio de la proteína de membrana (CarO), la sobre expresión de la bomba de eflujo AdeABC o la pérdida de las proteínas de unión a la penicilina.

En Alemania en el 2018 la resistencia de *A. baumannii* a los carbapenémicos alcanzó el 75% en algunos hospitales; mientras que en Colombia en el 2020 se reportó que la resistencia en promedio era igual o mayor al 50%. Según estos resultados se puede inferir

que la resistencia por *A. baumannii* a los carbapenémicos es mayor que la resistencia por *P. aeruginosa* en países europeos; sin embargo en Colombia, se observa mayor porcentaje de resistencia en *P. aeruginosa* por lo cual es importante seguir rastreando y monitoreando los diferentes mecanismos de resistencia y continuar realizando estudios epidemiológicos para determinar el comportamiento de cepas multirresistentes al interior de cada país.

La tasa de resistencia a antibióticos a nivel mundial se ha incrementado por el uso de antibióticos durante la pandemia SARS - CoV-2. Lo anterior, debido a las prescripciones empíricas de antibióticos al ingreso con sintomatología respiratoria, al uso de antibióticos profilácticos o al tratamiento de coinfecciones bacterianas que empeoran el pronóstico de los pacientes y causan mayor tasa de mortalidad (aumentó de aproximadamente 10.3%)⁸¹. En Colombia, en los boletines epidemiológicos N° 09 y 44 del 2021 y el 09 del 2022 se muestra que las infecciones nosocomiales han aumentado un 124% en relación con años anteriores. Así mismo, un 72% de estas infecciones se asocian a las UCI de pacientes COVID-19 y de estas, el siete por ciento son causadas por *Pseudomonas spp* y *Acinetobacter spp*. En concordancia con estos datos, en hospitales de Cuba y Estados Unidos en el 2020 se reportó que el 18% de las infecciones nosocomiales son causadas por *P. aeruginosa* y *A. baumannii*⁸¹.

Actualmente, las técnicas moleculares son las técnicas recomendadas para la detección de cepas multirresistentes, sin embargo, no todos los países y laboratorios tienen la infraestructura y los recursos para llevarlas a cabo. La utilización de técnicas fenotípicas

aunque presentan una buena sensibilidad y especificidad deben ser estandarizadas y monitoreadas según las actualizaciones del CLSI o EUCAST. La técnica de microdilución en caldo, es la técnica de referencia para la mayoría de los patógenos y de los antibióticos, a diferencia de los métodos de difusión en disco, que según recomendaciones del CLSI debe realizarse e interpretarse con cautela, y siguiendo los procedimientos estandarizados y validados internacionalmente ⁸⁵.

Por todo lo anterior, se hace indispensable el trabajo multidisciplinario donde los clínicos y el laboratorio encaminan sus esfuerzos para determinar y ofrecer la opción con mayor éxito terapéutico para los pacientes.

6. Conclusiones

1. Actualmente los BGNNF más importantes en las infecciones nosocomiales son *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, los cuales cuentan con una gran capacidad para resistir a diversos antibióticos, debido a sus mecanismos de resistencia natural y adquirida.
2. La presencia de la Isla de Resistencia en *A. baumannii* explica la facilidad que tiene este microorganismo para adquirir mecanismos de resistencia a los antibióticos usados en su tratamiento.
3. Los genes que codifican betalactamasas cromosómicas tipo PDC le confieren a *P. aeruginosa* resistencia principalmente a carbapenémicos, y junto con la adquisición de nuevos mecanismos dificulta alcanzar el éxito terapéutico.
4. La resistencia de los bacilos Gram negativos no fermentadores varía de acuerdo a la epidemiología de cada país. Se concluyó que la resistencia a carbapenémicos en Europa es más alta en *A. baumannii* y en Colombia la resistencia a los carbapenémicos es más alta en *Pseudomonas aeruginosa*.
5. Tras la comparación de las diferentes técnicas aprobadas por el CLSI para la identificación por métodos fenotípicos de mecanismos de resistencia, se observó que los más usados son: el test de sinergismo con doble disco de ácido clavulánico, EDTA o ácido borónico y el carba NP que tiene gran sensibilidad para la detección principalmente de carbapenemasas, sin embargo, el CLSI recomienda como método de referencia la técnica de microdilución en caldo.

7. Referencias bibliográficas

1. Alejandro Alfonso C, María Blandón Rodríguez A, Lucía Ospina Martínez M, Edwin Prieto Alvarado F, Eduardo Pacheco García Ó, Quijada Bonilla H. Infecciones intrahospitalarias.
2. Kukso F. Para 2050 la resistencia a los antibióticos será la principal causa de muerte - Scientific American - Español. Sci Am [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 30];(26 de julio del 2016). Available from: <https://www.scientificamerican.com/espanol/noticias/para-2050-la-resistencia-a-los-antibioticos-sera-la-principal-causa-de-muerte/>
3. Garza-Ramos U, Barrios H, Reyna-Flores F, Tamayo-Legorreta E, Catalan-Najera JC, Morfin-Otero R, et al. Informe De Resultados De La Vigilancia Por Laboratorio De Resistencia Antimicrobiana En Infecciones Asociadas a La Atención En Salud (Iaas) 2018 Dirección. Epidemiol las Infecc Asoc a la atención en salud. 2019;81(2):1–28.
4. Miltgen G, Bour M, Allyn J, Allou N, Vedani T, Vuilleminot J-B, et al. Molecular and epidemiological investigation of a colistin-resistant OXA-23/NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* outbreak in Southwest Indian Ocean. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2021 Jul 19 [cited 2021 Jul 29];106402. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857921001679>
5. Yaumara Aguilera Calzadilla, Yayquier Díaz Morales, Leonardo Abilio Ortiz Díaz, Olga Linee Gonzalez Martínez, Orlando Adolfo Lovelle Enríquez, María de Lourdes Sánchez Álvarez. Infecciones bacterianas asociadas a la COVID-19 en pacientes de una unidad de cuidados intensivos | Aguilera Calzadilla | Revista Cubana de Medicina Militar. Rev Cuba Med Mil [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 7];49(3). Available from: <http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/793/539>
6. Barie PS. Multidrug-Resistant Organisms and Antibiotic Management. Vol. 92, Surgical Clinics of North America. Elsevier; 2012. p. 345–91.
7. Oliva Menacho JE. Genes que expresan resistencia a carbapenemasas presentes en *Pseudomona aeruginosa*. Rev Peru Ciencias la Salud [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Sep 10];3(1):e244–e244. Available from: <http://revistas.udh.edu.pe/index.php/RPCS/article/view/244e>
8. Ávila-Torres YY, Cáceres-Rojas MF, Aguilera-Becerra AM. Infecciones asociadas a dispositivos, perfil microbiológico y resistencia bacteriana en unidades de cuidados intensivos de Casanare - Colombia. Rev Investig en Salud Univ Boyacá [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 15];8(2). Available from: <https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/640/636>
9. Mamishi S, Mahmoudi S, Naserzadeh N, Sadeghi RH, Ashtiani MTH, Bahador A, et al. Antibiotic resistance and genotyping of gram-negative bacteria causing hospital-acquired

- infection in patients referred to children's medical center. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2019 [cited 2021 Aug 22];12:3377–84. Available from: /pmc/articles/PMC6825472/
10. Hu HB, Huang HJ, Peng QY, Lu J, Lei XY. Prospective study of colonization and infection because of *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients at a neonatal intensive care unit in China. *Am J Infect Control*. 2010 Nov 1;38(9):746–50.
 11. Suárez C, Peña C, Gavaldà L, Tubau F, Manzur A, Dominguez MA, et al. Influence of carbapenem resistance on mortality and the dynamics of mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *Int J Infect Dis*. 2010 Sep 1;14(SUPPL. 3):e73–8.
 12. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019 Jan 1;37(1):177–92.
 13. Mercado-Tobio Luisa Fernanda, Martínez Orfa Contreras, Angulo-Ortiz Alberto. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBIOPELÍCULA DE LOS EXTRACTOS DE *Trichilia hirta* L. FRENTE AISLADOS CLÍNICOS DE *Pseudomonas aeruginosa* EN MONTERÍA CÓRDOBA [Internet]. Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias Básicas. Laboratorio de Productos Naturales. [Córdoba]: Universidad de Córdoba; 2020 [cited 2021 Sep 5]. Available from: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/3569/MercadoTobioLuisaFernanda-ContrerasMartínezOrfaInés-AnguloOrtizAlbertoAntonio.pdf?sequence=1&isAllo wed=y>
 14. Gaete ME, Valenzuela MP, Bachero AW, Vega CC, Marín NV, Labarca JL, et al. Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* con susceptibilidad disminuida a los carbapenémicos después de una década, desde VIM a KPC. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2021 Sep 12];37(4):389–94. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182020000400389&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 15. Asif M, Alvi IA, Ur Rehman S. Insight into *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities [Internet]. Vol. 11, *Infection and Drug Resistance*. Dove Press; 2018 [cited 2021 Aug 22]. p. 1249–60. Available from: /pmc/articles/PMC6110297/
 16. Ribeiro LF, Lopes EM, Kishi LT, Ribeiro LFC, Meneguetti MG, Gaspar GG, et al. Microbial community profiling in intensive care units expose limitations in current sanitary standards. *Front Public Heal*. 2019;7(AUG):240.
 17. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence [Internet]. Vol. 16, *Nature Reviews Microbiology*. NIH Public Access; 2018 [cited 2021 Aug 22]. p. 91–102. Available from: /pmc/articles/PMC6571207/
 18. Cendra M del M, Torrents E. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. *Biotechnol Adv*. 2021 Jul 1;49:107734.

19. Pujol M, Limón E. Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2021 Aug 29];31(2):108–13. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-epidemiologia-general-infecciones-nosocomiales-sistemas-S0213005X13000025>
20. Angeletti S, Cella E, Prospero M, Spoto S, Fogolari M, De Florio L, et al. Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial strains: Molecular epidemiology and evolution. *Microb Pathog*. 2018 Oct 1;123:233–41.
21. Llanos-Torres KH, Pérez-Orozco R, Málaga G. Infecciones nosocomiales en unidades de observación de emergencia y su asociación con el hacinamiento y la ventilación. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2020 Oct 13 [cited 2021 Sep 13];37(4):721–5. Available from: <https://rpmpesp.ins.gob.pe/rpmpesp/article/view/5192/4010>
22. Rosales C, Francesconi GV, Molina J, Listovsky G, Carvalho C, Kemper ES, et al. Sistema Integrado de Informações Mais Médicos: uma ferramenta de suporte à gestão baseada em evidências. *Rev Panam Salud Pública*. 2020;1–7.
23. da Costa JST, Lima CA, Vera-Leiva A, San Martín Magdalena I, Bello-Toledo H, Domínguez Yévenes M, et al. Carbapenemasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos aisladas en hospitales de Chile. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 14];38(1):81–7. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182021000100081&lng=es&nrm=iso&tlng=es
24. Kostyanev T, Xavier BB, García-Castillo M, Lammens C, Bravo-Ferrer Acosta J, Rodríguez-Baño J, et al. Phenotypic and molecular characterizations of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected within the EURECA study. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 Jun 1;57(6):106345.
25. Nikibakhsh M, Firoozeh F, Badmasti F, Kabir K, Zibaei M. Molecular study of metallo- β -lactamases and integrons in *Acinetobacter baumannii* isolates from burn patients. *BMC Infect Dis*. 2021 Dec 1;21(1).
26. Guner Ozenen G, Sahbudak Bal Z, Umit Z, Avcu G, Tekin D, Kurugol Z, et al. Nosocomial Non-fermentative gram negative bacteria bloodstream infections in children; Risk factors and clinical outcomes of carbapenem resistance. *J Infect Chemother*. 2021 May 1;27(5):729–35.
27. Yamani L, Alamri A, Alsultan A, Alfifi S, Ansari MA, Alnimr A. Inverse correlation between biofilm production efficiency and antimicrobial resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathog*. 2021 Aug 1;157:104989.
28. Ropponen HK, Richter R, Hirsch AKH, Lehr CM. Mastering the Gram-negative bacterial barrier – Chemical approaches to increase bacterial bioavailability of antibiotics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021 May 1;172:339–60.

29. Chen J, Zhou R, Li Z, Li Q, Long Y, Wang H, et al. Effect of nurse-led, goal-directed lung physiotherapy on prognosis of patients with sepsis caused by *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection. *Int J Infect Dis*. 2021 Feb 1;103:167–72.
30. Yadav SK, Bhujel R, Hamal P, Mishra SK, Sharma S, Sherchand JB. Burden of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in hospitalized patients in a tertiary care hospital of Nepal. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2020 [cited 2021 Aug 22];13:725–32. Available from: [/pmc/articles/PMC7061726/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3761726/)
31. Kurihara MNL, Sales RO de, Silva KE da, Maciel WG, Simionatto S. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreaks: a global problem in healthcare settings. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2020 [cited 2021 Aug 22];53:e20200248. Available from: [/pmc/articles/PMC7670754/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37670754/)
32. Rosales C, Francesconi GV, Molina J, Listovsky G, Carvalho C, Kemper ES, et al. Sistema Integrado de Informações Mais Médicos: uma ferramenta de suporte à gestão baseada em evidências. *Rev Panam Salud Pública*. 2020;1–7.
33. da Costa JST, Lima CA, Vera-Leiva A, San Martin Magdalena I, Bello-Toledo H, Domínguez Yévenes M, et al. Carbapenemasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos aisladas en hospitales de Chile. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 14];38(1):81–7. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182021000100081&lng=es&nrm=iso&tlng=es
34. Cipko K, Kizny Gordon A, Adhikari S, Konecny P. Cefiderocol treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* retained spinal hardware infection causing reversible acute interstitial nephritis: Recto: Cefiderocol causing acute interstitial nephritis. *Int J Infect Dis*. 2021 Aug 1;109:108–11.
35. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. <https://doi.org/10.1111/cxo.12621> [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2021 Sep 20];101(2):162–71. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1111/cxo.12621>
36. Asenjo A, Oteo-Iglesias J, Alós J-I. What's new in mechanisms of antibiotic resistance in bacteria of clinical origin? *Enfermedades Infecc y Microbiol Clin (English ed)*. 2021 Jun 1;39(6):291–9.
37. Rosales-Reyes R, Vargas-Roldán SY, Lezana-Fernández JL, Santos-Preciado JI. *Pseudomonas Aeruginosa*: Genetic Adaptation, A Strategy for its Persistence in Cystic Fibrosis. *Arch Med Res*. 2021 May 1;52(4):357–61.
38. Huang X, Li T, Zhang X, Deng J, Yin X. Bimetallic palladium@copper nanoparticles: Lethal effect on the gram-negative bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Mater Sci Eng C*. 2021 Oct 1;129:112392.

39. Bashir A, Brown JS. *Pseudomonas aeruginosa*. Ref Modul Biomed Sci [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Sep 10]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081027233002584>
40. Crémet L, Leroy AG, Muller D, Delanou S, Burghilea A, Broquet A, et al. Antibiotic resistance heterogeneity and LasR diversity within *Pseudomonas aeruginosa* populations from pneumonia in intensive care unit patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 Jun 1;57(6):106341.
41. Li Y, Xia L, Chen J, Lian Y, Dandekar AA, Xu F, et al. Resistance elicited by sub-lethal concentrations of ampicillin is partially mediated by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Int*. 2021 Nov 1;156:106619.
42. Khademi F, Maarofi K, Arzanlou M, Peeri-Dogaheh H, Sahebkar A. Which missense mutations associated with DNA gyrase and topoisomerase IV are involved in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates resistance to ciprofloxacin in Ardabil? *Gene Reports*. 2021 Sep 1;24:101211.
43. Abavisani M, Goudarzi M, Ghalavand Z, Hajikhani B, Rad ZR, Rad ZR, et al. Evaluation of efflux pumps overexpression and β -lactamase genes among colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene Reports*. 2021 Sep 1;24:101301.
44. Zahedi bialvaei A, Rahbar M, Hamidi-Farahani R, Asgari A, Esmailkhani A, Mardani dashti Y, et al. Expression of RND efflux pumps mediated antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Microb Pathog*. 2021 Apr 1;153:104789.
45. Tang B, Yang H, Jia X, Feng Y. Coexistence and characterization of Tet(X5) and NDM-3 in the MDR-*Acinetobacter indicus* of duck origin. *Microb Pathog*. 2021 Jan 1;150:104697.
46. Snyman Y, Reuter S, Whitelaw AC, Stein L, Maloba MRB, Newton-Foot M. Characterisation of mcr-4.3 in a colistin-resistant *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolate from Cape Town, South Africa. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021 Jun 1;25:102–6.
47. Chen J, Zhou R, Li Z, Li Q, Long Y, Wang H, et al. Effect of nurse-led, goal-directed lung physiotherapy on prognosis of patients with sepsis caused by *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection. *Int J Infect Dis*. 2021 Feb 1;103:167–72.
48. König P, Averhoff B, Müller V. K⁺ and its role in virulence of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Med Microbiol*. 2021 Jul 1;311(5):151516.
49. Li Y, Peng C, Zhao D, Liu L, Guo B, Shi M, et al. Outer membrane protein A inhibits the degradation of caspase-1 to regulate NLRP3 inflammasome activation and exacerbate the *Acinetobacter baumannii* pulmonary inflammation. *Microb Pathog*. 2021 Apr 1;153:104788.
50. Hao M, Ma W, Dong X, Li X, Cheng F, Wang Y. Comparative genome analysis of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* JNQH-PA57, a clinically isolated mucoid

- strain with comprehensive carbapenem resistance mechanisms. *BMC Microbiol.* 2021 Dec 1;21(1):1–16.
51. Mea HJ, Yong PVC, Wong EH. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation. *Microbiol Res.* 2021 Jun 1;247:126722.
 52. Kostyanev T, Xavier BB, García-Castillo M, Lammens C, Bravo-Ferrer Acosta J, Rodríguez-Baño J, et al. Phenotypic and molecular characterizations of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected within the EURECA study. *Int J Antimicrob Agents.* 2021 Jun 1;57(6):106345.
 53. Elbehiry A, Marzouk E, Moussa IM, Dawoud TM, Mubarak AS, Al-Sarar D, et al. *Acinetobacter baumannii* as a community foodborne pathogen: Peptide mass fingerprinting analysis, genotypic of biofilm formation and phenotypic pattern of antimicrobial resistance. *Saudi J Biol Sci.* 2021 Jan 1;28(1):1158–66.
 54. Yamani L, Alamri A, Alsultan A, Alfifi S, Ansari MA, Alnimr A. Inverse correlation between biofilm production efficiency and antimicrobial resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathog.* 2021 Aug 1;157:104989.
 55. Shan W, Zhang H, Kan J, Yin M, Zhang J, Wan L, et al. Acquired mucoid phenotype of *Acinetobacter baumannii*: Impact for the molecular characteristics and virulence. *Microbiol Res.* 2021 May 1;246:126702.
 56. Bedenić B, Meštrović T. Mechanisms of resistance in gram-negative urinary pathogens: From country-specific molecular insights to global clinical relevance. *Diagnostics.* 2021;11(5).
 57. Nikibakhsh M, Firoozeh F, Badmasti F, Kabir K, Zibaei M. Molecular study of metallo- β -lactamases and integrons in *Acinetobacter baumannii* isolates from burn patients. *BMC Infect Dis.* 2021 Dec 1;21(1).
 58. Oliva Menacho JE. Genes que expresan resistencia a carbapenemasas presentes en *Pseudomona aeruginosa*. *Rev Peru Ciencias la Salud* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Sep 10];3(1):e244–e244. Available from: <http://revistas.udh.edu.pe/index.php/RPCS/article/view/244e>
 59. Agüero A, Infante Rondón K, Delgado Llorca F. Infecciones nosocomiales por bacterias gram negativas y estadía prolongada en cuidados intensivos pediátricos. *Rev Habanera Ciencias Médicas* [Internet]. 2021;20(3):1–8. Available from: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3608>
 60. Edwards F, MacGowan A, Macnaughton E. Antibiotic resistance [Internet]. Vol. 49, *Medicine (United Kingdom)*. Elsevier; 2021 [cited 2021 Sep 5]. p. 1–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303921001985>
 61. Henderson A, Bursle E, Stewart A, Harris PNA, Paterson D, Chatfield MD, et al. A systematic review of antimicrobial susceptibility testing as a tool in clinical trials assessing

antimicrobials against infections due to gram-negative pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier; 2021.

62. Guner Ozenen G, Sahbudak Bal Z, Umit Z, Avcu G, Tekin D, Kurugol Z, et al. Nosocomial Non-fermentative gram negative bacteria bloodstream infections in children; Risk factors and clinical outcomes of carbapenem resistance. *J Infect Chemother*. 2021 May 1;27(5):729–35.
63. Freire MP, Song ATW, Oshiro ICV, Andraus W, D’Albuquerque LAC, Abdala E. Surgical site infection after liver transplantation in the era of multidrug-resistant bacteria: what new risks should be considered? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021 Jan 1;99(1):115220.
64. Bayraktar M, Kaya E, Ozturk A, İbrahim BMS. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from healthcare workers’ cellphones. *Infect Dis Now*. 2021 Jun 4;
65. Ropponen HK, Richter R, Hirsch AKH, Lehr CM. Mastering the Gram-negative bacterial barrier – Chemical approaches to increase bacterial bioavailability of antibiotics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021 May 1;172:339–60.
66. Pandit P, Sahni AK, Grover N, Dudhat V, Das NK, Biswas AK. Catheter-related blood stream infections: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance pattern. *Med J Armed Forces India*. 2021 Jan 1;77(1):38–45.
67. Alharbi NM, Ziadi MM. Wastewater as a fertility source for novel bacteriophages against multi-drug resistant bacteria. Vol. 28, *Saudi Journal of Biological Sciences*. Elsevier; 2021. p. 4358–64.
68. Herbert R, Curtis C. Commonly encountered central nervous system infections in the neurointensive care unit. *Anaesth Intensive Care Med*. 2021 Feb 1;22(2):89–94.
69. Saidin S, Jumat MA, Mohd Amin NAA, Saleh Al-Hammadi AS. Organic and inorganic antibacterial approaches in combating bacterial infection for biomedical application. *Mater Sci Eng C*. 2021 Jan 1;118:111382.
70. Sambrano H, Castillo JC, Ramos CW, de Mayorga B, Chen O, Durán O, et al. Prevalence of antibiotic resistance and virulent factors in nosocomial clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Panamá. *Brazilian J Infect Dis*. 2021 Jan 1;25(1):101038.
71. Gouveia e Melo R, Martins B, Pedro DM, Santos CM, Duarte A, Fernandes e Fernandes R, et al. Microbial evolution of vascular graft infections in a tertiary hospital based on positive graft cultures. *J Vasc Surg*. 2021 Jul 1;74(1):276-284.e4.
72. Aboelenin AM, Hassan R, Abdelmegeed ES. The effect of EDTA in combination with some antibiotics against clinical isolates of gram negative bacteria in Mansoura, Egypt. *Microb Pathog*. 2021 May 1;154:104840.
73. Saharman YR, Karuniawati A, Sedono R, Aditianingsih D, Qi H, Verbrugh HA, et al. Multimodal intervention to reduce acquisition of carbapenem-non-susceptible

- Gram-negative bacteria in intensive care units in the National Referral Hospital of Indonesia: An interrupted time series study. *J Crit Care*. 2021 Aug 1;64:237–44.
74. Cantón R, Huarte R, Morata L, Trillo-Mata JL, Muñoz R, González J, et al. Determining the burden of infectious diseases caused by carbapenem-resistant gram-negative bacteria in Spain. *Enfermedades Infecc y Microbiol Clin (English ed)*. 2021 Apr 1;39(4):179–83.
 75. Almangour TA, Alruwaili A, Almutairi R, Alrasheed A, Alhifany AA, Eljaaly K, et al. Aerosolized plus intravenous colistin vs intravenous colistin alone for the treatment of nosocomial pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A retrospective cohort study. *Int J Infect Dis*. 2021 Jul 1;108:406–12.
 76. Miltgen G, Bour M, Allyn J, Allou N, Vedani T, Vuilleminot J-B, et al. Molecular and epidemiological investigation of a colistin-resistant OXA-23/NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* outbreak in Southwest Indian Ocean. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2021 Jul 19 [cited 2021 Jul 29];106402. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857921001679>
 77. Cendra M del M, Torrents E. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. *Biotechnol Adv*. 2021 Jul 1;49:107734.
 78. Jackson L, Waters V. Factors influencing the acquisition and eradication of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2021 Jan 1;20(1):8–16.
 79. Santos Rosado Castro M, da Silva Fernandes M, Kabuki DY, Kuaye AY. Modelling *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation on stainless steel surfaces and controlling through sanitisers. *Int Dairy J*. 2021 Mar 1;114:104945.
 80. Hussain HI, Aqib AI, Seleem MN, Shabbir MA, Hao H, Iqbal Z, et al. Genetic basis of molecular mechanisms in β -lactam resistant gram-negative bacteria. *Microb Pathog*. 2021 Sep 1;158:105040.
 81. Hosseinkhan N, Allahverdi A, Abdolmaleki F. The novel potential multidrug-resistance biomarkers for *Pseudomonas aeruginosa* lung infections using transcriptomics data analysis. *Informatics Med Unlocked*. 2021 Jan 1;22:100509.
 82. McAulay K, Schuetz AN, Fauntleroy K, Shen L, Merveille YM, Deroncelay A, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in healthcare facilities in Port-au-Prince, Haiti. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021 Jun 1;25:60–5.
 83. Abozahra R, El-Kholy MA, Baraka K. Virulence genotyping of drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Egypt using multiplex PCR. *Gene Reports*. 2021 Mar 1;22:101000.
 84. Rad ZR, Rad ZR, Goudarzi H, Goudarzi M, Alizade H, Hematian A, et al. Detection of New Delhi Metallo- β -lactamase-1 among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from adult and Pediatric patients in Iranian hospitals. *Gene Reports*. 2021 Jun 1;23:101152.

85. Tchakal-Mesbahi A, Metref M, Singh VK, Almpani M, Rahme LG. Characterization of antibiotic resistance profiles in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients. *Burns* [Internet]. 2021 Mar 17 [cited 2021 Jul 29];12(1):15–22. Available from: https://www.mendeley.com/catalogue/563c3a31-1ae2-3f1c-b5b6-0be19bbc70a6/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7Bca78cba7-035a-3cca-86db-be52f38cd985%7D
86. Mkwata HM, Omoregie AI, Nissom PM. Lytic bacteriophages isolated from limestone caves for biocontrol of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2021 Jul 1;34:102011.
87. Ali KM, Al-Jaff BMA. Source and antibiotic susceptibility of gram-negative bacteria causing superficial incisional surgical site infections. *Int J Surg Open*. 2021 Mar 1;30:100318.
88. Lim WY, Tan GSE, Htun HL, Phua HP, Kyaw WM, Guo H, et al. First nosocomial cluster of COVID-19 due to the Delta variant in a major acute care hospital in Singapore: investigations and outbreak response. *J Hosp Infect*. 2022 Apr 1;122:27–34.
89. Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs Context* [Internet]. 2018 [cited 2022 Mar 31];7:212527. Available from: [/pmc/articles/PMC5978525/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30978525/)
90. Almangour TA, Alruwaili A, Almutairi R, Alrasheed A, Alhifany AA, Eljaaly K, et al. Aerosolized plus intravenous colistin vs intravenous colistin alone for the treatment of nosocomial pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A retrospective cohort study. *Int J Infect Dis*. 2021 Jul 1;108:406–12.

8. Anexos

Anexo 1: Clasificación de las carbapenemasas según Ambler y el de Bush-Jacoby-Medeiros con los diferentes inhibidores

Grupo Bush-Jacoby	Clase molecular Subclase	Resistencia a	Inhibido por		Principales Características
			A. clavulánico	EDTA	
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de bencilpenicilina
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada hacia ceftazidima y otros oximino-beta-lactámicos
2b	A	penicilina cefalosporinas	Si	No	Hidrólisis similar de bencilpenicilinas y de cefalosporinas
2be	A	cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	Si	No	Hidrólisis incrementada hacia ceftazidima y otros oximino-beta-lactámicos cefotaxima, ceftazidima
2br	A	Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam
2ber	A	cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	No	No	Hidrólisis incrementada hacia oximino betalactámicos combinados con resistencia a AC, sulbactam y tazobactam

2c	A	carbenicilinas	Si	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina
2ce	A	carbenicilinas	Si	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina, cefepime y cefpirome
2d	D	cloxacilina	Variabl e	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina
2de	D	cefalosporinas de espectro extendido	Variabl e	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y oximino-beta-lactámicos
2df	D	carbapenemes	Variabl e	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y carbapenems
2e	A	cefalosporinas de espectro extendido	Si	No	Hidrólisis de cefalosporinas. Inhibido por ácido clavulánico pero no por aztreonam
2f	A	carbapenemes	Variabl e	No	Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino-betalactámicos, cefamicinas
3a	B	carbapenemes	No	Si	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams
3a	B	carbapenemes	No	Si	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams
3b	B	carbapenemes	No	Si	Hidrólisis preferente de carbapenems