

# Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas

## Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria

José David Tafur<sup>1</sup>, Julián Andrés Torres<sup>1</sup>, María Virginia Villegas<sup>1</sup>

### Resumen

Las infecciones por bacterias Gram negativas son muy prevalentes en pacientes hospitalizados, especialmente en las unidades de cuidados intensivos. La multirresistencia representa un reto terapéutico que deja pocas posibilidades para el tratamiento de estas infecciones. Los mecanismos que utilizan las bacterias para defenderse de los antibióticos están en constante evolución. Esta revisión describe los mecanismos de resistencia más frecuentemente utilizados por estas bacterias, haciendo énfasis en los antibióticos betalactámicos.

**Palabras clave:** bacterias Gram negativas, mecanismos de resistencia, carbapenemasas, beta-lactamasas, bombas de salida, porinas.

### Abstract

Infections caused by Gram negative bacteria are highly prevalent in hospitalized patients, especially in intensive care units. Multidrug resistant strains represent a therapeutic challenge, leaving very few possibilities for the treatment of such infections. The mechanisms that this bacteria use to defend themselves from antibiotics are constantly evolving. This review describes the most frequently used mechanisms of resistance by these germs, emphasizing on beta-lactam antibiotics.

**Key words:** Gram negative bacteria, resistance mechanisms, Beta-lactamase, porins.

---

1. Centro Internacional de Investigaciones Médicas, CIDEIM, Cali, Colombia

---

**Correspondencia:** José David Tafur,  
Centro Internacional de Investigaciones Médicas,  
CIDEIM, Av 1 # 3 – 03, Cali, Colombia.  
Teléfono 6682164 jtafur@cideim.org.co

**Fecha de recibido:** 15/04/2008. **Fecha de aceptación:** 03/07/2008

La resistencia bacteriana continúa en aumento y representa serios retos para el tratamiento de infecciones tanto adquiridas en la comunidad como en los hospitales. Se calcula que entre el 50% y el 60% de más de dos millones de infecciones hospitalarias en los Estados Unidos son causadas por bacterias resistentes, y que son responsables de cerca de 77.000 muertes por año<sup>1-3</sup>.

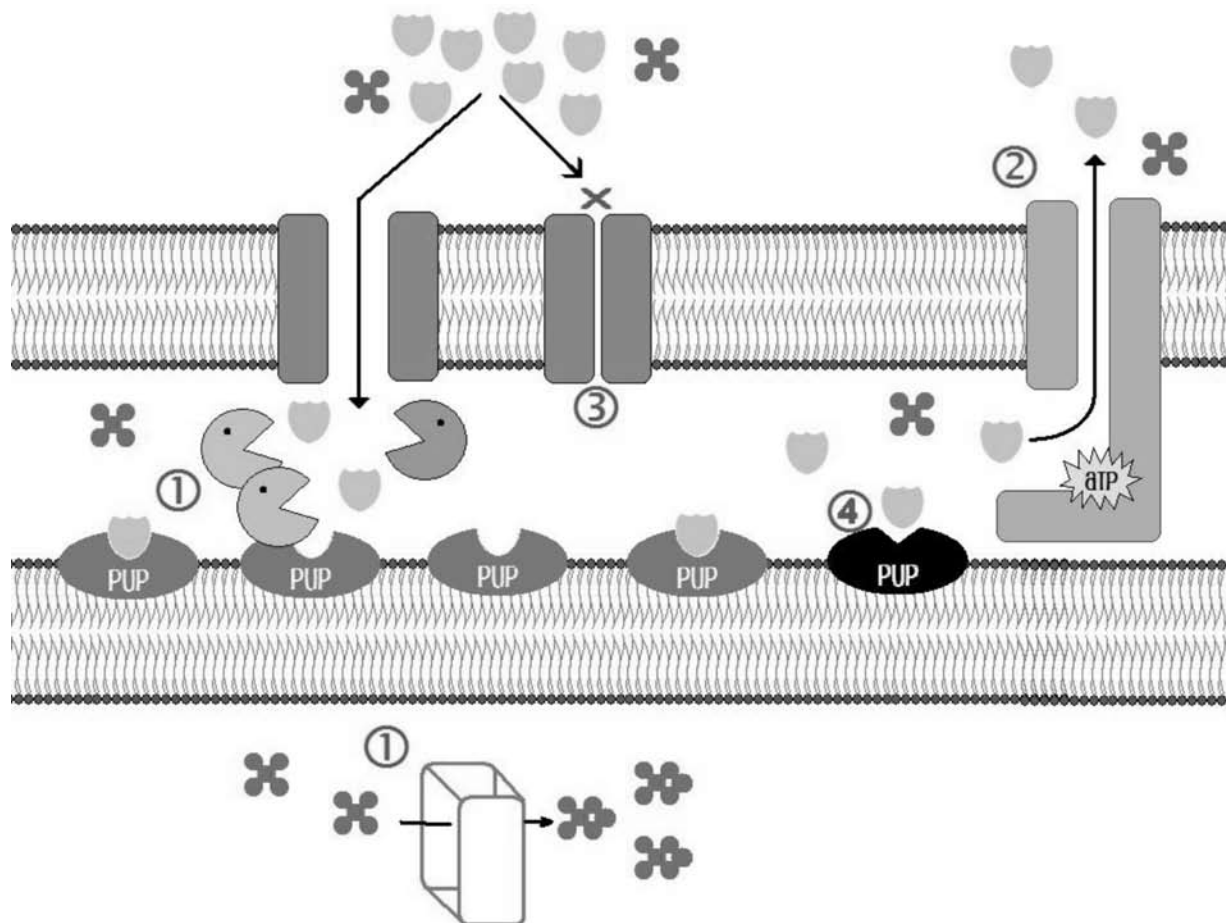
Teniendo en cuenta que las bacterias Gram negativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, es importante conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes en las

bacterias Gram negativas.

Estos mecanismos de resistencia podrían resumirse en cuatro categorías (figura 1):

**1. Modificación enzimática del antibiótico:** las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Las  $\beta$ -lactamasas son las más prevalentes. Son proteínas capaces de hidrolizar el anillo  $\beta$ -lactámico que poseen los antibióticos de esta familia. De igual forma, las enzimas modificadoras de los aminoglucósidos son capaces de modificar estos antibióticos mediante reacciones de acetilación, adenilación y fosforilación<sup>4</sup>.

Figura 1. Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos. 1. Enzimas modificadoras. 2. Bombas de salida. 3. Cierre de porinas. 4. Proteínas unidoras de penicilinas.



**2. Bombas de salida:** operan tomando el antibiótico del espacio periplásmico y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción. Este mecanismo es frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas<sup>5</sup>.

**3. Cambios en la permeabilidad de la membrana externa:** las bacterias pueden generar cambios de la bicapa lipídica, aunque la permeabilidad de la membrana se ve alterada, principalmente, por cambios en las porinas. Las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico<sup>5</sup>.

**4. Alteraciones del sitio de acción:** las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Este mecanismo es, principalmente, utilizado por las bacterias Gram positivas, las cuales generan cambios estructurales en los sitios de acción de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas<sup>6</sup>.

### Modificación enzimática del antibiótico

Debido a que el mecanismo de resistencia más prevalente en las bacterias Gram negativas a los antibióticos es la producción de  $\beta$ -lactamasas, es importante mencionar las más prevalentes.

#### $\beta$ -lactamasas

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos tienen en común su estructura molecular con un anillo  $\beta$ -lactámico, el cual es responsable en gran parte

de su acción antimicrobiana. Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas capaces de romper este anillo e inactivar estos antibióticos. Las  $\beta$ -lactamasas son ubicuas de las bacterias Gram negativas y representan una forma importante de resistencia. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos, lo cual permite su fácil transferencia entre diferentes bacterias, lo que representa un gran reto para el control de las infecciones.

*$\beta$ -lactamasas* tipo *AmpC*. Estas enzimas se han encontrado codificadas por cromosomas en una amplia variedad de bacterias Gram negativas; algunas de ellas son fáciles de recordar utilizando la mnemotecnica AMPCES (*Aeromonas* spp., *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. (índol positivo), *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp. y *Serratia* spp.). También se ha encontrado AmpC mediada por plásmidos en *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp., especies que no tienen naturalmente expresión de AmpC cromosómico<sup>7,8</sup>. Las  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC hidrolizan generalmente a las cefalosporinas de espectro reducido, cefalosporinas de tercera generación, aztreonam e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas.

Las bacterias con AmpC cromosómico, bajo condiciones normales, producen esta enzima en bajas cantidades sin alterar significativamente la sensibilidad a las cefalosporinas de tercera generación. Sin embargo, pueden ocurrir mutaciones espontáneas (a una tasa de  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$ ) en los genes que regulan la producción de AmpC, lo cual lleva a la producción constitutiva de esta enzima, en suficiente cantidad como para hidrolizar los antibióticos antes mencionados<sup>9,10</sup>. Las bacterias que ya no regulan la producción de AmpC, pueden ser seleccionadas durante la terapia

con cefalosporinas de tercera generación y pueden acumularse en la microflora hospitalaria. Diferentes estudios han demostrado prevalencias de aislamientos de *Enterobacter* spp. de este tipo entre 29,5% y 50%<sup>11,12</sup> lo cual se asocia al uso de cefalosporinas de tercera generación<sup>13</sup>.

***β-lactamasas de espectro extendido (BLEE)***. Las BLEE han sido reportadas en múltiples especies de bacterias Gram negativas. *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli* son los géneros más frecuentemente implicados. Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas (como las cefalosporinas de tercera generación), el aztreonam, las penicilinas y las cefalosporinas de espectro reducido. Por el contrario, son incapaces de hidrolizar cefamicinas (cefotaxima y cefotetán) y carbapenem. Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam, lo cual las diferencia de las  $\beta$ -lactamasas tipo AmpC. Se han descrito varias familias de BLEE, y las más prevalentes son las TEM, SHV y CTX-M<sup>9</sup>. La mayoría de BLEE se ha originado por medio de mutaciones espontáneas de  $\beta$ -lactamasas de espectro reducido, por cambios en los aminoácidos en su sitio activo, lo que permite ampliar su capacidad hidrolítica. En la práctica, la presencia de cualquier tipo de infección moderada a seria por una bacteria productora de BLEE debe llevar al clínico a considerarla como resistente a las cefalosporinas de amplio espectro y a los monobactámicos.

Usualmente, las BLEE tipo TEM y SHV hidrolizan a ceftazidime con mayor eficiencia que a ceftriaxona o cefotaxime, mientras que las CTX-M, usualmente, hidrolizan cefotaxime y ceftriaxona más rápidamente que ceftazidime; de esta manera, los laboratorios que tamizan con ceftazidime o ceftriaxona solamente, po-

drían no detectar estas BLEE, lo cual obliga a todo laboratorio de microbiología a tamizar simultáneamente con ceftazidime y ceftriaxona (o cefotaxime) para detectar cualquiera de estas BLEE. La CTX-M también hidroliza cefepime con gran eficiencia y las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) son mayores que las observadas en otros productores de BLEE<sup>14,15</sup>.

Otras familias de BLEE son PER, VEB-1 y BES-1, las cuáles son menos prevalentes en el mundo que las previamente descritas<sup>16</sup>.

Una característica importante de las BLEE es que son mediadas por plásmidos, lo cual les confiere una increíble capacidad de diseminación entre diferentes especies. Además, en el mismo plásmido que porta los genes de BLEE, pueden encontrarse genes que codifican resistencia para aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim/sulfametoxazol, lo cual puede contribuir a la resistencia de múltiples antibióticos. La resistencia concomitante a quinolonas es multifactorial y depende de alteraciones en la topoisomerasa, bombas de salida y algunas proteínas mediadas por plásmidos<sup>17</sup>.

***Carbapenemasas***. Este grupo de enzimas hidroliza hasta los carbapenems. Pueden estar codificadas en el cromosoma bacteriano o estar presentes en elementos genéticos móviles. Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: carbapenemasas de serina (incluidas en la clasificación molecular de Ambler, clases A y D) y metalo- $\beta$ -lactamasas, MBL (Ambler, clase B), denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Aunque las carbapenemasas fueron inicialmente consideradas poco frecuentes, los recientes reportes en la literatura han generado preocupación entre los clínicos y los grupos de investigación por el reto terapéutico que representan y por su impacto en el desenlace clínico de los pacientes, ya que la resistencia a los car-

bapenems implica resistencia a otros  $\beta$ -lactámicos<sup>18,19</sup>. Un fenotipo que puede ayudar a la detección de carbapenemasas tipo MBL, es la resistencia a todos los  $\beta$ -lactámicos, excepto a aztreonam. En el caso de las carbapenemasas de serina, no existe un fenotipo característico y su identificación constituye actualmente un reto en los laboratorios de microbiología.

Se han identificado carbapenemasas de serina en Enterobacteriaceas y en *Acinetobacter* spp. En Enterobacteriaceas se han descrito algunos ejemplos de enzimas clase A, como NMC-A, SME-1-3, KPC 1-4, IMI-1 y GES-2<sup>20</sup>. Las enzimas tipo KPC se han descrito clásicamente en *K. pneumoniae* y en algunas Enterobacteriaceas alrededor del mundo<sup>21-27</sup>. Sin embargo, en Colombia, el grupo de resistencia bacteriana en Gram negativos identificó, por primera vez en el mundo, esta enzima por fuera de la familia de las Enterobacteriaceas en un aislamiento de *P. aeruginosa* en el 2007<sup>28</sup>. En *Acinetobacter* spp. se han identificado carbapenemasas de serina clase D (OXA 23-27, OXA 40 y OXA 58), la mayoría de las cuales son adquiridas por transposones o plásmidos e identificadas en aislamientos de diferentes partes del mundo<sup>29</sup>. Aunque su actividad hidrolítica es mucho menor que el de las metaloenzimas, su mayor frecuencia en *Acinetobacter* spp. las hace importantes. Son enzimas capaces de hidrolizar las penicilina, las cefalosporinas de primera generación y débilmente los carbapenems; no hidrolizan las cefalosporinas de tercera generación ni el aztreonam. Debido a su baja actividad contra los carbapenems, las carbapenemasas tipo OXA son capaces de conferir resistencia a los carbapenems cuando la bacteria expresa algún otro mecanismo de resistencia, como el cierre de porinas y la expresión exagerada de bombas de salida<sup>20</sup> (ver más adelante). En Colombia se reportó la primera OXA-23 en *A. baumannii* en el 2007<sup>29,30</sup>.

Las MBL requieren, generalmente, zinc como cofactor. Estas enzimas generan resistencia en un amplio rango de bacterias Gram negativas, incluso en la familia Enterobacteriaceae, como *Serratia marcescens*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* y *E. coli*<sup>31</sup>, pero también en *Bacillus cereus*, *Aeromonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. Las principales familias de las MBL son las IMP y las VIM, las cuales, a pesar de su baja similitud en secuencia de aminoácidos, comparten características hidrolíticas muy afines. La información genética de las MBL es usualmente transportada en integrones en asociación con casetes genómicos, los cuales, generalmente, incluyen información para enzimas modificadoras de aminoglucósidos<sup>32</sup>. Las SIM, SPM y GIM son otras de las familias de MBL. Dentro de las MBL, se han reportado brotes, especialmente en *P. aeruginosa* portadora de VIM en Estados Unidos, Europa y Suramérica. En Colombia se ha encontrado la VIM-8 y VIM-2 en *P. aeruginosa*<sup>33-36</sup>.

### Otras enzimas modificadoras

Además de las  $\beta$ -lactamasas, existen otras enzimas responsables de la aparición de resistencia contra los antimicrobianos, como son las metilasas, acetil-transferasas, nucleotidil-transferasas y fosfotransferasas que inactivan, especialmente, los aminoglucósidos. De este grupo, vale la pena mencionar a la acetil-transferasa AAC (6')-Ib y a las 16S rARN metilasas las cuales confieren resistencia a varios aminoglucósidos, inclusive kanamicina, amikacina y tobramicina<sup>37</sup>. Un hallazgo reciente es que esta enzima puede generar también resistencia contra las fluoroquinolonas, antibióticos sintéticos no relacionados con los aminoglucósidos<sup>38</sup>. Recientemente se han reportado como mecanismos de resistencia asociados las proteínas Qnr y la bomba de salida QepA

(discutidos más adelante). Las metilasas 16S rARN han emergido como un potente mecanismo de resistencia a todos los aminoglucósidos usados actualmente y se han descrito en miembros de la familia Enterobacteriaceae, así como también en no fermentadores, como *A. baumannii* y *P. aeruginosa*. Los genes responsables de la producción de estas metilasas por las bacterias se han encontrado en plásmidos que portan otros genes de resistencia, lo cual lleva a patrones multirresistentes en bacterias Gram negativas<sup>39</sup>.

### Bombas de salida

Las bombas de salida han sido reconocidas por muchos años y están presentes en cada célula. Su popularidad ha venido en aumento concomitantemente con la creciente evidencia que las implica como responsables de resistencia contra antimicrobianos, no sólo en bacterias, sino también en otros patógenos comunes como los parásitos (*Plasmodium* spp., por ejemplo). Se encuentran en la membrana externa de la célula y expulsan hacia el exterior de la bacteria gran cantidad de moléculas, entre ellas, metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos. Para ello, utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato energético. El principal papel de este mecanismo es mantener bajas las concentraciones de sustancias tóxicas dentro de la célula.

Las bombas de salida pueden ser específicas para un fármaco (generalmente, codificadas en plásmido y, por lo tanto, transmisibles) o inespecíficas (generalmente expresadas en el cromosoma bacteriano). Si se aumenta la expresión de una bomba inespecífica, puede generarse resistencia cruzada a múltiples clases de fármacos empleándose un solo mecanismo<sup>40</sup>.

Usualmente, las bombas de salida causan pequeños aumentos en las CIM; sin embargo, cuando aparecen simultáneamente varios mecanismos de resistencia, se produce una resistencia clínicamente evidente. De esta manera, las bombas de salida, el cierre de porinas, las mutaciones en los sitios de acción y las enzimas hidrolíticas trabajan armónicamente para defender la bacteria de antibiótico y, por lo tanto, de su muerte.

Estos transportadores se pueden clasificar en seis familias: La familia ABC (*ATP binding cassette*), MF (*major facilitator*), MATE (*multidrug and toxic efflux*), RND (*resistance nodulation division*), SMR (*small multidrug resistance*) y DMT (*drug/metabolite transporter superfamily*)<sup>41-43</sup>. En *A. baumannii* la resistencia mediada por bombas de salida, generalmente, se asocia a las familias RND y MFS. Por otro lado, el sistema de salida RND más frecuentemente encontrado en *P. aeruginosa* es MexAB-OprM. Su papel es crucial en la resistencia intrínseca de esta bacteria a antibióticos utilizados clínicamente como los  $\beta$ -lactámicos (excepto imipenem), fluoroquinolonas, tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol, novobiocina y trimetoprim. La MexXY-OprM es otra bomba muy importante, ya que es responsable de la expulsión de múltiples antibióticos, en especial, los aminoglucósidos; recientemente se ha asociado con resistencia al cefepime; sin embargo, no tiene acción contra cefalosporinas de tercera generación, como el ceftazidime<sup>44</sup>.

Nuevos reportes han demostrado bombas de salida Ade-ABC, de la familia RND involucrados en la disminución de la susceptibilidad a tigeciclina. Además, por técnicas de biología molecular se ha encontrado que durante la exposición *in vitro* a tigeciclina, los aislamientos de *A. baumannii* pueden aumentar hasta 54 veces la expresión de esta bomba<sup>45</sup>.

## Cierre o pérdida de porinas

Las porinas son canales embebidos en la membrana externa de las bacterias Gram negativas que trabajan como filtros en una membrana permeable. Además de otras funciones vitales, estas moléculas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos deben penetrar a través de estos canales; cuando se pierde una porina por mutaciones, aumentan las CIM para el antibiótico. Las porinas pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar. En *P. aeruginosa*, los carbapenems, como el imipenem y el meropenem, utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con carbapenems, lo que lleva a una resistencia<sup>46,47</sup>. El meropenem es menos dependiente que el imipenem del paso por esta porina; algunos aislamientos resistentes a imipenem, pueden permanecer, entonces, sensibles al meropenem. Por otro lado, el meropenem puede ser expulsado por bombas de salida, lo cual no es el caso del imipenem. Simplificando, la resistencia al imipenem es más dependiente del cierre de porinas y la resistencia al meropenem, de las bombas de salida.

## Alteraciones del sitio de acción

El cambio en la estructura terciaria del sitio donde los antibióticos ejercen su acción es el otro mecanismo de resistencia. Los sitios de acción se pueden encontrar en diferentes componentes bacterianos que involucran actividades celulares vitales (figura 3). En el caso de la síntesis de la pared celular, las proteínas unidoras de penicilinas son las responsables de la transpeptidación, proceso fundamental para la estabilidad de la pared celular. Todos los  $\beta$ -lactámicos tienen como blanco las proteínas unidoras de penicilinas, que llevan a la lisis de

la pared celular. Las alteraciones estructurales secundarias a mutaciones pueden disminuir la afinidad de los  $\beta$ -lactámicos por las proteínas unidoras de penicilinas al permitir que la bacteria continúe con su pared indemne y sobreviva. Este mecanismo es el más importante para las bacterias Gram positivas, especialmente, *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Para las bacterias Gram negativas, esta estrategia es menos frecuente.

Otro sitio de acción de los antibióticos es la síntesis de proteínas. Este proceso puede inhibirse al atacar los componentes nucleares de la replicación del ADN y la transcripción del ARN. Por ejemplo, las quinolonas inhiben la topoisomerasa, enzima encargada del desdoblamiento del ADN para su replicación. Asimismo, la síntesis de proteínas, llevada a cabo en los ribosomas, puede ser inhibida por fármacos como los aminoglucósidos, las tetraciclinas, la clindamicina, los macrólidos y el cloranfenicol. Las alteraciones en el sitio de unión de los medicamentos ocasionan resistencia por parte de la bacteria. La resistencia a las quinolonas ha venido en aumento y se cree que, en parte, puede explicarse por su amplio uso en la industria alimentaria y en la industria avícola<sup>48</sup>. Usualmente, se debe a alteraciones cromosómicas, aunque recientemente se ha asociado a genes transmitidos por plásmidos<sup>49</sup>. Se han encontrado genes tipo *qnrA*, *qnrB* y *qnrS* en plásmidos, cuyos productos bloquean la acción de la ciprofloxacina sobre la girasa y la topoisomerasa IV del ADN<sup>50,51</sup>. Los genes *qnr* se han encontrado en diferentes partes del mundo y su diseminación es un tema de preocupación en los Estados Unidos. En Colombia existen tasas de resistencia a ciprofloxacina en *E. coli* de alrededor de 50%, lo cual se encuentra muy por encima de lo reportado en los Estados Unidos; los mecanismos causantes aún no se han elucidado.

Figura 2. Clasificación de las carbapenemasas

\*\* KPC-2 recientemente descrita en *P. aeruginosa*

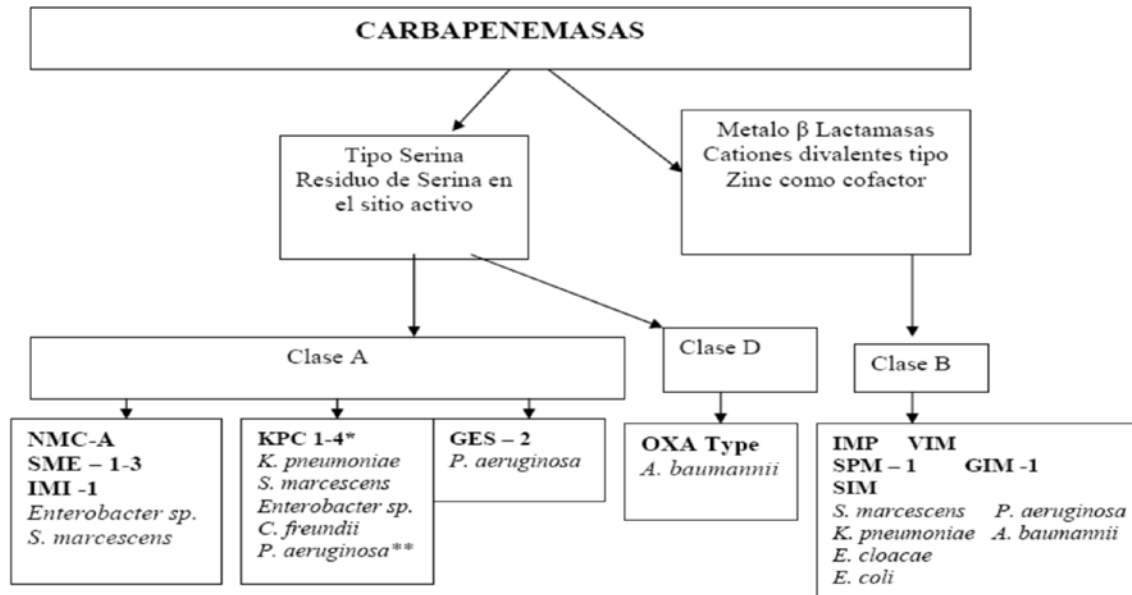
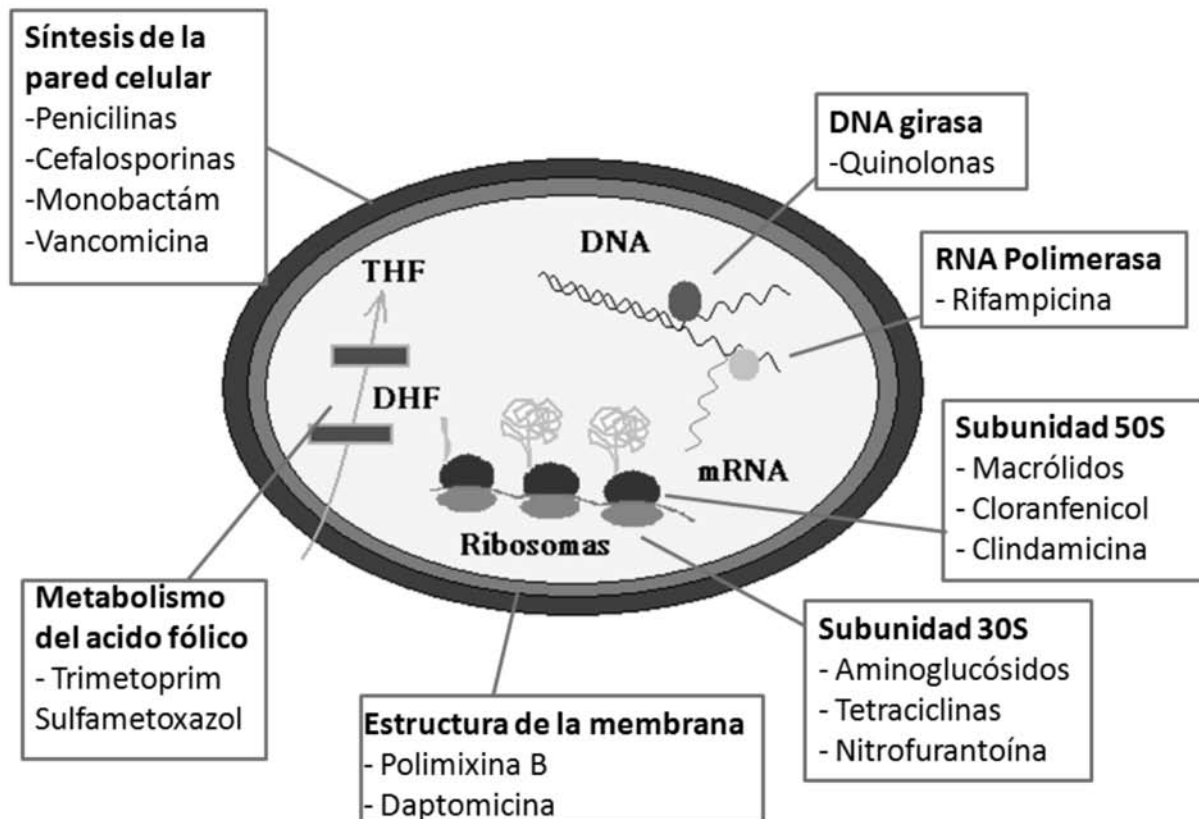


Figura 3. Sitios de acción de los antibióticos





## Comentario

El uso irracional de los antibióticos y la falta de conocimiento de los mecanismos de resistencia de las bacterias han llevado a una disminución acentuada de las opciones terapéuticas en los hospitales y en la comunidad.

Debido a la falta de nuevos antibióticos capaces de vencer estos mecanismos de resistencia, el desarrollo de campañas educativas y protocolos encaminados a orientar el adecuado uso de antibióticos, es muy importante para preservar los pocos antibióticos con los que contamos.

## Conflictos de interés

María Virginia Villegas ha trabajado como asesora y conferencista de AstraZéneca, Bristol Myers Squibb, Merck Sharp & Dohme, Pfizer y Wyeth.

## Referencias

1. Jones RN. Global aspects of antimicrobial resistance among key bacterial pathogens. Results from the 1997-1999 SENTRY Antimicrobial Program. *Clin Infect Dis*. 2001;32:S-1-S156.
2. Jones RN. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. *Chest*. 2001;119(Suppl.2):397S-404S.
3. Livermore DM. The threat from the pink corner. *Ann Med*. 2003;35:226-34.
4. Livermore DM. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis*. 1991;78(Suppl.):7-16.
5. Vila J, Marti S, Sanchez-Cespedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:1210-5.
6. Cavaco LM, Frimodt-Moller N, Hasman H, Guardabassi L, Nielsen L, Aarestrup FM. Prevalence of quinolone resistance mechanisms and associations to minimum inhibitory concentrations in quinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from humans and swine in Denmark. *Microb Drug Resist*. 2008;14:163-9.
7. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med*. 2005;352:380-91.
8. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1-11.
9. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8:557-84.
10. Hanson ND, Sanders CC. Regulation of inducible AmpC beta-lactamase expression among Enterobacteriaceae. *Curr Pharm Des*. 1999;5:881-94.
11. Kim J, Lim YM. Prevalence of derepressed ampC mutants and extended-spectrum beta-lactamase producers among clinical isolates of *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., and *Serratia marcescens* in Korea: dissemination of CTX-M-3, TEM-52, and SHV-12. *J Clin Microbiol*. 2005;43:2452-5.
12. Pai H, Hong JY, Byeon JH, Kim YK, Lee HJ. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains among blood isolates of *Enterobacter* spp. collected in a tertiary hospital during an 8-year period and their antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3159-61.
13. Jones RN. Important and emerging beta-lactamase-mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp C enzymes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998;31:461-6.
14. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, et al. Extended-spectrum beta-lactamases

in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3554-60.

15. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:657-86.

16. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl.1):42-52.

17. Martinez-Martinez L. Association of ESBL with other resistance mechanisms. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(Suppl.2):38-47.

18. Rice LB. Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis.* 2006;43(Suppl.2):S100-5.

19. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* 2007;2:501-12.

20. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect.* 2002;8:321-31.

21. Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:776-8.

22. Miriagou V, Tzouveleki LS, Rossiter S, Tzelepi E, Angulo FJ, Whichard JM. Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:1297-300.

23. Naas T, Nordmann P, Vedel G, Poyart C. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4423-24.

24. Smith ME, Hanson ND, Herrera VL, Black JA, Lockhart TJ, Hossain A *et al.* Plasmid-mediated, carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51:711-4.

25. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, *et al.* First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2880-2.

26. Woodford N, Tierno PM, Jr., Young K, Tysall L, Palepou MF, Ward E, *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:4793-9.

27. Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK, Biddle JW, Dome-

nech-Sanchez A, Alberti S, *et al.* Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3881-9.

28. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing {beta}-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:1553-5.

29. Kattan JN, Guzman AM, Correa A, Reyes S, Lolans K, Woodford N, *et al.* Evidence for widespread dissemination of OXA-23-like carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in Colombia. Abstracts, American Society for Microbiology's 46th Annual International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAACTM), San Francisco; 2006. Abstract C2-598.

30. Villegas MV, Kattan JN, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, *et al.* Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007.

31. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:306-25.

32. Poirel L, Nordmann P. Acquired carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases and their genetic support. *Curr Pharm Biotechnol.* 2002;3:117-27.

33. Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, Kaufmann ME, Turton J, Glover J, *et al.* Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. *J Clin Microbiol.* 2004;42:5094-101.

34. Villegas MV, Lolans K, del Rosario OM, Suarez CJ, Correa A, Queenan AM, *et al.* First detection of metallo-beta-lactamase VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:226-9.

35. Cornaglia G, Mazzariol A, Lauretti L, Rossolini GM, Fontana R. Hospital outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1, a novel transferable metallo-beta-lactamase. *Clin Infect Dis.* 2000;31:1119-25.

36. Lolans K, Queenan AM, Bush K, Sahud A, Quinn JP. First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo-beta-lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3538-40.

37. Dery KJ, Soballe B, Witherspoon MS, Bui D, Koch R, Sherratt DJ, *et al.* The aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase type Ib encoded by Tn1331 is evenly distributed within the cell's cytoplasm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:2897-902.

38. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis.* 2006;6:629-40.

39. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation:

emerging resistance mechanism against aminoglycosides. Clin Infect Dis. 2007;45:88-94.

40. Depardieu F, Podglajen I, Leclercq R, Collatz E, Courvalin P. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. Clin Microbiol Rev. 2007;20:79-114.

41. Jack DL, Yang NM, Saier MH, Jr. The drug/metabolite transporter superfamily. Eur J Biochem. 2001;268:3620-39.

42. Poole K. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. Curr Pharm Biotechnol. 2002;3:77-98.

43. Vila J, Marti S, Sanchez-Cespedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother. 2007.

44. Hocquet D, Nordmann P, El GF, Cabanne L, Plesiat P. Involvement of the MexXY-OprM efflux system in emergence of cefepime resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:1347-351.

45. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:2065-9.

46. Kohler T, Michea-Hamzehpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:424-7.

47. Quale J, Bratu S, Gupta J, Landman D. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:1633-41.

48. Endtz HP, Ruijs GJ, van KB, Jansen WH, van der RT, Mouton RP. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. J Antimicrob Chemother. 1991;27:199-208.

49. Wang M, Sahn DF, Jacoby GA, Hooper DC. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the qnr gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:1295-9.

50. Tran JH, Jacoby GA. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:5638-42.

51. Tran JH, Jacoby GA, Hooper DC. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein QnrA with *Escherichia coli* topoisomerase IV. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:3050-2.