



La resistencia bacteriana: estrategias para la optimización de la terapia antimicrobiana

Claudia Leticia Mendoza Macías

Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato,
Universidad de Guanajuato

* e-mail: cl.mendoza@ugto.mx

Resumen

En el siglo XX el descubrimiento de los antibióticos se convirtió en la solución a las múltiples enfermedades producidas por agentes infecciosos. Las bacterias como todos los seres vivos exhiben mecanismos biológicos, que las facultan para adecuarse a diversas presiones ambientales. Aunque la resistencia a los antibióticos es una expresión natural de la evolución y genética bacteriana, ciertos factores también contribuyen al aumento de la expresión y diseminación de esta característica inherente. El incremento en el uso de antibióticos y la respectiva presión selectiva que ejercen es el factor más importante que contribuye a la aparición de diversas clases de resistencia bacteriana.

En los últimos sesenta años se ha hecho notorio el impacto de la respuesta de estos microorganismos a la presión selectiva que ejercen los compuestos quimio-terapéuticos más utilizados en los brotes de infecciones en los hospitales del mundo.

Los Microorganismos Multi-Resistentes actualmente son un problema en las Unidades de Críticos como es el caso de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y bacilos Gram negativos no fermentadores (*Pseudomonas aeruginosa*). El reciente aumento en el medio comunitario de SARM y de enterobacterias BLEE, principalmente *Escherichia coli*, está creando graves problemas adicionales de tratamiento.

A pesar de la incorporación de nuevas opciones terapéuticas en el mercado principalmente para Gram positivos, quedan pocas opciones para los Gram negativos, especialmente *P. aeruginosa*. Por lo anterior, la búsqueda de nuevas moléculas que puedan modular la resistencia antimicrobiana representaría una alternativa terapéutica ante la limitada disponibilidad de nuevos antimicrobianos.

Para el caso de derivados de N-alkil-bisarilmaleimidias, se ha observado que tienen efecto sobre sistemas de eflujo tanto en células eucariotas como en bacterias no patógenas, como lo es *Bacillus subtilis*, lo que potencialmente las ubicaría como moduladores de la resistencia a antimicrobianos en bacterias patógenas.

Palabras clave

Antimicrobianos, multiresistencia, N-alkil-bisarilmaleimidias, concentración mínima inhibitoria.



Abstract

In the 20th century, the discovery of antibiotics became the solution to the many diseases caused by infectious agents. Bacteria, like all living beings, exhibit biological mechanisms, which enable them to adapt to various environmental pressures. Although antibiotic resistance is a natural expression of bacterial evolution and genetics, certain factors also contribute to the increased expression and spread of this inherent trait. The increase in the use of antibiotics and the respective selective pressure they exert is the most important factor that contributes to the emergence of various classes of bacterial resistance.

In the last sixty years, the impact of the response of these microorganisms to the selective pressure exerted by the chemo-therapeutic compounds most used in outbreaks of infections in hospitals around the world has become noticeable.

Multi-Resistant Microorganisms are currently a problem in Critical Units such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), extended spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria (ESBL) and non-fermenting Gram-negative rods (*Pseudomonas aeruginosa*). The recent increase in the community environment of MRSA and ESBL Enterobacteriaceae, primarily *Escherichia coli*, is creating additional serious treatment problems.

Despite the incorporation of new therapeutic options on the market mainly for Gram positive ones, few options remain for Gram negative ones, especially *P. aeruginosa*. Therefore, the search for new molecules that can modulate antimicrobial resistance would represent a therapeutic alternative given the limited availability of new antimicrobials.

In the case of *N*-alkyl-bisarylmaleimide derivatives, it has been observed that they have an effect on efflux systems both in eukaryotic cells and in non-pathogenic bacteria, such as *Bacillus subtilis*, which would potentially place them as modulators of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria.



Introducción

La aparición de los antibióticos revolucionó la medicina al facilitar el tratamiento de la patología infecciosa. Su prometedor inicio se vio pronto amenazado por la rápida aparición de resistencias debido principalmente a su amplia y, en ocasiones, inadecuada utilización. En el ámbito hospitalario, las infecciones contraídas durante la estancia del paciente y/o en el personal del establecimiento son consideradas un problema de salud pública (Benenson, 1995). En estos casos la mayor complicación se presenta cuando el microorganismo responsable no responde a los tratamientos antimicrobianos disponibles, fenómeno que se conoce como resistencia bacteriana. A pesar de tratarse de un fenómeno natural hay suficiente evidencia para establecer una asociación directa entre el uso extenso e indiscriminado de los antibióticos y la aparición cada vez más frecuente de bacterias resistentes como resultado de una fuerte presión de selección (Lodoño, 2014).

El problema de la resistencia a los antibióticos es global y complejo e incluye un gran número de especies bacterianas de importancia médica y es de difícil control por su multicausalidad. El consumo masivo de antibióticos en los últimos 50 años ha creado un ambiente favorable a la selección de bacterias que soportan los efectos tóxicos de los antimicrobianos (Rodríguez-Noriega y col., 2010).

Resistencia bacteriana

La resistencia a los antimicrobianos puede ser definida como una “*condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte*

de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antimicrobiano” (Philipon y col., 1990).

La resistencia a múltiples fármacos (MDR) es un problema de salud pública que se observa a nivel mundial ligado al uso de los antibióticos. Durante los últimos veinte años el uso indiscriminado de antibióticos ha hecho que las bacterias a través de mecanismos bioquímicos, genéticos-moleculares y celulares desarrollen estrategias intrínsecas y adquiridas, que les permiten evadir con efectividad la acción de estos compuestos (Linares-Rodríguez y col., 2005).

Se pensaba que el descubrimiento o el diseño de nuevos antibióticos podría resolver el problema, es entonces cuando también aparecen nuevos mecanismos de resistencia difíciles de controlar y entonces surgen las bacterias que sobreviven a la presencia de más de un antibiótico, conocidas como multirresistentes (Amábile Amábile-Cuevas, 2010; Stell y col., 2012; Livermore, 2012).

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes, causan una amplia morbilidad y mortalidad sin mencionar el costo por estancia hospitalaria y complicaciones. Entre los diversos factores que han contribuido al incremento significativo de la aparición de resistencia bacteriana podemos mencionar la presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso terapéutico, la utilización generalizada de antimicrobianos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos, el uso de dosis o duración inadecuada y el desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los microorganismos aislados. La resistencia



Naturaleza y Tecnología
Junio-Agosto 2021
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

Edición especial, dedicado a Farmacia

bacteriana tiene una base genética intrínseca y una adquirida (Wilke, 2010).



Resistencia natural y adquirida

La resistencia natural es un carácter constante de cepas de una misma especie bacteriana y es un mecanismo permanente, determinado genéticamente y sin correlación con la dosis de antibiótico. Como ejemplos mencionar la resistencia que presenta *Proteus mirabilis* a las tetraciclinas por un proceso natural de expulsión del antibiótico, *Klebsiella pneumoniae* y su producción natural de beta-lactamasas que la vuelve resistente a las penicilinas (ampicilina y amoxicilina) y los bacilos Gram negativos aerobios resistentes a la clindamicina que carecen del sitio blanco para este antibiótico (Fernández-Riverón y col., 2003).

En cuanto a la resistencia adquirida, es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico y ha sido modificada genéticamente ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones). Son evolutivas y su frecuencia depende de la utilización de los antibióticos. En referencia a la mutación de un gen implicado en el mecanismo de acción de un antibiótico, podemos mencionar el ejemplo de la resistencia a las quinolonas por modificación de la DNA girasa en las enterobacterias, o las mutaciones generadas en los genes que codifican a las porinas que trae como consecuencia el bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo. Por otro lado, la adquisición de genes de resistencia a partir de una cepa perteneciente a una especie idéntica o diferente está dado por plásmidos, transposones e integrones y como ejemplo los genes asociados a bombas de eflujo (Fernández-Riverón y col., 2003). Algunos plásmidos y

transposones poseen elementos génicos denominados integrones que les permite capturar varios genes exógenos determinando la aparición de una cepa multirresistente (Mosquito y col., 2011).

Perfiles de resistencia adquirida

A través de una iniciativa del Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) se creó una terminología internacional estandarizada para describir perfiles de resistencia adquiridos en *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae* (excepto *Salmonella* y *Shigella*), *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*, todas estas bacterias a menudo responsables de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria y propensas a la resistencia a múltiples fármacos. La categoría MDR que se define como Resistencia Múltiple a Drogas (por sus siglas en inglés: Multi-Drug Resistance) incluye al aislado que no es susceptible al menos a un agente en 3 o más familias de antibióticos diferentes. La categoría XDR, es aquella Resistencia Extrema a Drogas (Xtreme-Drug Resistance) e incluye al aislado que no es susceptible al menos a un agente en todas excepto dos o menos familias de antibióticos diferentes y la categoría PDR, Pan-Resistencia a Drogas (por sus siglas en inglés: Pan-Drug Resistance) que incluye al aislado que no es susceptible a todos los agentes antibióticos (Hamers, 2008; Magiokaros y col., 2012).

Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia que han desarrollado algunos microorganismos son muy variados y van desde bombas de



flujo pertenecientes a las familias MF, SMR, MATE, RND y ABC, que disminuyen la concentración del antibiótico en el interior de la bacteria (Figura 1), hasta modificaciones y cambios en la molécula blanco o sitio al cual se une el antibiótico; también se presentan en algunos mecanismos de resistencia, variaciones de la membrana plasmática, que no permiten el paso del antibiótico y la creación de enzimas que hidrolizan el antibiótico volviéndolo inactivo (Giedraitien y col., 2011; Du y col., 2018).

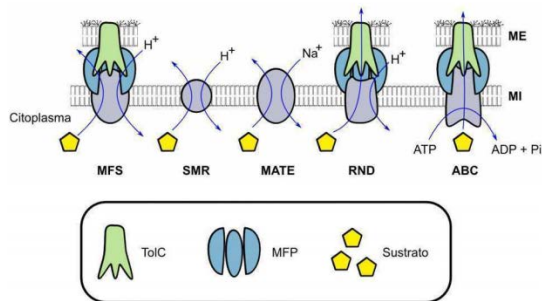


Figura 1. Esquemas representativos de las 5 superfamilias de transportadores caracterizadas. ME: membrana externa. MI: membrana interna (Nikaido y col., 2003).

Resistencia mediada por Bombas de eflujo

Una amplia variedad de bombas de eflujo provee resistencia antimicrobiana tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas. El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembranales (Figura 2). En el caso de las bacterias Gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas

forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula tan rápido como entra. Este mecanismo confiere resistencia a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, beta lactámicos, así como a los antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario utilizado para la limpieza de superficies (Giedraitien y col., 2011; Duet y col., 2018).

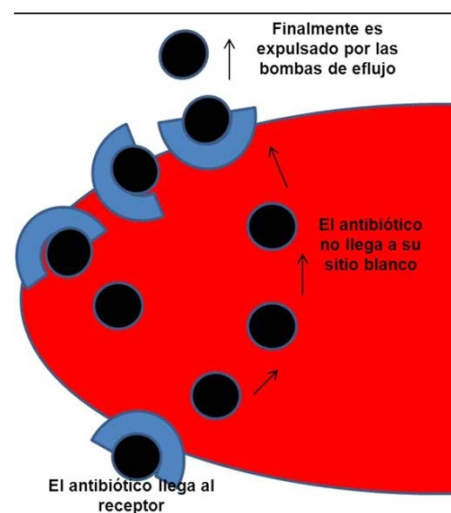


Figura 2. Bomba de eflujo expulsando el antimicrobiano confiriendo resistencia bacteriana (Tomado de Fernández-Riverón y col., 2003).

Las bombas de eflujo pueden ser específicas para un sustrato, o bien pueden transportar una amplia variedad de compuestos químicamente diferentes, incluyendo antimicrobianos de múltiples clases (de allí el término Multiple Drug Resistance: MDR). En este último caso las bombas pueden estar asociadas con múltiple resistencia antimicrobiana. Estas han resultado ser un grave problema en la



antibióticoterapia, ya que la presencia de bombas tipo MDR en una célula bacteriana puede implicar disminución de la susceptibilidad a un amplio rango de moléculas químicamente disímiles al mismo tiempo (Webber y col., 2003).

Reconocen un gran número de compuestos farmacológicos no relacionados entre sí, debido a que la identificación del sustrato está basada en las propiedades físico-químicas (hidrofobicidad, aromaticidad, capacidad de ligar hidrógeno y carácter ionizable) y no en propiedades químicas definidas, como ocurre en el caso de enzima-sustrato o reconocimiento de ligando-receptor (Van Bambeke y col., 2003).

El hecho de que los sistemas MDR sean ubicuos e intervengan en el bombeo de numerosos antibióticos los convierte en blancos ideales para la búsqueda de nuevos inhibidores bacterianos, que hagan que las bacterias que portan estos sistemas sean más sensibles a los antibióticos actualmente existentes en el repertorio clínico. Se ha demostrado que la inactivación de dichos sistemas mutantes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa* produce un descenso en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de distintos antibióticos (Okusu y col., 1996).

Importancia clínica de los sistemas de bombas de eflujo

La importancia clínica de estos sistemas se ve apoyada por observaciones que revelan la expresión aumentada de varios genes que codifican para estas bombas entre aislados clínicos de *S. aureus*, así como de cepas clínicas y de laboratorio después de ser expuestas a fluoroquinolonas, biocidas

y tintes. Además de las consecuencias clínicas potenciales de una susceptibilidad reducida a antibióticos, la sobreexpresión de estos genes también les confiere una ventaja teórica de supervivencia en el ambiente hospitalario. Esto es especialmente cierto en la presencia de residuos orgánicos, ya que este material es conocido por disminuir la actividad de los compuestos basados en amonio cuaternario, los cuales son utilizados comúnmente como desinfectantes en espacios hospitalarios (Lynch, 2006).

Estrategias para mejorar la efectividad de los antimicrobianos

La lucha contra la resistencia a los antibióticos reviste alta prioridad para la Organización Mundial de la Salud (OMS). La Asamblea Mundial de la Salud aprobó en mayo de 2015 un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a los antibióticos. Su finalidad es asegurar que se pueda seguir previniendo y tratando enfermedades infecciosas por medio de fármacos eficaces y seguros (Organización Mundial de la Salud, 2015). El plan de acción contiene cinco objetivos estratégicos, mejorar la sensibilización y los conocimientos en materia de resistencia a los antimicrobianos; reforzar la vigilancia y la investigación; reducir la incidencia de las infecciones; optimizar el uso de medicamentos antimicrobianos y asegurar que se realicen inversiones sostenibles en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos. A continuación, se mencionan las estrategias consideradas:

Uso racional de antimicrobianos. La OMS define como uso apropiado de los antimicrobianos el uso eficaz en relación con el costo de los antimicrobianos con el



cual se obtiene el máximo efecto clínico-terapéutico y simultáneamente se minimiza la toxicidad del medicamento y el desarrollo de resistencia microbiana (World Health Organization, 2001).

Búsqueda de nuevas moléculas con efecto antimicrobiano. La industria farmacéutica es la fuente principal de nuevos agentes antimicrobianos y métodos de prevención de enfermedades, incluidas las vacunas y terapias inmunomoduladoras novedosas. Es indispensable que se disponga de incentivos para que la industria invierta en investigación y desarrollo en esos rubros (World Health Organization, 2001).

Búsqueda de moléculas con efecto sobre sistemas de eflujo que puedan revertir el fenómeno de resistencia. La inhibición biológica de la actividad de eflujo es otra estrategia para inhibir la actividad de las bombas, puede ser mediante bloqueo de las proteínas responsables del eflujo por medio del uso de anticuerpos neutralizantes; o bien, bloqueando los genes correspondientes responsables de la expresión de estas (Kern y col., 2000). Inhibición farmacológica del eflujo: la inducción de una competencia por la bomba de eflujo es probablemente el mecanismo de acción más razonable de los inhibidores de bomba. La reserpina es el inhibidor más popular, aunque también se han descrito otras drogas con similares efectos como fenotiazinas, antagonistas de calcio, inhibidores selectivos de serotonina o bien, inhibidores de las bombas de protones (Van Bambeke y col., 2006).

Patógenos prioritarios de acuerdo con la OMS

Recientemente, la OMS publicó su primera lista de "patógenos prioritarios"

resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las doce familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. Esta lista se elaboró para tratar de guiar y promover la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos, como parte de las actividades de la OMS para combatir el creciente problema mundial de la resistencia antimicrobiana (World Health Organization, 2017).

La lista de la OMS se divide en tres categorías con arreglo a la urgencia en que se necesitan los nuevos antibióticos: el grupo de prioridad crítica incluye las bacterias multirresistentes que son especialmente peligrosas en hospitales, residencias de ancianos y entre los pacientes que necesitan ser atendidos con dispositivos como ventiladores y catéteres intravenosos; los niveles segundo y tercero de la lista, incluyen las categorías de prioridad alta y media que contienen otras bacterias que exhiben una farmacorresistencia creciente y provocan enfermedades comunes como la gonorrea o intoxicaciones alimentarias por salmonela (WHO, 2017).

Imidas cíclicas

La identificación y descubrimiento de inhibidores de bombas de eflujo seguros y eficaces es de gran importancia en la investigación clínica, debido al impacto que generan por su uso en el tratamiento de múltiples padecimientos en los que se presenta el fenotipo MDR. Dentro de los fármacos de origen sintético, existen diversas clases de compuestos orgánicos, de las cuales resaltan las imidas cíclicas (Reynolds y col., 1994).

Las imidas cíclicas son moléculas sintéticas obtenidas por la reacción entre ácido carboxílico y amoniaco. Contienen



un grupo (-CO-N(R)-CO-), siendo R un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un arilo y la mayoría de estos compuestos un sistema cíclico con menos de siete átomos de carbono (Hargreaves y col., 1970). Entre las principales subclases de imidas se encuentran las maleimidas, estos compuestos en los últimos años han atraído la atención de la comunidad científica, principalmente por sus propiedades terapéuticas y su implicación en la reversión del fenotipo MDR.

La maleimida es un aceptor conjugado altamente reactivo y se puede emplear eficientemente en reacciones selectivas con tioles, además de ser un excelente aceptor de Michael, poseen naturaleza dienofílica, también posee una reactividad como dipolarófilo en cicloadiciones 1,3 dipolares. Como resultado, es uno de los grupos funcionales más utilizados en la bio-conjugación. Estos compuestos raramente se encuentran en la naturaleza, generalmente el elemento maleimida se produce como parte estructural de otros compuestos naturales como por ejemplo, el antitumoral indolocarbazol, rebecamicina y la bisindolilmaleimida (Cano y Alvarado, 2015).

Los efectos biológicos de las maleimidas y compuestos relacionados han sido estudiados durante muchos años, estos compuestos han demostrado recientemente jugar un papel importante en la reversión del fenotipo MDR (Hargreaves y col., 1970).

En la búsqueda de nuevos fármacos inhibidores se desea que estas moléculas presenten características como la de reducir la resistencia intrínseca a los medicamentos, revertir la resistencia adquirida y reducir la aparición de nuevas

cepas resistentes (Lomovskaya y Bostian, 2006).

En un estudio realizado en el grupo de trabajo en tejido canceroso BT026-512N, el cual fue provisto por el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) de México, se llevó a cabo la evaluación biológica de compuestos maleimidicos (3,4-diarilmaleimidas) como moduladores de la actividad de bombas de eflujo sobre expresadas en células de tejido tumoral. El estudio demostró de manera general un incremento en la mortalidad celular de los cultivos cancerosos empleados para todas las maleimidas sintetizadas cuando se co-administran con doxorubicina, la cual es un agente antineoplásico de antraciclina utilizada para tratar una amplia variedad de tumores sólidos y hematógenos. La mortalidad más alta fue observada en un par de moléculas de maleimidas, las cuales incrementaron cerca de tres veces el efecto, comparado con el tratamiento utilizando solamente doxorubicina. Con base a reportes previos y con los resultados obtenidos en este estudio, se puede sugerir a la Pg-p, como blanco de acción de las maleimidas mediante la inhibición de la fosforilación de la cinasa, aunque es necesario de más experimentos para comprobar el efecto modulador de estos derivados maleimidicos (Gutiérrez-Cano y col., 2017).

Así mismo a través de un modelo desarrollado en el grupo de trabajo para el estudio de la inhibición de la bomba de eflujo Bmr en *B. subtilis*, se evaluó la actividad de moléculas derivadas de *N*-alquil-3,4-bisarilmaleimidas sobre el eflujo de distintos sustratos de la bomba de *B. subtilis*. Este estudio demostró que algunos de estos derivados pueden revertir



la resistencia de *B. subtilis* a Rodamina 6G, así como a ciprofloxacino en algunos aislados clínicos evaluados, sugiriendo que pudieran tener actividad en revertir el fenómeno de resistencia en bacterias patógenas con fenotipo MDR (Mendoza-Macias y col., 2019)

En la actualidad, uno de los principales problemas emergentes en materia de salud pública es la aparición de microorganismos altamente resistentes a las terapias farmacológicas disponibles y con el objetivo de contar con alternativas terapéuticas más eficaces, se han diseñado estrategias de acción. En este sentido podemos mencionar la síntesis de nuevos antibióticos, la búsqueda de compuestos inhibidores de bombas de flujo y/o eliminadores de plásmidos que permitan combatir la aparición de la resistencia a los antimicrobianos. Para la evaluación de nuevos compuestos es imprescindible contar con modelos bacterianos aislados clínicos caracterizados en su resistencia a los fármacos.

Por lo tanto, siendo establecida la necesidad de nuevas opciones para abordar este problema emergente en materia de salud pública, en el grupo de trabajo conformado por profesores que forman parte del Cuerpo Académico de Farmacia y Bioquímica Clínica en el Departamento de Farmacia de la División de Ciencias Naturales y Exactas del campus Guanajuato se desarrollan proyectos donde se pretende evaluar nuevas moléculas tanto de síntesis química como es el caso de las de N-alquil-bisarilmaleimidias, así como compuestos obtenidos de productos naturales que permitan evaluar su efecto sobre la modulación de la resistencia a

antimicrobianos en aislados clínicos bacterianos con diferentes niveles de resistencia. Estos esfuerzos permitirán identificar nuevas moléculas para la optimización de la terapia antimicrobiana.

Referencias

Amábile-Cuevas, C. F. (2010). Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. *J. Infect. Dev. Ctries.* 4(3), 126-131.

Benenson, AS. (1995). *Control of communicable diseases manual*, 16th edition. Washington, American Public Health Association.

Cano, R. G. and Alvarado, C. R. (2015). Síntesis de arilmaleimidias *N*-sustituídas. *Jóvenes en la Ciencia*, 1(2), 162-166.

Du, D., Wang-Kan, X., Neuberger, A., van Veen, H. W., Pos, K. M, Piddock, L. J. V., Luisi, B. F. (2018). Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. *Nat. Rev. Microbiol.* 16, 523-539.

Fernández-Riverón, F., López-Hernández, J., Ponce-Martínez, L. M., Machado-Betarte, C. (2003). Resistencia bacteriana. *Rev. Cub. Med. Milit.* 32(1), 44-48.

Giedraitien, A., Vitkauskien, A., Naginien, R., Pavilonis, A. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicine* 47(3), 137-146.

Gutierrez-Cano, J. R., Nahide, P. D., Ramadoss, V., Satkar, Y., Ortiz-Alvarado, R., Alba-Betancourt, C., Mendoza-Macias, C. L. and Solorio-Alvarado, C. R. (2017). Synthesis and



Biological Evaluation of New 3, 4-diarylmaleimides as Enhancers (modulators) of Doxorubicin Cytotoxic Activity on Cultured Tumor Cells from a Real Case of Breast Cancer. *J. Mex. Chem. Soc.*, 61(1), 41-49.

Hamers, F. F. (2008). European Centre for Disease Prevention and Control issues guidance for the introduction of human papillomavirus (HPV) vaccines in European Union countries. *Eurosurveillance*, 13(4), 5-6.

Hargreaves, M. K., Pritchard, J. G., and Dave, H. R. (1970). Cyclic carboxylic monoimides. *Chem. Rev.*, 70(4), 439-469.

Kern, W., Oethinger, M., Jellen-Ritter A. (2000). Non-target gene mutations in the development of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 10-13.

Linares-Rodríguez, J. F., & Martínez-Menéndez, J. L. (2005). Resistencia a los antimicrobianos y virulencia bacteriana. *Enf. Infecc. Microbiol. Clin.*, 23(2), 86-93.

Livermore, D. M. (2012). Current epidemiology and growing resistance of gram negative pathogens. *Kor. J. Intern. Med.* 27, 128-142.

Lomovskaya, O. and Bostian, K. A. (2006). Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinica vision for applied use. *Biochem. Pharmacol.*, 71(7), 910-918.

Londoño, G. M. (2014). Resistencia bacteriana a los antimicrobianos: Una terrible amenaza. *Rev. Medi.*, 36(2), 165-172.

Lynch A. (2006). Efflux systems in bacterial pathogens: An opportunity for therapeutic intervention, an industry view. *Biochem. Pharmacol.* 71, 949-56.

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., and Paterson, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and newer antibiotic-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 18(3), 268-281.

Mendoza-Macías, C. L., Solorio-Alvarado, C. R., Alonso-Castro, A. J., Alba-Betancourt, C., Deveze-Álvarez, M. A., Padilla-Vaca, F., and Reyes-Gualito, A. (2019). Discovery of new effective *N*-alkyl-3, 4-diarylmaleimides-based drugs for reversing the bacterial resistance to rhodamine 6G in *Bacillus subtilis*. *Chem. Pap.*, 1-10.

Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 593-656.

Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J.L., Ochoa, T.J. (2011). Mecanismos moleculares de Resistencia antibiotic en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica.* 28(4), 648-656.

Okusu, H., Ma, D., Nikaido, H. (1996). AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (mar) mutants. *J. Bacteriol.* 178, 306-08.



Philipon A., Labia R., Jacoby, G.A. (1990). Extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33, 1131–1136.

Reynolds, D. J., Wong, O. T., Simlot, R., Chang, J. J., and Hall, I. H. (1994). Acute toxic and teratogenic effects of cyclic imides in rodents. *Arch. Pharm.*, 327(4), 237-245.

Rodríguez-Noriega, E., Seas, C., Guzmán-Blanco, M., Mejía, C., Alvarez, C., Bavestrello, L., (2010). Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. *Int. J. Infect. Dis.* 14(7), 560-6.

Stell, H. C., Theron, A. J., Cockeran, R., Anderson, R., Feldman, C. (2012). Pathogen- and Host-Directed Anti Inflammatory Activities of Macrolide Antibiotics. *Mediat. Inflamm.* 1-17.

Van-Bambeke, F., Glypzyński, Y., Plesiat, P. (2003). Antibiotic efflux pumps in procaryotic cells: occurrence, impact for resistance and strategies for the future of antimicrobial therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 51, 1167-73.

Van-Bambeke, F., Pages, J., Lee, V. (2006). Inhibitors of bacterial efflux pumps as adjuvans in antibiotic treatments and diagnostic tools for detection of resistance by efflux. *Recent Pat Antiinfect Drug. Discov.* 1, 157-75.

Webber, M., Piddock, L. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 51, 9-11.

Wilke, M.H. (2010). Multiresistant bacteria and current therapy- the

economical side of the story. *Eur. J. Med. Res.* 15, 571-576

World Health Organization. Anti-Infective Drug Resistance Surveillance and Containment Team. (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 20 de junio de 2021. <http://www.who.int/iris/handle/10665/67197>

World Health Organization. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care (2011). Geneva: World Health Organization; 2009. Recuperado el 20 de junio de 2021. http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906_eng.pdf