



**Efecto de diferentes medicamentos sobre el crecimiento y la formación de biopelículas en aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.**

Piedrahita<sup>1</sup>, Lopez<sup>2</sup>

Estudiantes de Microbiología Industrial y Ambiental <sup>1</sup>

Asesor de proyecto de grado <sup>2</sup>

Escuela de Microbiología

Universidad de Antioquia

Natalia Rojas Ocampo

Maria Camila Contreras Piedrahita

Trabajo de grado presentado para optar al título de Microbiólogo Industrial y Ambiental

Asesores

Esteban Rosero Hernández Doctor en Biología

Luis Fernando Echeverri Magister y Doctor en Química Orgánica

Universidad de Antioquia

Escuela de Microbiología

Microbiología Industrial y Ambiental

Medellín, Antioquia, Colombia

2024

---

**Cita**

(Rojas Ocampo & Contreras Piedrahita, 2024)

---

**Referencia**

**Estilo APA 7 (2020)**

Rojas Ocampo, N., & Contreras Piedrahita, M. C. (2024). *Efecto de diferentes medicamentos sobre el crecimiento y la formación de biopelículas en aislados clínicos de Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa*. [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

---



Grupo de Investigación Química Orgánica de Productos Naturales.



Biblioteca Carlos Gaviria Díaz

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## RESUMEN

Debido al evidente incremento de la resistencia microbiana, es necesario buscar factores potenciales que puedan desencadenar los mecanismos de resistencia de bacterias causantes de infecciones adquiridas intrahospitalariamente. En este trabajo se evaluaron varios medicamentos con diferente actividad farmacológica como probables agentes moduladores de la formación de biopelículas en 4 aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, algunos de ellos BLEE ( $\beta$ -lactamasas de espectro extendido), debido a que estas estructuras son responsables de la resistencia y la persistencia microbianas. Los resultados indicaron que los medicamentos acetaminofén, captopril, verapamilo e ibuprofeno actuaron como inductores de biopelículas en los aislados de *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que diclofenaco, acetaminofén, propranolol, hidroclorotiazida y metformina fueron inhibidores en los aislados de *Escherichia coli*; estos efectos se manifestaron a concentraciones tan altas como 25  $\mu$ M. Aunque se trata de ensayos *in vitro*, estos resultados indican el riesgo potencial de sustancias de uso en la vida diaria que pueden incidir en la antibioticoterapia, pero a la vez generan moléculas conocidas que pueden tener una segunda aplicación como coadyuvantes de esta.

### Objetivo

- Evaluar el efecto *in vitro* de algunos medicamentos sobre el crecimiento y la formación de biopelículas en 4 aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### Materiales y métodos

Se evaluó el efecto de los medicamentos sobre el crecimiento de cuatro aislamientos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en microplacas de 96 pozos mediante microdilución seriada. Además, la formación de biopelículas se evaluó en pozos y sondas duodenales de PVC, usando cristal violeta para teñir y medir la absorbancia.

### Resultados

De acuerdo con la significancia estadística, de los 12 medicamentos evaluados en el ensayo, captopril, verapamilo, acetaminofén e ibuprofeno a 25 $\mu$ M presentaron efecto inductor de biopelículas en sondas duodenales en los aislados de *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, en los aislados de *Escherichia coli*, ambos BLEE, se obtuvieron efectos inhibidores de biopelícula en sonda para *Escherichia coli* R4 (resistente a 4 antibióticos) con diclofenaco a 25 y 3.125  $\mu$ M y acetaminofén a 3.125  $\mu$ M y para *Escherichia coli* RM (multirresistente) con propranolol a 25  $\mu$ M.

### Conclusión

Estos resultados indican que algunos medicamentos tienen un impacto significativo en la formación de biopelículas, actuando como inductores o inhibidores, especialmente en un modelo de sondas duodenales. La concentración de 25 $\mu$ M parece ser crucial para inducir este efecto.

### Palabras claves:

*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, resistencia microbiana, medicamentos, biopelícula, modulación, sondas duodenales.

## 1. Introducción

En los últimos años se ha presenciado un aumento en la resistencia de diversos microorganismos patógenos a los antimicrobianos (RAM), dificultando el tratamiento de infecciones causadas por bacterias, parásitos, virus y hongos (OMS, 2020). La pandemia del COVID-19, por su parte, evidenció el aumento de infecciones secundarias principalmente causadas por bacterias gramnegativas resistentes a antibióticos (Florida et al., 2022).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) proyecta que para el año 2050, las infecciones asociadas a microorganismos resistentes serán responsables de 10 millones de muertes al año. La atención se centra en un grupo de microorganismos bajo el acrónimo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp*) identificados con los mayores índices de resistencia (WHO, 2017) (Giono-Cerezo et al., 2020). Pero, además de la resistencia, también se ha presentado la recurrencia, responsable de las infecciones del mismo nombre y las originadas en espacios hospitalarios o nosocomiales. A nivel global, la tasa de muerte por infecciones nosocomiales oscila entre el 1% al 3% y en países desarrollados como EE. UU. se han reportado alrededor de 2 millones de estos casos, de los cuales el 70 % se atribuye a los dispositivos médicos utilizados durante diversos procedimientos (Dey et al., 2022).

En la mayoría de los casos, la infección bacteriana se inicia con el uso de dispositivos clínicos como prótesis, catéteres, sondas para la administración de soluciones y medicamentos, fluidoterapia y alimentación parenteral. Este proceso, conocido como formación de biopelículas, implica que las bacterias de vida libre se adhieren a estas superficies y crecen poblacionalmente, protegidas por una capa de sustancias extracelulares como proteínas, material genético y exopolisacáridos (W. Michael Dunne, 2002). La formación de biopelículas se desencadena a través del proceso conocido como detección de quórum o Quorum Sensing

(QS), un sistema de comunicación célula a célula que permite a las bacterias compartir información sobre la densidad celular y ajustar la expresión génica. Este proceso se inicia mediante la unión de una señal extracelular autoinductora a un receptor específico (Papenfort & Bassler, 2016); las moléculas autoinductoras se acumulan y alcanzan el umbral de detección a medida que aumenta la densidad de población.

Según el Instituto Nacional de Salud de EE. UU., más del 60 % de todas las infecciones microbianas son causadas por biopelículas (Jamal et al., 2018). *Pseudomonas aeruginosa* es uno de los principales microorganismos relacionados con las infecciones nosocomiales, responsable de aproximadamente del 10 a 15% de estas infecciones (Wei & Ma, 2013). *P. aeruginosa* es capaz de colonizar y formar biopelículas duraderas en dispositivos médicos, que pueden permanecer allí a pesar del tratamiento con antibióticos (Shi et al., 2019).

En *P. aeruginosa* se han identificado dos sistemas principales para la detección de quórum: LasI-LasR y RhII-RhIR que median la producción de diferentes factores de virulencia, especialmente la formación de biopelículas a través de las moléculas autoinductoras: *N*-(3-oxododecanoil)-L-homoserina lactona (3-oxo-C12-HSL) y *N*-butanoil-L-homoserina lactona respectivamente (Rasamiravaka et al., 2015). Adicionalmente, se ha reportado un tercer sistema principal regido por una señal de quinolona (Tay & Yew, 2013).

*Escherichia coli* es uno de los microorganismos más prevalentes que forman biopelículas en dispositivos médicos permanentes, y también pueden crecer en la superficie de los tejidos, dando lugar a infecciones asociadas a la biopelícula, como cistitis uretral, prostatitis, infección del tracto biliar e infección persistente del tracto urinario (Gong et al., 2021).

Las cepas uropatógenicas de *E. coli* poseen un sistema de QS para la formación de biopelículas activado por LuxR mediante la señal de la molécula autoinductor-2 (AI-2). Dicha señal también está asociada a los genes de expresión de fimbria y movilidad *fimH*, *csgD* y *bolA* (Alshammari et al., 2023).

Diferentes clases de moléculas naturales y sintéticas pueden desencadenar el Quorum Sensing y eventualmente la formación de una biopelícula, lo que indica un riesgo secundario con muchas sustancias a las cuales estamos expuestos en la vida diaria. Dado que hay escasa información sobre el efecto secundario que pueden tener los medicamentos en la resistencia microbiana, surge la hipótesis de que algunos de estos podrían favorecer algunos factores de virulencia como la formación de biopelículas, generando un efecto similar a las moléculas autoinductoras que activan la transcripción de genes para la síntesis de éstas. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de algunos principios activos de medicamentos sobre el crecimiento y formación de biopelículas en 4 aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* usando trozos de una sonda como modelo.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Cultivos bacterianos

Se emplearon 4 aislamientos, dos *Pseudomonas aeruginosa* y dos *Escherichia coli*, denominados de aquí en adelante como: PA1, PA2, ECR4 y ECRM respectivamente. Los aislamientos fueron obtenidos del Laboratorio de Microbiología de la Clínica León XIII (Medellín, Antioquia) de pacientes que presentaron cuadros de infección nosocomial. Su perfil de multirresistencia fue determinado mediante pruebas de susceptibilidad antibiótica (AST), empleando el sistema de determinación de ID/AST microbiana VITEK 2 (bioMérieux, Francia). Las bacterias se cultivaron en agar Luria-Bertani (LB, SIGMA) a 37°C por 24 horas; posteriormente fueron criopreservadas a -20°C con glicerol (20%) hasta su utilización.

### 2.2. Medicamentos por evaluar

La selección de medicamentos se basó en un análisis hecho por el grupo de Química Orgánica de Productos Naturales de la Universidad de Antioquia de una lista del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia de los medicamentos más consumidos en 2019, e incluyendo diversas clases de rangos farmacológicos (Minsalud, 2019). Mediante un análisis de frecuencias, se

determinó que los medicamentos de mayor uso entre las diferentes patologías eran Diclofenaco, Acetaminofén, Ibuprofeno, Naproxeno, Metformina, Lovastatina, Loratadina, Propranolol, Hidroclorotiazida, Captopril, Verapamilo y Cetirizina.

**Tabla 1:** Clasificación de los medicamentos según su aplicación farmacológica.

Clasificación Farmacológica	Medicamento
Agentes antiinflamatorios / antipiréticos y analgésicos	Diclofenaco
	Ibuprofeno
	Acetaminofén
	Naproxeno
Agentes antialérgicos	Cetirizina
	Loratadina
Agentes hipoglucemiantes	Metformina
Agentes antihipertensivos	Captopril
	Propranolol
	Verapamilo
Agentes anticolesterémicos	Lovastatina
Diuréticos	Hidroclorotiazida

Los principios activos se obtuvieron del laboratorio Laproff (Laboratorios Laproff, Colombia) o se obtuvieron puros a partir de medicamentos por varias técnicas cromatográficas e identificados por RMN 1D y 2D. Estos se llevaron a una concentración inicial de 1000 µg/ml, solubilizados en metanol grado reactivo (99%) (Wiegand et al., 2008). Se evaluaron inicialmente las concentraciones de 100, 50, 25, y 3.125 µM, pero para este trabajo solo se presentan resultados de las concentraciones de 25 y 3.125 µM debido a que en estos puntos las desviaciones de los datos mostraban una tendencia más ajustada.

### 2.3. Efectos de los medicamentos sobre el crecimiento

Se evaluó el efecto de los medicamentos sobre el crecimiento de biomasa en microplacas de 96 pozos mediante la técnica de microdilución seriada. A partir de cultivos menores a 24 horas,

se preparó el inóculo a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/mL en solución salina (NaCl al 0.9%) y se midió la absorbancia a  $OD_{600nm}$  ( $Abs=0.05$ ) (Thermo Scientific, EE. UU). El efecto de los medicamentos se evaluó en las concentraciones de 25 y 3.125  $\mu M$ . Se emplearon caldo LB y NaCl al 0,9% en proporción 1:1 como control de esterilidad y caldo LB con inóculo en NaCl al 0,9% en una proporción 1:1 como control positivo de crecimiento. Cada medicamento se evaluó en un volumen final de 200 $\mu L$ ; la incubación se realizó durante 18 horas para *Pseudomonas aeruginosa* y 24 horas para *Escherichia coli* a una temperatura de 37°C. Al final, se determinaron las absorbancias ( $DO=600nm$ ) y se compararon respecto al control con la siguiente ecuación:

**Ecuación 1:** Crecimiento bacteriano expresado en porcentaje, donde ABS son las siglas para absorbancia:

$$Crecimiento = \left( \frac{ABS \text{ tratamiento}}{ABS \text{ control}} \right) \times 100$$

#### 2.4. Formación de biopelículas en pozos

Para evaluar la formación de biopelículas, se repitió el procedimiento anterior, pero con un período de incubación prolongada (20 y 40 horas para *P. aeruginosa* y *E. coli*, respectivamente). Se eliminó el sobrenadante y se realizaron tres lavados suaves de los pozos con agua destilada y se dejaron secar a 37 °C por 24 h. Empleando el método de O'Toole (2011), se realizó la tinción de las biopelículas formadas en los pozos con cristal violeta (0.05% p/v) durante 30 minutos. Luego, se extrajo el colorante y se realizaron cuidadosamente tres lavados consecutivos con agua destilada; las microplacas se dejaron secar a 37°C por 24 h. Finalmente, se solubilizó el colorante adherido a las biopelículas con 250 $\mu L$  de etanol (96% p/v) durante 2 horas para asegurar la dilución completa.

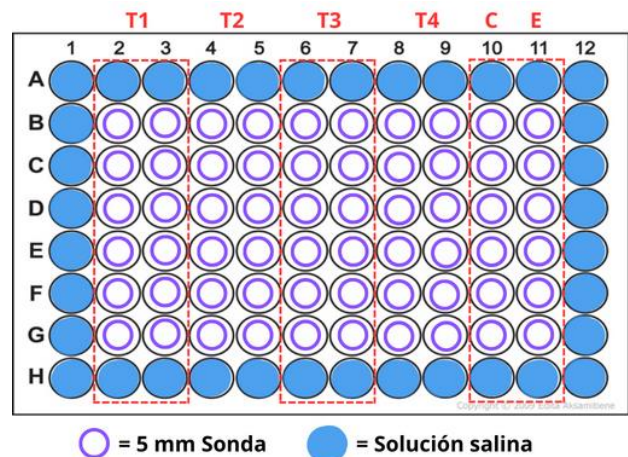
La absorbancia cuantificada del cristal violeta ( $OD_{575nm}$ ) corresponde indirectamente a la cantidad de biopelícula formada sobre la superficie y se expresa mediante la siguiente fórmula:

**Ecuación 2:** Formación indirecta de biopelícula expresada en porcentaje, donde ABS son las siglas para absorbancia y CV son las siglas de cristal violeta.

$$Porcentaje \text{ de biopelícula} = \left( \frac{ABS \text{ CV tratamientos}}{ABS \text{ CV control}} \right) \times 100$$

#### 2.5. Formación de biopelículas en sondas.

La evaluación de la formación de biopelícula se hizo con fragmentos de 5 mm de sondas duodenales Levin de cloruro de polivinilo (PVC) (Medex, calibre FR18) que fueron introducidos en microplacas de 96 pozos con los respectivos medicamentos se llevó a cabo como se muestra en la figura 1.



**Figura 1:** Distribución de los medicamentos en las microplacas. T hace referencia a cada uno de los medicamentos a evaluar, C es el control positivo y E es el control de esterilidad.

Después del periodo de incubación, se retiraron cuidadosamente las células planctónicas y se realizaron tres lavados con agua destilada; las microplacas con las sondas en su interior se dejaron secar a 37°C por 24 horas. Luego, se tiñó con cristal violeta y se realizaron los lavados mencionados.

Mediante microscopía óptica (Nikon ECLIPSE E200, Japón), se observó cualitativamente la formación de biopelículas en la sonda. Se realizaron cortes longitudinales de la sonda para obtener microfotografías de la cara interna

con un objetivo 10X. Posteriormente, las sondas se sumergieron en 250µL de etanol (96% p/v) por 2 horas y se midió la absorbancia del cristal violeta adherido a la biopelícula formada.

## 2.6. Análisis estadístico

Se aplicó un diseño por bloques de tiempo completamente aleatorizado, con tres tiempos independientes y 5 réplicas por medicamento cada uno de ellos. Con los datos obtenidos se calculó el coeficiente de variación (CV) para verificar la dispersión de datos; se excluyeron del análisis aquellos resultados con un CV mayor al 40%.

El análisis estadístico se llevó a cabo en Rstudio versión 4.3.0 (R Core Team, 2023), en éste se verificaron los supuestos de homocedasticidad mediante la prueba de Levene y la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-wilk; estos supuestos fueron aceptados para aquellos datos donde el valor p fue mayor a 0.05. Para explorar diferencias significativas entre medicamentos, se implementó el análisis de varianzas (ANOVA). Para determinar las diferencias entre los medicamentos evaluados, se emplearon la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett y Tukey. La primera permitió comparar varios medicamentos con un control, brindando información sobre las diferencias respecto al estándar de referencia. La segunda permitió comparar las medias de todos los medicamentos entre sí (Teherán, 2016). En los casos en que los datos no se ajustaron a una distribución normal se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

## 3. Resultados y análisis

### 3.1. Perfil de resistencia

Mediante la prueba de susceptibilidad con el casete de VITEK®2 para bacilos aerobios Gram negativos, se obtuvieron los perfiles de resistencia de cada uno de los aislamientos (Ver Tabla 2).

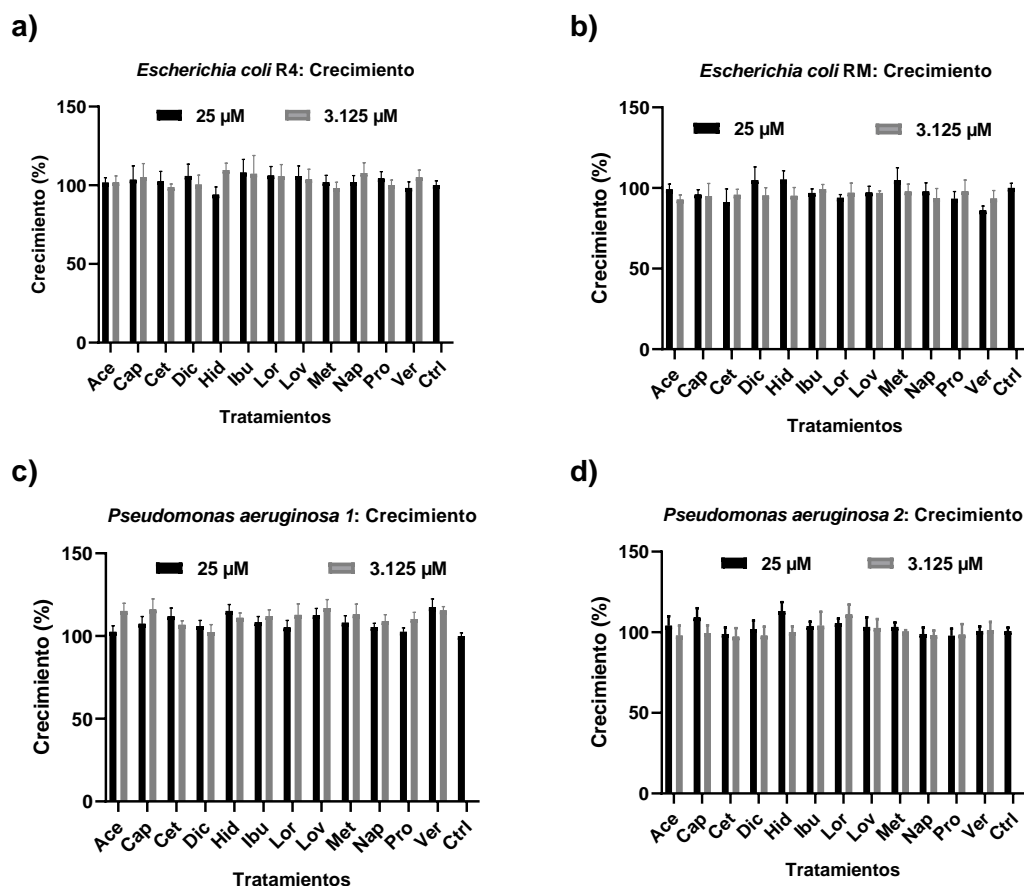
**Tabla 2:** Perfiles de sensibilidad antibiogramas de los cuatro aislamientos, R indica Resistencia, S indica Sensibilidad y “-” indica que ese antibiótico no fue evaluado.

Antibióticos	PA1	PA2	ECR4	ECRM
Amikacina	R	R	S	S
Ampicilina	-	-	-	R
Ampicilina-Sulbactam	-	-	R	S
Aztreonam	S	I	S	R
BLEE	-	-	Pos	Pos
Cefazolina	-	-	-	R
Cefepima	R	R	S	R
Ceftazidima	R	R	S	R
Ceftazidima/Avibactam	R	R	S	-
Ceftolozano/Tazobactam	R	R	S	-
Ceftriaxona	-	-	-	R
Ciprofloxacina	R	R	S	R
Ertapenem	-	-	R	S
Imipenem	R	R	R	-
Piperacilina/Tazobactam	-	R	R	S
Trimetoprima/Sulfametoxazol	-	-	-	R

PA1 exhibió resistencia a siete antibióticos, PA2 mostró resistencia a los mismos siete antibióticos y adicionalmente a Piperacilina/Tazobactam. ECR4, clasificado como β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) positivo, presentó resistencia a cuatro antibióticos, mientras que ECRM, también β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) positivo, demostró resistencia a ocho antibióticos. Estos antibióticos son clasificados como cefalosporinas de diferentes generaciones, betalactámicos, carbapenémicos y penicilinas. Con estos hallazgos se confirma que los cultivos seleccionados cumplen con perfiles de resistencia relevantes.

### 3.2. Evaluación crecimiento

En los ensayos realizados, se evaluó el efecto de los medicamentos sobre el crecimiento de los cuatro aislamientos (PA1, PA2, ECR4 y ECRM). A las 24 horas de incubación, se observó que ninguno de los medicamentos en ninguna concentración evaluada afectó significativamente el crecimiento de los aislados ( $p > 0.05$ ), siendo comparable al control de crecimiento como se observa en la figura 2. De las concentraciones iniciales, se optó por continuar con las concentraciones menores de 25 y 3.125 µM en los siguientes ensayos.

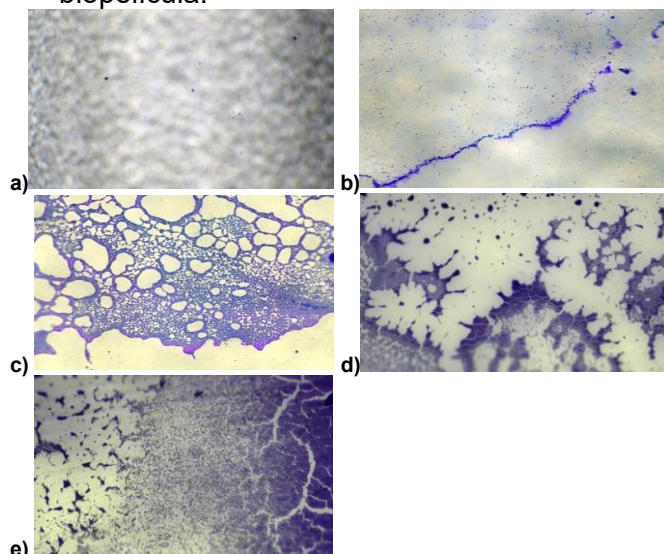


**Figura 2.** Evaluación del crecimiento de los aislamientos. Se evaluaron las concentraciones 25 y 3.125  $\mu\text{M}$ . a) *EC R4*, b) *EC RM* c) *PA 1* y d) *PA 2*. Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control).

### 3.3. Evaluación de la formación de biopelículas en pozos y en sondas

Se determinó la capacidad de los aislamientos de adherirse en sondas mediante tinción con cristal violeta y microscopía óptica con un aumento de 10X (ver Figura 3). En la Figura 3a de control, se observa que la sonda utilizada no retuvo colorante, por lo tanto, no se consideró la adsorción del material en el análisis. En primer lugar, se observa una biopelícula escasa formada por *ECR4*, limitada a la interfase del medicamento. En contraste, la biopelícula formada por *ECRM* es considerablemente más abundante y constante, creando una red de crecimiento. Por último, la biopelícula formada por ambos aislados de *PA* es abundante, colonizando gran parte de la sonda de manera uniforme, casi compacta. Para *PA1* la colonización es en forma de islotes, mientras que para *PA2* se observa una desagregación de

las células durante la fase de formación de biopelícula.



**Figura 3.** Formación de biopelícula de los aislamientos en sonda duodenal Levin FR18 (PVC). Microfotografías de las sondas con el objetivo de 10X a) Cara interna de sonda duodenal aplicando cristal violeta al control de esterilidad. b) Formación de biopelícula en sonda por *ECR4* sin medicamentos, c) Formación de



biopelícula en sonda por ECRM sin medicamentos, d) Formación de biopelícula en sonda por PA1 sin medicamentos y e) Formación de biopelícula en sonda por PA2 sin medicamentos.

Para comparar los efectos de los medicamentos sobre la formación de biopelículas, los datos de absorbancia se expresaron en porcentajes y se analizaron mediante métodos paramétricos, revelando diferencias significativas entre los medicamentos y el control.

En la siguiente sección, se presentan los resultados obtenidos mediante la metodología de formación de biopelícula. El objetivo principal de este estudio que fue evaluar los efectos de los medicamentos en la formación de biopelículas.

### *Pseudomonas aeruginosa 1*

En la tabla 3, se resumen los resultados más relevantes de los medicamentos en los dos materiales evaluados en *Pseudomonas aeruginosa 1*.

**Tabla 3.** Efectos de varios medicamentos en la formación de biopelícula por *Pseudomonas aeruginosa 1*.

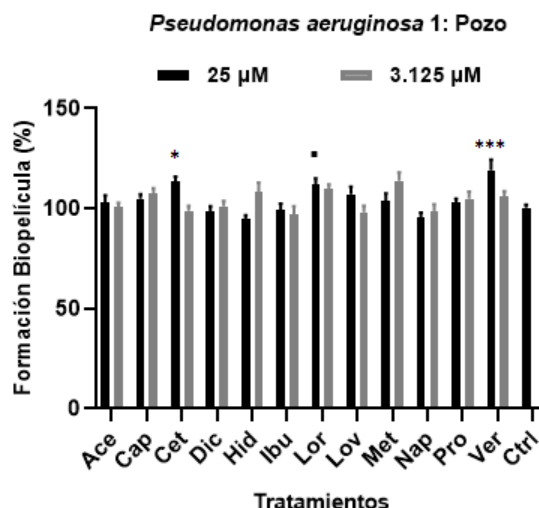
PA1	Concentración (µM)	Material	Efecto	Porcentaje (%)	Sd ±	Cód. sig.
Loratadina	25	Pozo	Inductor	12.00	12.15	.
Cetirizina	25	Pozo	Inductor	13.60	9.51	*
Verapamilo	25	Pozo	Inductor	19.00	21.09	***
Diclofenaco	3.125	Sonda	Inductor	22.40	29.56	.
Captopril	3.125	Sonda	Inductor	25.30	41.41	*
Ibuprofeno	25	Sonda	Inductor	26.80	26.08	*
Acetaminofén	25	Sonda	Inductor	28.80	33.87	*
Verapamilo	25	Sonda	Inductor	30.00	21.46	*
Captopril	25	Sonda	Inductor	42.60	47.81	***

**Nota:** La escala de color indica el efecto del medicamento, el color azul para un efecto inductor y rojo para efectos inhibidores. Los porcentajes se expresan como la diferencia respecto al control de crecimiento (100%). Resultados negativos indican inhibición. Sd es la desviación estándar de los efectos. Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.01, (\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1

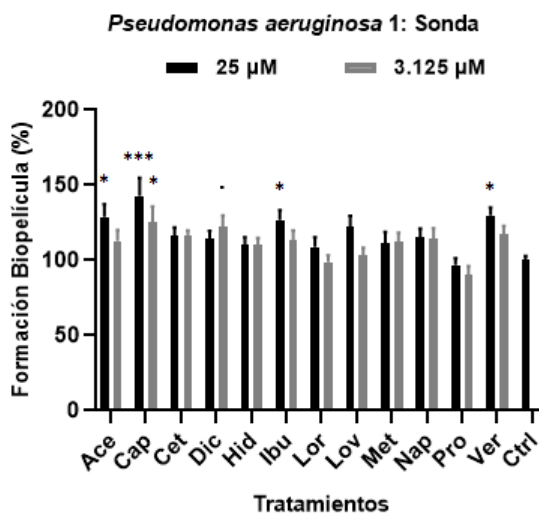
En los pozos de la microplaca, los medicamentos verapamilo, cetirizina y loratadina evaluados a 25µM presentaron un efecto inductor del 19%, 13.6% y 12% respectivamente en comparación al control. Ningún medicamento en la concentración de 3.125µM presentó un efecto significativo con respecto al control (figura 4).

En la sonda duodenal, los medicamentos captopril, verapamilo, acetaminofén e ibuprofeno (todos a 25µM) indujeron un 42.6%, 30%, 28.8% y 26.8 % respectivamente,

respecto al control. A la concentración de 3.125µM, diclofenaco y captopril, mostraron efectos inductivos significativos del 22.4% y 25.3% respectivamente, respecto al control (figura 5).



**Figura 4:** Formación de biopelículas en pozos para *P. aeruginosa 1* (PA1). Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1.



**Figura 5:** Formación de biopelículas en sonda duodenal Levin FR18 (PVC) para *P. aeruginosa 1* (PA1). Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1.

### *Pseudomonas aeruginosa 2*

En la Tabla 4, se resumen los resultados más relevantes relacionados con la formación de biopelículas para *Pseudomonas aeruginosa* 2:

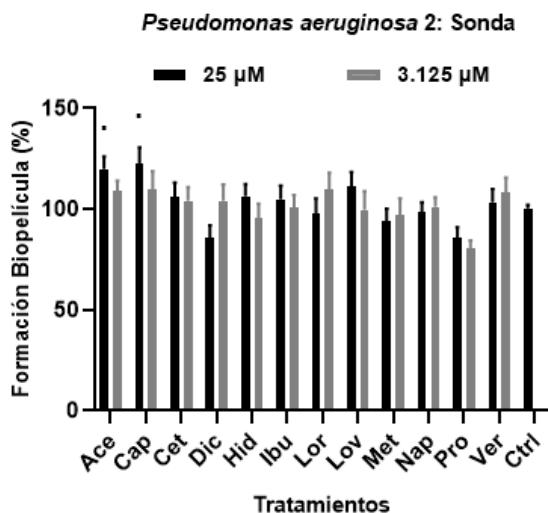
**Tabla 4.** Efectos de varios medicamentos en la formación de biopelícula por *Pseudomonas aeruginosa* 2.

PA2	Concentración (µM)	Material	Efecto	Porcentaje (%)	Sd ±	Cód. sig.
Acetaminofén	25	Sonda	Inductor	19.93	24.58	.
Captopril	25	Sonda	Inductor	22.64	31.64	*

**Nota:** La escala de color indica el efecto del medicamento, el color azul para un efecto inductor y rojo para efectos inhibidores. Los porcentajes se expresan como la diferencia respecto al control de crecimiento (100%). Resultados negativos indican inhibición. Sd es la desviación estándar de los efectos. Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.01, (\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1

Ningún medicamento evaluado tuvo un efecto significativo, ya sea de inhibición o inducción, formación de biopelículas en los pozos.

En sonda duodenal, algunos medicamentos como captopril y acetaminofén a 25µM tuvieron un efecto inductor del 22.64 % y 19.93 % respectivamente en comparación al control. A 3.125 µM, ninguno de los medicamentos mostró un efecto significativo respecto al control (figura 6).



**Figura 6:** Formación de biopelículas en sonda duodenal Levin FR18 (PVC) para *P. aeruginosa* 2 (PA2). Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística para p<0.1.

### *Escherichia coli* R4

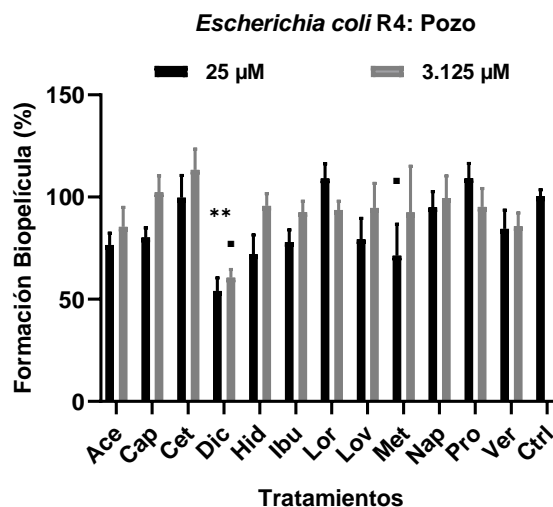
La Tabla 5, se resumen los resultados relativos a la formación de biopelículas para *Escherichia coli* R4.

**Tabla 5.** Efectos de varios medicamentos en la formación de biopelícula por *Escherichia coli* R4.

ECR4	Concentración (µM)	Material	Efecto	Porcentaje (%)	Sd ±	Cód. sig.
Diclofenaco	3.125	Sonda	Inhibidor	-57.60	19.12	*
Diclofenaco	25	Sonda	Inhibidor	-46.10	28.56	*
Diclofenaco	25	Pozo	Inhibidor	-45.90	22.07	**
Diclofenaco	3.125	Pozo	Inhibidor	-39.40	13.59	.
Acetaminofén	3.125	Sonda	Inhibidor	-33.70	48.68	*
Metformina	25	Pozo	Inhibidor	-28.70	53.32	.

**Nota:** La escala de color indica el efecto del medicamento, el color azul para un efecto inductor y rojo para efectos inhibidores. Los porcentajes se expresan como la diferencia respecto al control de crecimiento (100%). Resultados negativos indican inhibición. Sd es la desviación estándar de los efectos. Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.01, (\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1

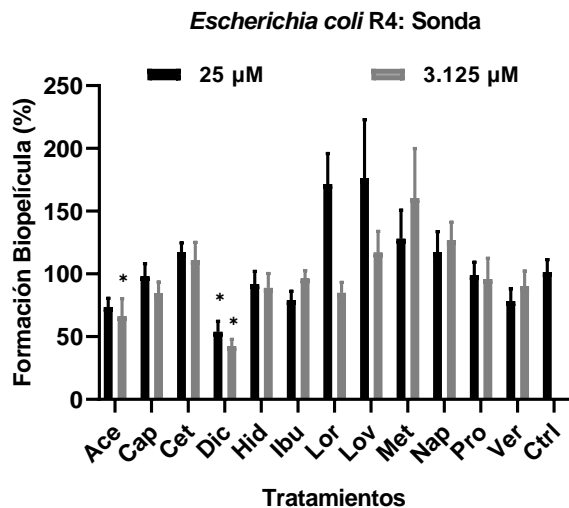
Se observó un efecto inhibidor en la formación de biopelículas en pozos con diclofenaco de 39.4% a la concentración de 3.125 µM y del 45.9% a la concentración del 25 µM. Con metformina (25 µM) también se determinó un efecto inhibidor del 28.7% en comparación con el control (Figura 7).



**Figura 7:** Formación de biopelículas en pozos para *Escherichia coli* R4. La nomenclatura se describe así: Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, (\*\*) para p<0.01 y (•) para p<0.1.

En sonda duodenal, diclofenaco para este microorganismo presentó un efecto inhibidor del 46.1% y 57.6% a las concentraciones de 25 y

3.125µM respectivamente. Además, acetaminofén a 3.125 µM también presentó un efecto inhibitor del 33.7% respecto al control (Figura 8).



**Figura 8:** Formación de biopelículas en sonda duodenal Levin FR18 (PVC) para *Escherichia coli* R4. La nomenclatura se describe así: Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*) para p<0.05.

### *Escherichia coli* RM

En la Tabla 6, se presenta de manera concisa los resultados relativos a la formación de biopelículas en *Escherichia coli* RM.

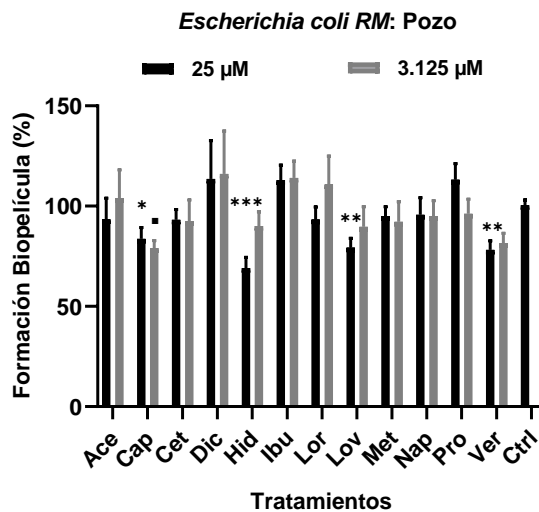
**Tabla 6.** Efectos de varios medicamentos en la formación de biopelícula por *Escherichia coli* RM.

ECRM	Concentración (µM)	Material	Efecto	Porcentaje (%)	Sd ±	Cód. sig.
Propranolol	25	Sonda	Inhibidor	-43.00	31.73	*
Hidroclorotiazida	25	Pozo	Inhibidor	-31.00	18.59	***
Verapamilo	25	Pozo	Inhibidor	-21.80	16.93	**
Captopril	3.125	Pozo	Inhibidor	-20.89	12.64	.
Lovastatina	25	Pozo	Inhibidor	-20.60	15.70	**
Captopril	25	Pozo	Inhibidor	-16.30	19.25	*

**Nota:** La escala de color indica el efecto del medicamento, el color azul para un efecto inductor y rojo para efectos inhibitorios. Los porcentajes se expresan como la diferencia respecto al control de crecimiento (100%). Resultados negativos indican inhibición. Sd es la desviación estándar de los efectos. Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.01, (\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1.

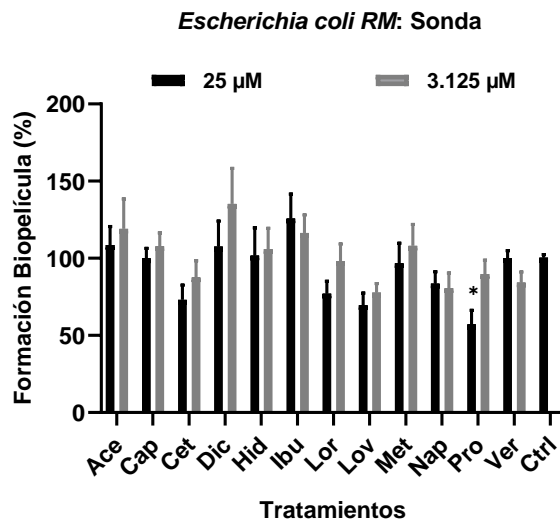
En pozos, el captopril a 3.125 µM presentó un efecto inhibitorio del 20.89%, mientras que hidroclorotiazida, verapamilo, lovastatina y captopril a concentración de 25 µM mostraron el mismo efecto inhibiendo 31%, 21.8%, 20.6% y

16.3% respectivamente, respecto al control (Figura 9).



**Figura 9:** Formación de biopelículas en pozos para *Escherichia coli* RM. La nomenclatura se describe así: Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*\*\*) para p<0.001, (\*\*) para p<0.01, (\*) para p<0.05 y (•) para p<0.1.

En sonda duodenal, el propranolol a la concentración de 25 µM tuvo un efecto inhibitorio del 43% respecto al control (figura 10).



**Figura 10:** Formación de biopelículas en sonda duodenal Levin FR18 (PVC) para *Escherichia coli* RM. La nomenclatura se describe así: Ace (Acetaminofén), Cap (Captopril), Cet (Cetirizina), Dic (Diclofenaco), Hid (Hidroclorotiazida), Ibu (Ibuprofeno), Lor (Loratadina), Lov (Lovastatina), Met (Metformina), Nap (Naproxeno), Pro (Propranolol), Ver (Verapamilo) y Ctrl (Control). Los asteriscos (\*) representan el valor de significancia estadística, donde (\*) para p<0.05.

#### 4. Discusión

En este trabajo se analizó el efecto de varios medicamentos sobre 4 aislados clínicos de dos bacterias patogénicas, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. La formación de biopelículas, como método de resistencia desarrollado por bacterias patógenas, es un tema de gran interés ya que para el año 2018 se estimó que alrededor del 65% de infecciones bacterianas son causadas por este mecanismo (Ortega-Peña et al., 2019). Aun así, la influencia que han tenido los medicamentos no biocidas sobre dicha resistencia es un asunto que no ha sido poco explorada en artículos científicos.

Debido a que muchos antibióticos y medicamentos son suministrados a través de catéteres como primera instancia ante infecciones recurrentes en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos, exponiéndolos a la formación de biopelículas en dichos dispositivos, es de interés los medicamentos que presentan un mayor efecto en la matriz de sonda PVC (Aslam, 2008).

En primera instancia, se observó que para ambos aislados de *P. aeruginosa* (PA1 y PA2), tanto el captopril como el acetaminofén a 25µM indujeron la formación de biopelículas. Además, en el caso de PA1 también se presentó promoción en la formación de biopelículas en sondas con verapamilo e ibuprofeno. En este punto es crucial señalar la naturaleza de los medicamentos, captopril y verapamilo son medicamentos utilizados para tratar la hipertensión o insuficiencia cardíaca (actividad antihipertensiva), mientras que acetaminofén e ibuprofeno actúan como analgésicos (PubChem, 2023).

Resultados de investigación previas respaldan estos resultados, como la investigación realizada por Cadavid (2018) donde se reportó que Captopril indujo la formación de biopelículas en un 24% en *Klebsiella pneumoniae*. Por otro lado, Hathaway (2021) demostró que, en *Mycobacterium abscessus*, Verapamilo posee un efecto como inhibidor de la bomba de eflujo, por lo que no solo interviene en la biosíntesis y acumulación de lípidos durante las etapas iniciales de la formación de biopelículas, sino que también se usa en

sinergismo con diferentes antibióticos. Además, en el caso de los medicamentos analgésicos, como el Acetaminofén, la exposición puede aumentar la masa de biopelículas, como se observó en *Staphylococcus aureus* en concentraciones menores a 200 µM debido a al incremento de los componentes no celulares, como la biopelícula rica en N-acetilglucosamina (Sultan, et al., 2021). Mientras que el Ibuprofeno ha demostrado reducir la formación de biopelículas en *P. aeruginosa* PAO1, confirmando la disminución de la formación de biopelículas con el mayor efecto inhibitorio a la concentración de 480 µM (Dai, et al., 2019).

En el caso de *Escherichia coli* (ECRM), los resultados indicaron que el medicamento con Propranolol a 25 µM inhibió la formación en un 43%. Este hallazgo coincide con investigaciones previas que demostraron que Propranolol, a concentraciones similares, reduce significativamente la formación de biopelículas en las etapas tempranas de desarrollo en *C. albicans* (da Silveira et al, 2009).

En el pozo de la microplaca con ECRM se observó una inhibición significativa en los medicamentos de Hidroclorotiazida, Verapamilo y Lovastatina (25 µM) en un 31%, 21.8% y 20.6% respectivamente. Cabe destacar que Lovastatina e Hidroclorotiazida son fármacos utilizados para reducir el colesterol y promover la excreción de orina, respectivamente (PubChem, 2023). Estos resultados podrían alinearse con investigaciones anteriores, como el estudio de Zhou et al. (2018), que demostró que la Lovastatina, sinérgica con el itraconazol, tuvo un efecto inhibitorio significativo en biopelículas de *C. albicans* resistente. Por el contrario, no hay relación con los resultados de Cadavid (2018) donde la evaluación de hidroclorotiazida con *K. pneumoniae* produjo una inducción en la formación de la biopelícula del 51% lo cual demuestra que el efecto depende del modelo biológico.

En cuanto a *Escherichia coli* R4 (ECR4), se evidenció una inhibición de biopelícula en la sonda en ambas concentraciones evaluadas de Diclofenaco del 57.6% y 46.10% y se observó inhibición con el medicamento de Acetaminofén (3.125 µM) del 33.7%. Estos resultados son consistentes con hallazgos similares, como el

reportado por Teherán (2016) donde informó que el Diclofenaco redujo la formación de biopelícula en aislados de *K.pneumoniae* y *E. coli* hasta en un 30%.

Con base en los resultados obtenidos, se puede inferir que la naturaleza o la actividad farmacológica de los medicamentos empleados pueden influir en la formación de biopelículas. Sin embargo, esta influencia puede ser particular para cada especie bacteriana. Si bien en este caso los dos aislados de *Pseudomonas aeruginosa* comparten un resultado de promoción en la formación de biopelícula con dos de los medicamentos evaluados, estos pueden variar con otros aislados bacterianos de diferentes especies o cepas menos resistentes. En contraste, los dos aislados de *Escherichia coli* no presentaron similitud con los medicamentos que mostraron efectos evidenciados, sin embargo, ECRM reflejó un efecto inhibitorio a causa de agentes antihipertensivos y anticolesterémicos.

Adicionalmente, los resultados revelaron además que no se puede comparar el efecto de los medicamentos entre los cuatro aislados ni con otras especies bacterianas, debido a la diferencia en el mecanismo de quórum tanto para *Pseudomonas aeruginosa* como para *Escherichia coli*.

Por tanto, es necesaria una estandarización y homogenización en los métodos utilizados para la evaluación, como lo sugiere Allkja, et al (2020). Además, los resultados expuestos en esta investigación abren paso a ser corroborados por medio de ensayos de expresión genética en investigaciones posteriores. La comprensión de las condiciones de hábitats secundarios, diferentes a los establecidos en la naturaleza de bacterias, pueden ejercer una influencia significativa en su crecimiento y supervivencia, como lo destacan Petersen & Hubbart (2020) para el caso de *E.coli*, se resalta la importancia de comprender los factores ambientales, como la temperatura, la insolación solar, la humedad del entorno y la disponibilidad de nutrientes.

La extrapolación de estos estudios al ámbito hospitalario sugieren que condiciones como el entorno del paciente, género de la persona, la

alimentación y el estilo de vida pueden generar presiones de selección , dando lugar a respuestas diversas de diferentes aislados de una misma especie frente a los medicamentos. En relación a esto, Johan Bengtsson-Palme et al. (2017) discuten los factores que contribuyen al desarrollo y transición de la resistencia bacteriana, incluyendo la movilización de genes de resistencia, la selección ambiental y los costos de aptitud asociados a una presión de selección relativamente fuerte. También abordan la transferencia horizontal de genes como un mecanismo fundamental para la propagación de resistencia a los antibióticos, con mayor frecuencia entre bacterias asociadas a humanos, sugiriendo que un factor de resistencia se propaga con mayor facilidad entre comensales y patógenos que entre bacterias ambientales. Por lo tanto, el riesgo se encuentra en una mayor exposición de las personas entre pacientes que se encuentran en clínicas o en entornos comunitarios.

Estos enfoques detallados permitirían comprender más los mecanismos involucrados en la formación de biopelículas y también explorarían la importancia de estudios centrados en la respuesta relacionada con el nicho o la ecología, estableciendo una conexión más profunda con los efectos observados.

## 5. Conclusiones

De los 12 medicamentos iniciales, 8 (75%) mostraron un efecto en la formación de biopelículas. Esta investigación arroja a la luz la compleja interacción entre medicamentos no biocidas y la formación de biopelículas cuyo resultado depende de la especie bacteriana y el aislamiento evaluado, en este caso se observó una mayor incidencia a concentraciones de 25  $\mu$ M en ambas especies evaluadas.

La complejidad de la respuesta a los medicamentos farmacológicos en la formación de biopelículas resalta la importancia de considerar la especificidad de las especies bacterianas al desarrollar estrategias terapéuticas. Una investigación futura puede explorar aún más las interacciones moleculares y genéticas involucradas en estos procesos para mejorar la comprensión y el manejo de la resistencia bacteriana mediada por biopelículas.

## 6. Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Universidad de Antioquia-CODI, Convocatoria Programática 2020, proyecto: Drogas como fuente de resistencia microbiana.

## 7. Bibliografía

1. Alav, I., Sutton, J. M., & Rahman, K. M. (2018). Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *73*(8), 2003-2020. <https://doi.org/10.1093/jac/dky042>
2. Allkja, J., Bjarnsholt, T., Coenye, T., Cos, P., Fallarero, A., Harrison, J. J., ... & Azevedo, N. F. (2020). Minimum information guideline for spectrophotometric and fluorometric methods to assess biofilm formation in microplates. *Biofilm*, *2*, 100010. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2019.100010>
3. Alshammari, M., Ahmad, A., AlKhulaifi, M., Al Farraj, D., Alsudir, S., Alarawi, M., ... & Alyamani, E. (2023). Reduction of biofilm formation of *Escherichia coli* by targeting quorum sensing and adhesion genes using the CRISPR/Cas9-HDR approach, and its clinical application on urinary catheter. *Journal of Infection and Public Health*, *16*(8), 1174-1183. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.05.026>
4. Antimicrobial Resistance - PAHO/WHO | Pan American Health Organization. (2018). Retrieved March 8, 2023, from Paho.org website: <https://www.paho.org/en/topics/antimicrobial-resistance>
5. Askarian, M., Yadollahi, M., & Assadian, O. (2012). Point prevalence and risk factors of hospital acquired infections in a cluster of university-affiliated hospitals in Shiraz, Iran. *Journal of Infection and Public Health*, *5*(2), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2011.12.004>
6. Aslam, S. (2008). Effect of antibacterials on biofilms. *American journal of infection control*, *36*(10), S175-e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2008.10.002>
7. Balestrino, D., Haagenzen, J. A. J., Rich, C., & Forestier, C. (2005). Characterization of Type 2 Quorum Sensing in *Klebsiella pneumoniae* and Relationship with Biofilm Formation. *Journal of Bacteriology*, *187*(8), 2870–2880. <https://doi.org/10.1128/jb.187.8.2870-2880.2005>
8. Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, *42*(1), fux053. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
9. Cadavid, E. (2018). Moduladores de Quorum Sensing en la resistencia bacteriana, sustancias naturales moduladoras de QS en *Klebsiella pneumoniae*. *Tesis doctoral*. Universidad de antioquia
10. Cadavid, E., & Echeverri, F. (2019). The Search for Natural Inhibitors of Biofilm Formation and the Activity of the Autoinductor C6-AHL in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884. *Biomolecules*, *9*(2), 49. <https://doi.org/10.3390/biom9020049>
11. Cataño-Toro, D., José William Martínez, Martínez-Muñoz, M. A., López-Osorio, J. J., Marín-Medina, D. S., Orozco-Hernández, J. P., ... Sánchez-Duque, J. A. (2017). Factores de riesgo para mortalidad en la infección por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes oncológicos hospitalizados en tres ciudades de Colombia. *MedUNAB*, *20*(1). Retrieved from <https://www.redalyc.org/journal/719/71964822004/html/>
12. da Silveira Derengowski, L., Pereira, A. L., Andrade, A. C., Kyaw, C. M., & Silva-Pereira, I. (2009). Propranolol inhibits *Candida albicans* adherence and biofilm formation on biotic and abiotic surfaces. *International journal of antimicrobial agents*, *34*(6), 614-616. doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.08.004
13. Dai, L., Wu, T. Q., Xiong, Y. S., Ni, H. B., Ding, Y., Zhang, W. C., ... & Yu, J. (2019). Ibuprofen-mediated potential inhibition of biofilm development and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Life sciences*, *237*, 116947. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116947>
14. Dey, N., Vickram, S., Thanigaivel, S., Kamatchi, C., Subbaiya, R., Karmegam, N., & Govarthanam, M. (2022). Graphene materials: Armor against nosocomial infections and biofilm formation – A review. *Environmental Research*, *214*, 113867.

- <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113867>
15. Dunne, W. M. (2002). Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 155–166. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.2.155-166.2002>
  16. Floridia, M., Giuliano, M., Monaco, M., Palmieri, L., Cinzia Lo Noce, Anna Teresa Palamara, Pantosti, A., Silvio Brusaferrò, Onder, G., Agazio, E., P. Barbariol, Bella, A., Benelli, E., Bertinato, L., Bocci, M., Boros, S., Bressi, M., Calcagnini, G., Canevelli, M., & Federica Censi. (2022). Microbiologically confirmed infections and antibiotic-resistance in a national surveillance study of hospitalised patients who died with COVID-19, Italy 2020–2021. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01113-y>
  17. Giono-Cerezo, S., José Ignacio Santos-Preciado, Rayo, del, Torres-López, F. J., & María Dolores Alcántar-Curiel. (2020). Antimicrobial resistance. Its importance and efforts to control it. *Gaceta Medica de Mexico*, 156(2). <https://doi.org/10.24875/gmm.m20000358>
  18. Gong, H., He, L., Zhao, Z., Mao, X., & Zhang, C. (2021). The specific effect of (R)-(+)-pulegone on growth and biofilm formation in multi-drug resistant *Escherichia coli* and molecular mechanisms underlying the expression of *pgaABCD* genes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 134, 111149–111149. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111149>
  19. Haque, M., Sartelli, M., McKimm, J., & Abu Bakar, M. B. (2018). Health care-associated infections – an overview. *Infection and Drug Resistance*, Volume 11, 2321–2333. <https://doi.org/10.2147/idr.s177247>
  20. Hathaway, M. R. (2021). *MICROBIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS OF EFFLUX AND LIPID BIOSYNTHESIS IN MYCOBACTERIUM ABSCESSUS BIOFILMS* (Doctoral dissertation, Purdue University Graduate School). <https://doi.org/10.25394/PGS.14502285.v1>
  21. Jamal, M., Ahmad, W., Saadia Andleeb, Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M., Hussain, T., Ali, M., Rafiq, M., & Kamil, M. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
  22. LaSarre, B., & Federle, M. J. (2013). Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiology and molecular biology reviews*, 77(1), 73–111. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00046-12>
  23. Lee, K., Dong, X., Grenier, D., Wang, K., & Wang, Y. (2021). Research progress of bacterial quorum sensing receptors: Classification, structure, function and characteristics. *Science of the Total Environment*, 763, 143031–143031. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143031>
  24. Lemos, E. V., Rentería, S. R., Cárdenas, P., & Ramos-Castaneda, J. A. (2022). In vitro activity of ceftazidime/avibactam against Gram-negative strains in Colombia 2014–2018. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 29, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.02.018>
  25. Ministerio de Salud y Protección Social. Colombia. (2019). Informe al Congreso de la República 2018-2019.
  26. O'Toole, G. A. (2011). Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47. <https://doi.org/10.3791/2437>
  27. OMS | Organización Panamericana de la Salud. Informe del Sistema mundial de vigilancia de la resistencia y el uso de los antimicrobianos (GLASS): Protocolo de implementación temprana 2020 (solamente en inglés). (2020). Paho.org. <https://www.paho.org/es/documentos/informe-sistema-mundial-vigilancia-resistencia-uso-antimicrobianos-glass-protocolo>
  28. Ortega-Peña, S., Hernández-Zamora, E., Ortega-Peña, S., & Hernández-Zamora, E. (2019). Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 75(2), 79–88. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M1800012>

29. Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal–response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576–588. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.89>
30. Penagos-Tascón, L., Pahola Atehortúa-Baena, Libia María Rodríguez-Padilla, & Álvaro Hoyos-Orrego. (2022). Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de la infección del tracto urinario neonatal en un hospital en Medellín, 2013-2017\*\*. *Iatreia*, 35(1), 11–20. Retrieved from <https://www.redalyc.org/journal/1805/180571097003/html/>
31. Petersen, F., & Hubbart, J. A. (2020). Physical factors impacting the survival and occurrence of *Escherichia coli* in secondary habitats. *Water*, 12(6), 1796. <https://doi.org/10.3390/w12061796>
32. PubChem. (2023). *Acetaminophen*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1983>
33. PubChem. (2023). *Captopril*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44093>
34. PubChem. (2023). *Cetirizine*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2678#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
35. PubChem. (2023). *Diclofenac*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3033#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
36. PubChem. (2023). *Hydrochlorothiazide*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3639>
37. PubChem. (2023). *Ibuprofen*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3672>
38. PubChem. (2023). *Loratadine*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3957#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
39. PubChem. (2023). *Lovastatin*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/53232>
40. PubChem. (2023). *Metformin*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4091#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
41. PubChem. (2023). *Naproxen*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/156391>
42. PubChem. (2023). *Propranolol*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4946>
43. PubChem. (2023). *Verapamil*. @Pubchem; PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2520>
44. R Core Team (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
45. Rasamiravaka, T., Labtani, Q., Duez, P., & El Jaziri, M. (2015). The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed research international*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/759348>
46. Rosenthal, V. D., Bat-Erdene, I., Gupta, D., Belkebir, S., Rajhans, P., Zand, F., ... Guerrero-Toapanta, F. M. (2020). International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2012-2017: Device-associated module. *American Journal of Infection Control*, 48(4), 423–432. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.08.023>
47. Shi, Q., Huang, C., Xiao, T., Wu, Z., & Xiao, Y. (2019). A retrospective analysis of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: prevalence, risk factors, and outcome in carbapenem-susceptible and -non-susceptible infections. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0520-8>
48. Subhadra, B., Kim, D. H., Woo, K., Surendran, S., & Choi, C. H. (2018). Control of biofilm formation in healthcare: Recent advances exploiting quorum-sensing interference strategies and



- multidrug efflux pump inhibitors. *Materials*, 11(9), 1676. <https://doi.org/10.3390/ma11091676>
49. Sultan, A. R., Lattwein, K. R., Lemmensden Toom, N. A., Snijders, S. V., Kooiman, K., Verbon, A., & van Wamel, W. J. (2021). Paracetamol modulates biofilm formation in *Staphylococcus aureus* clonal complex 8 strains. *Scientific Reports*, 11(1), 5114. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84505-1>
50. Tay, S. B., & Yew, W. S. (2013). Development of quorum-based anti-virulence therapeutics targeting Gram-negative bacterial pathogens. *International journal of molecular sciences*, 14(8), 16570-16599. <https://doi.org/10.3390/ijms140816570>
51. Teherán Vergara, V. J. (2016). *Efecto de Ibuprofeno y Diclofenaco sobre la formación de biopelículas en Escherichia Coli y Klebsiella pneumoniae causantes de infecciones urinarias* (Doctoral dissertation, Universidad de Cartagena). <https://hdl.handle.net/11227/14769>
52. Villalobos, A. P., Barrero, L. I., Rivera, S. M., Ovalle, M. V., & Valera, D. (2013). Vigilancia de infecciones asociadas a la atención en salud, resistencia bacteriana y consumo de antibióticos en hospitales de alta complejidad, Colombia, 2011. *Biomédica*, 34(0), 67. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1698>
53. Wei, Q., & Ma, L. Z. (2013). Biofilm Matrix and Its Regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 20983–21005. <https://doi.org/10.3390/ijms141020983>
54. Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
55. WHO World Health Organization. (2017, February 27). publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. Retrieved from Who.int website: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
56. Yu, Q., Ding, X., Xu, N., Cheng, X., Qian, K., Zhang, B., ... & Li, M. (2013). In vitro activity of verapamil alone and in combination with fluconazole or tunicamycin against *Candida albicans* biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 41(2), 179-182. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.10.009>
57. Zhou, Y., Yang, H., Zhou, X., Luo, H., Tang, F., Yang, J., ... & Ren, B. (2018). Lovastatin synergizes with itraconazole against planktonic cells and biofilms of *Candida albicans* through the regulation on ergosterol biosynthesis pathway. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 5255-5264. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8959-8>

## ANEXO 1.

### Perfil *Pseudomonas aeruginosa* 1:

#### CULTIVO AEROBIOS SECRECION

ESPECIFICACIONES: *Pseudomonas aeruginosa* #1 N.MC

##### *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiograma	CMI	
Amikacina	>=64	Resistente
Aztreonam	8	Sensible
Cefepime	16	Resistente
Ceftazidima	>=64	Resistente
Ceftazidima/Avibactam	>=16	Resistente
Ceftolozano/Tazobactam	>=32	Resistente
Ciprofloxacina	>=4	Resistente
Imipenem	>=16	Resistente
Meropenem	4	Intermedio
PNY		

### Perfil *Pseudomonas aeruginosa* 2:

#### CULTIVO AEROBIOS SECRECION

ESPECIFICACIONES: *Pseudomonas aeruginosa* #2 N.M.C

##### *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiograma	CMI	
Amikacina	>=64	Resistente
Aztreonam	4	Intermedio
Cefepime	16	Resistente
Ceftazidima	>=64	Resistente
Ceftazidima/Avibactam	>=16	Resistente
Ceftolozano/Tazobactam	>=32	Resistente
Ciprofloxacina	>=4	Resistente
Imipenem	>=16	Resistente
Meropenem	4	Intermedio
Piperacilina/Tazobactam	>=128	Resistente
PNY		

### Perfil *Escherichia coli* R4:

**Escherichia coli**

"El perfil de sensibilidad sugiere presencia de betalactamasas de alto nivel tipo BLEE".

Antibiograma	CMI	
Amikacina	4	Sensible
Ampicilina-Sulbactam	>=32	Resistente
Aztreonam	2	Sensible
BLEE	Pos	+
Cefepime	0,5	Sensible
Ceftazidima	4	Sensible
Ceftazidima/Avibactam	0,25	Sensible
Ceftolozano/Tazobactam	0,5	Sensible
Ciprofloxacina	<=0,06	Sensible
Ertapenem	4	Resistente
Imipenem	8	Resistente
Meropenem	<=0,25	Sensible
Piperacilina/Tazobactam	>=128	Resistente
Tigeciclina	<=0,5	Sensible

**Perfil Escherichia coli RM:****Escherichia coli**

Antibiograma	CMI	
BLEE	POS	+
Ampicilina	>=32	Resistente
Ampicilina/Sulbactam	4	Sensible
Piperacilina/Tazobactam	<=4	Sensible
Cefazolina	>=64	Resistente
Ceftazidima	4	Resistente
Ceftriaxona	<=1	Resistente
Cefepima	4	Resistente
Aztreonam	4	Resistente
Ertapenem	<=0.5	Sensible
Meropenem	<=0.25	Sensible
Amicacina	<=2	Sensible
Gentamicina	<=1	Sensible
Ciprofloxacino	>=4	Resistente
Tigeciclina	<=0.5	Sensible
Nitrofurantoína	<=16	Sensible
Trimetoprima/Sulfametoxazol	>=320	Resistente