

PANORAMA Y PERSPECTIVAS EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA MICROBIANA



Edith Yunary Acosta Urrego
Wendy Gineth Martínez Lugo
Wendy Daniela Mejía Contreras
Paola Andrea Santos Ruiz
Gladys Pinilla Bermúdez
Claudia Andrea Cruz Baquero
Jeannette Navarrete Ospina



UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA
SELLO EDITORIAL

Panorama y perspectivas en el diagnóstico y tratamiento de la resistencia microbiana

Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Acosta Urrego, Edith Yunary, autor

Panoramas y perspectivas en al diagnóstico y tratamiento de la resistencia microbiana / Edith Yunary Acosta Urrego [y otros seis]. -- Bogotá : Sello Editorial Colegio Mayor de Cundinamarca, 2024.
126 páginas.

Incluye referencias bibliográficas -- Texto en español con resumen en inglés.

ISBN 978-958-5198-25-8

1. Resistencia a los medicamentos en microorganismos – Diagnóstico
2. Resistencia a los medicamentos en microorganismos – Tratamiento 3.
Microorganismos - Efecto de los antibióticos 4. Antibióticos peptídicos 5.
Microbiología médica I. Martínez Lugo, Wendy Gineth, autora II. Mejía Contreras,
Wendy Daniela, autora III. Santos Ruiz, Paola Andrea, autora IV. Pinilla Bermúdez,
Gladys, autora V. Cruz Baquero, Claudia Andrea, autora VI. Navarrete Ospina,
Jeannette, autora

CDD: 616.9041 ed. 23

CO-BoBN– 00016

Primera Edición, 2024

© Edith Yunary Acosta Urrego, Wendy Gineth Martínez Lugo, Paola Andrea Santos Ruiz, Gladys Pinilla Bermúdez, Claudia Andrea Cruz Baquero, Jeannette Navarrete Ospina.

© Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Carrera 13 No. 38- 29, Edificio San Juan, noveno piso

selloeditorial@unicolmayor.edu.co

www.unicolmayor.edu.co

Diseño de portada, diagramación e impresión: Imageprinting SAS

Corrección de Estilo: Image Printing SAS

Bogotá, Colombia, 2024

ISBN: 978-958-5198-25-8

El contenido de esta obra está protegido por las leyes y tratados internacionales en materias del Derecho de autor. Queda prohibida su reproducción total o parcial por cualquier medio impreso o digital conocido o por conocer sin contar con la previa autorización de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Panorama y perspectivas en el diagnóstico y tratamiento de la resistencia microbiana

Edith Yunary Acosta Urrego

Wendy Gineth Martínez Lugo

Wendy Daniela Mejía Contreras

Paola Andrea Santos Ruiz

Gladys Pinilla Bermúdez

Claudia Andrea Cruz Baquero

Jeannette Navarrete Ospina



UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA

SELLO EDITORIAL

Contenido

Resumen	9
Abstract	10
Introducción	11
1. Los antimicrobianos, historia y generalidades	15
1.1 Mecanismos de acción de los principales antimicrobianos	20
2. Microorganismos asociados a resistencia microbiana de importancia a nivel hospitalario	25
2.1 Bacterias Gram positivas	28
2.2 Bacterias Gram negativas	31
2.3 Levaduras	35
3. Resistencia a los antimicrobianos	37
3.1 Tipos de resistencia a los antimicrobianos	41
3.2 Mecanismos de resistencia bacteriana	43
3.2.1 Pared bacteriana	44
3.2.2 Modificación del sitio blanco	45
3.2.3 Inactivación enzimática	46
3.2.4 Bombas de eflujo	47
3.2.5 Resistencia mutacional	48
3.2.6 Biopelículas o biofilms bacterianos como mecanismos de resistencia.	49
3.3 Factores que aceleran la propagación de la resistencia a los antimicrobianos	50
4. Panorama de la resistencia a los antimicrobianos	53
4.1 Enterobacterias resistentes a carbapenémicos	61
5. Estrategias de intervención para combatir la resistencia antimicrobiana	65
6. Características generales de los péptidos antimicrobianos	71
6.1 Clasificación de los péptidos antimicrobianos	74

6.2 Mecanismos de interacción de los PAMs con la membrana	77
6.2.1 Modelo de alfombra	77
6.2.2 Modelo barril	78
6.2.3 Modelo del poro toroidal	79
6.2.4 Mecanismo de agregado	80
6.3 Los PAMs como alternativa terapéutica	80
6.4 Péptidos antimicrobianos de la familia catelicidinas	81
6.5 Actividad antimicrobiana del péptido LL-37	82
7. Otras alternativas terapéuticas no convencionales	85
7.1 Bacteriófagos contra bacterias resistentes a fármacos	87
7.2 Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas o CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)	88
7.3 Compuestos antibiopelícula e inhibidores del sistema Quorum Sensing	90
7.4 Anticuerpos	90
8. Diagnóstico microbiológico de la resistencia microbiana	91
8.1 Curvas de crecimiento bacteriano	95
8.2 Fases de las curvas de crecimiento	96
8.2.1 Fase de latencia (Fase Lag)	96
8.2.2 Fase exponencial (Fase Lag 2)	97
8.2.3 Fase estacionaria	98
8.2.4 Fase de muerte	99
9. Diagnóstico molecular de la resistencia microbiana	101
9.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	104
9.2 Electroforesis	105
9.3 Enzimas de restricción	106
9.4 Electroforesis en campo pulsado	107
9.5 Microarreglos o microarrays	107
9.6 Espectrometría de masas MALDI-TOF	108
Referencias	109

Lista de tablas

Tabla 1. Diferencias entre antibióticos bactericidas y bacteriostáticos	19
Tabla 2. Familias de antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular y sus mecanismos de resistencia	21
Tabla 3. Familias de antibióticos que inhiben la síntesis proteica y sus mecanismos de resistencia	22
Tabla 4. Familias de antibióticos que inhiben el metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos y sus mecanismos de resistencia	23
Tabla 5. Bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos priorizadas por la OMS.	56
Tabla 6. Carbapenemasas Ambler clase A	63
Tabla 7. Carbapenemasas Ambler clase B	64
Tabla 8. Carbapenemasas Ambler clase C	64
Tabla 9. Clasificación y características de los PAMs	75

Lista de figuras

Figura 1. Coloración Gram de <i>S. aureus</i>	29
Figura 2. Coloración Gram de <i>E. coli</i>	32
Figura 3. Morfología de <i>K. pneumoniae</i>	33
Figura 4. Coloración Gram de <i>P. aeruginosa</i>	34
Figura 5. Morfología de <i>Candida sp</i>	35
Figura 6. Causas por las cuales se genera resistencia a los antibióticos	40
Figura 7. Tipos de resistencia microbiana	41
Figura 8. Mecanismos de transferencia horizontal de genes	42
Figura 9. Mecanismos de resistencia	43
Figura 10. Definición de los mecanismos de resistencia	44
Figura 11. Distribución geográfica de Carbapenemasas en Colombia	57
Figura 12. Perfil de resistencia de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> en UCI adulto año 2020	58
Figura 13. Tasa de resistencia anual durante el período de 2005 a 2009	60
Figura 14. Clasificación de Enterobacterias Resistentes a Carbapenémicos	62
Figura 15. Sitios de producción y secreción de PAMs en el cuerpo humano	74
Figura 16. Modelo de alfombra	77
Figura 17. Modelo de barril	78
Figura 18. Modelo de poro coloidal	79
Figura 19. Modelo de agregado	80
Figura 20. Estructura del péptido LL-37	83
Figura 21. Fases de la curva de crecimiento bacteriano	96
Figura 22. Gel de electroforesis. PCR para el gen <i>mrkA</i> . 1. Marcador de peso molecular BIOLINE 50 pb. 3,5, 7 y 9 Muestras positivas para el gen.CN: control negativo	106

Resumen

Esta publicación describe información relevante de los principales patógenos causantes de infecciones resistentes a los antimicrobianos, mecanismos empleados por los mismos para ocasionar dicha resistencia, además de exteriorizar el panorama actual de esta problemática que ha llevado a la implementación por parte de los entes gubernamentales de diversas estrategias de intervención que permitan una mayor prevención y control en la diseminación de estos.

Al mismo tiempo se presentan las diferentes técnicas desde, convencionales hasta métodos moleculares, que permitan un diagnóstico rápido del perfil de susceptibilidad o resistencia para llevar a cabo un posterior tratamiento. Dado que los fármacos actualmente utilizados en el control de las infecciones microbianas, han disminuido su efectividad, se ha hecho necesario efectuar la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas prometedoras como los péptidos antimicrobianos, los cuales describimos ampliamente con el fin de combatir estos patógenos ya sea empleándolos de manera individual y/o conjunta con los antibióticos.

Palabras clave: Resistencia microbiana, diagnóstico, antimicrobianos, tratamiento, péptidos antimicrobianos.

Abstract

This publication describes relevant information on the main pathogens causing antimicrobial-resistant infections, and mechanisms used by these pathogens to cause such resistance, in addition to externalizing the current panorama of this problem, which has led to the implementation by government agencies of various intervention strategies that allow greater prevention and control in the dissemination of these pathogens.

At the same time, different techniques are presented, from conventional to molecular methods, which allow a rapid diagnosis of the susceptibility or resistance profile to carry out a subsequent treatment. Since the drugs currently used to control microbial infections have decreased their effectiveness, it has become necessary to search for promising therapeutic alternatives such as antimicrobial peptides, which we describe extensively to combat these pathogens either individually and/or together with antibiotics.

Keywords: Microbial resistance, diagnosis, antimicrobials, treatment, antimicrobial peptides.

Introducción

Los antibióticos fueron inicialmente concebidos como “medicamentos milagrosos”, sobre todo, porque se introdujeron en una época en la que sólo se disponía de drenajes quirúrgicos o curas espontáneas para tratar infecciones bacterianas graves. A lo largo de las cinco o seis décadas transcurridas desde su introducción aparecieron varias clases de estos fármacos (R. Aminov, 2017). Infortunadamente por diversos mecanismos y, como consecuencia de su uso indiscriminado, muchos grupos bacterianos están mostrando resistencia a estos antibióticos.

En la actualidad, aunque la mayoría de las infecciones bacterianas aún pueden tratarse con los antibióticos disponibles, utilizados solos o en combinación, la resistencia microbiana frente a estos compuestos ha venido en aumento, constituyendo una problemática de salud pública a nivel mundial (Khabbaz et al., 2017).

Los microorganismos poseen una variedad de mecanismos relacionados con la resistencia, tanto intrínsecos como adquiridos. Son ejemplos, los genes de resistencia, codificados en su material genético o inducibles mediante plásmidos que responden a diferentes estímulos del medio (Santajit & Indrawattana, 2016).

Bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y, algunas otras no enterobacterias, son responsables de un importante porcentaje de infecciones que abarcan desde, infecciones urinarias y gastrointestinales leves, hasta complicaciones más severas como enfermedades nosocomiales y bacteriemias. Algunos de estos microorganismos presentan mecanismos de resistencia, como expresión de enzimas betalactamasas (BLEE y AmpC), topoisomerasas, baja permeabilidad en la membrana y formación de biopelículas, lo cual hace que cada vez sea más complicado dar un tratamiento a las infecciones dadas por estos microorganismos y así reduciéndose el número de antibióticos efectivos (Shrivastava & Chng, 2019).

En Colombia, el reporte de vigilancia de los aislamientos bacterianos por laboratorio y perfiles de resistencia antimicrobiana en 2018 señaló altos porcentajes de resistencia a cefalosporinas de tercera generación en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) de adulto, principalmente por la bacteria Gram negativa *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*). De manera similar, se reportó alta resistencia a carbapenémicos en las UCI para *K. pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y *Acinetobacter baumannii* (INS - Instituto Nacional de Salud, 2018).

Debido a lo anterior, se han propuesto distintos tratamientos alternativos al uso tradicional de antibióticos; uno de estos, es el uso de péptidos antimicrobianos (PAMs), los cuales han mostrado la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano. Gracias a su particular modo de acción, dada por su habilidad de unión a la pared y membrana celular, sin requerir de receptores específicos, se ha relacionado a una baja tasa de generación de resistencia microbiana frente a estas moléculas, apoyando la consideración de los PAMs como una nueva alternativa para combatir las infecciones bacterianas (Ageitos, Sánchez-Pérez, Calo-Mata, & Villa, 2017; Santos, Muñoz, Cruz, Navarrete, & Pinilla, 2021).

Uno de los PAMs más reconocidos es el péptido LL-37; este péptido es un miembro de la familia de las catelicidinas en el

cual se ha evaluado su acción sobre diferentes microorganismos y, de igual manera, se han evaluado sus derivados isoméricos en la actividad antimicrobiana y/o anti-biopelícula (Wang, 2014).

En consideración a los temas expuestos y el planteamiento de la problemática mundial de resistencia microbiana a los fármacos actualmente en uso, el presente libro expone una revisión descriptiva sobre los principales microorganismos de importancia clínica, los mecanismos de resistencia a los fármacos, el panorama actual de la resistencia en Colombia y a nivel mundial, estrategias de intervención en curso y las que se pueden proyectar en diferentes niveles de atención. Se incluye un capítulo sobre los métodos actuales de diagnóstico convencional de la resistencia bacteriana y algunos avances en diagnóstico molecular. Finalmente, se describen las características principales, clasificación y mecanismos de acción de los PAMs, como un enfoque alternativo a la quimioterapia antimicrobiana frente a microorganismos resistentes.

1. Los antimicrobianos, historia y generalidades

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los antimicrobianos, bien sean antibióticos, antivíricos, antifúngicos y antiparasitarios, son medicamentos que se usan para la prevención y tratamiento de infecciones en humanos, animales y plantas (WHO, 2020). Estas moléculas, actúan inhibiendo el crecimiento de determinados microorganismos, o destruyendo las células a través de diversos mecanismos. En su mayoría, los antimicrobianos son de origen natural, como metabolitos secundarios sintetizados por las mismas bacterias y hongos (Dehghan Esmatabadi et al., 2017).

El uso de antimicrobianos se ha evidenciado desde hace miles de años, en antiguas civilizaciones como en el antiguo Egipto, Serbia, Grecia y en China de la Edad Media, donde utilizando texturas mohosas trataban heridas y dolencias (Gould, 2016). No obstante, fue hasta el año 1909 cuando Paul Ehrlich descubrió la arsfenamina, un compuesto químico derivado del arsénico con actividad antimicrobiana frente al agente causal de sífilis, *Treponema pallidum* (R. I. Aminov, 2010). El primer antimicrobiano descrito y, mayormente conocido fue la penicilina; un antibiótico derivado del hongo *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium notatum*, descubierto en 1929 por Alexander Fleming cuando identificó que las sustancias producidas por el hongo *Penicillium*

tenían la capacidad de inhibir el desarrollo de bacterias como *Staphylococcus aureus* en cultivo. Posterior a ello, fue comercializado para su uso clínico en la década de 1940 (R. Aminov, 2017). Desde este año, hasta 1980, se logró la producción de compuestos macrólidos, quinolonas, tetraciclinas y cefalosporinas (Mullis, Rambo, Baker, & Reese, 2019).

Ejemplos de estos descubrimientos están, entre otros: la estreptomicina, aislada en el año 1943 por el microbiólogo Selman Abraham Waksman a partir del hongo *Streptomyces griseus* del suelo; la neomicina, aislada en 1949 del *Streptomyces fradiae*; y la kanamicina del *Streptomyces kanamyceticus* en 1957; en el año 1963, se logró aislar la gentamicina derivada de *Micromonospora purpurea*; en 1976, a partir del *Streptomyces tenebrarius*, aparece la Tobramicina (R. Aminov, 2017). En los años posteriores se desarrolló una gran variedad de antimicrobianos lo cual fue ampliando las opciones de tratamiento para el control de enfermedades infecciosas.

Sin embargo, a finales de la década de los sesenta, el desarrollo de fármacos antimicrobianos experimentó una disminución al igual que el interés de la industria farmacéutica de invertir en la investigación y desarrollo de nuevos compuestos antimicrobianos. Es así como la última clase de antimicrobianos descubierta fue la daptomicina en el año 1968 (Gray & Wenzel, 2020). Desde entonces, la mayoría de fármacos producidos se basan en la modificación en la estructura química de medicamentos en uso, con el fin de mejorar su mecanismo de acción (Guo, 2017).

Anteriormente, la obtención de los antibióticos se realizaba por producción natural mediante un cultivo del microorganismo productor de la molécula de interés derivados generalmente, del metabolismo secundario, del cual se extraía ésta para su posterior purificación y poder ser llevado a su producción en masa. En la actualidad, la producción de los antibióticos se realiza mediante la modificación química, produciendo así antibióticos

semi-sintéticos, o mediante la síntesis química, de la cual se obtienen los antibióticos sintéticos (Guo, 2017).

La llegada de los antibióticos marcó una nueva era en la medicina revolucionando el tratamiento de las enfermedades infecciosas que, en su momento, presentaban alta prevalencia y mortalidad; facilitando el desarrollo de otros procedimientos médicos como cirugías y trasplantes.

No obstante, en los años venideros, la industrialización de los antibióticos y su uso inadecuado, al aplicar una dosis insuficiente de antibiótico, y exponer a los microorganismos a una cantidad no letal del medicamento, han desencadenado que éstos adquieran fenotipos de resistencia, desencadenando la pérdida de eficacia para el tratamiento de infecciones (Skarżyńska, Zajac, & Wasyl, 2020).

Es así, como los antimicrobianos se pueden clasificar de acuerdo a su origen en bacterias, hongos o plantas; con el mecanismo de acción, su estructura química y su espectro de actividad (Dehghan Esmatabadi et al., 2017). De manera general, y de acuerdo a su espectro de actividad, pueden clasificarse en bactericidas o bacteriostáticos, estas diferencias se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. *Diferencias entre compuestos bactericidas y bacteriostáticos*

Bactericida	Bacteriostático
Provoca la muerte de las bacterias de manera irreversible	No destruye ni mata las bacterias, pero si detiene su crecimiento
Inhibe la síntesis de la pared, alterando la membrana citoplásmica o interfiriendo con algunos aspectos del metabolismo del ADN	Inhiben la síntesis proteica, excepto los aminoglucósidos.
Ejemplos: aminoglucósidos, betalactámicos, glicopéptidos, quinolonas, polimixinas	Ejemplos: macrólidos, tetraciclinas, cloranfenicol, entre otros.

Fuente: Tomado y modificado de Skarżyńska et al., 2020.

1.1. Mecanismos de acción de los principales antimicrobianos

Los antimicrobianos poseen diferentes mecanismos a través de los cuales ejercen su acción; los más comunes son alteraciones en la pared celular, la síntesis proteica, metabolismo de ácidos nucleicos.

- **Inhibición de la síntesis de la pared celular (β -lactámicos)**

La pared celular puede verse afectada en su síntesis o en su organización estructural. La ausencia de la pared bacteriana genera un desequilibrio por la elevación del gradiente de osmolaridad entre el medio y el citoplasma bacteriano (Singh, Qureshi, & Hassan, 2021). Estos antimicrobianos suelen ser más eficaces en bacterias Gram positivas debido a la presencia del peptidoglicano.

Teniendo en cuenta que la pared celular se desarrolla en tres fases, existen los antimicrobianos que inhiben, bien sea, i) la etapa citoplasmática, donde se sintetizan los precursores del peptidoglicano; ii) el transporte a través de la membrana citoplasmática, y iii) la organización final de la estructura del peptidoglicano, que se desarrolla en la parte más externa de la pared (Singh et al., 2021). Los principales antibióticos que tienen como mecanismo de acción la inhibición de la síntesis de la pared celular, se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. *Familias de antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular y sus mecanismos de resistencia*

Familias de antibióticos	Mecanismos de resistencia microbiana
Penicilinas Cefalosporinas Carbapenémicos	Inactivación del fármaco. Producción de β -lactamasas. Falta de sensibilidad del blanco. Reducción de la permeabilidad
Glucopéptidos	Alteración del blanco a través de la sustitución de los aminoácidos terminales del peptidoglicano

• Síntesis de proteínas

La síntesis proteica se ve afectada por la inhibición, cambio o modificación del proceso. Este es el mecanismo de acción más común, a pesar de que es uno proceso selectivo, teniendo en cuenta que los ribosomas bacterianos están formados por dos subunidades (30S y 50S), que contienen ARN ribosómico (ARNr 16S en la subunidad 30S, y ARNr 5S y ARNr 23S en la subunidad 50S) y diversas proteínas llamadas S (small o pequeña, en la subunidad 30S) o L (large o grande, en la subunidad 50S) (Singh et al., 2021).

La síntesis proteica incluye las fases de activación, iniciación, y elongación en las cuales actúan diferentes antimicrobianos. Los principales antibióticos que tienen como mecanismo de acción Inhibición de la síntesis proteica, se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. *Familias de antibióticos que inhiben la síntesis proteica y sus mecanismos de resistencia*

Subunidad ribosómica	Familias de antibióticos	Mecanismos de resistencia microbiana
Subunidad 50S	Macrólidos Oxazolidinonas	Mutación ribosomal en el 23S rRNA, descenso de la permeabilidad de la pared celular, emisión activa
	Estreptograminas	Inactivación del fármaco
	Lincosamidas	Metilación ribosómica, emisión activa
	Anfenicoles	Inactivación del fármaco a través de la enzima acetiltransferasa y glucoronil transferasa
Subunidad 30S	Tetraciclinas	Acumulación reducida del fármaco intracelular, falta de sensibilidad del objetivo e inactivación enzimática
	Aminoglucósidos	Inactivación del fármaco a través de adenilasas, fosforilasas y acetilasas. Transferencia de ADN en forma de plásmidos y permeabilidad reducida a través de la membrana externa

- **Alteración del metabolismo o estructura de los ácidos nucleicos**

Los antibióticos que causan alteración del metabolismo de ácidos nucleicos pueden afectar el genoma bacteriano ya que durante el proceso de síntesis de proteínas y de ARN ribosómico participan diferentes enzimas y sustratos que constituyen dianas para la acción de diversos antibióticos. Principalmente se encuentra involucrada la enzima ADN girasa, o bloqueo de la síntesis de factores metabólicos (Calvo & Martínez-Martínez, 2009). Esta clase de antibióticos se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. *Familias de antibióticos que inhiben el metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos y sus mecanismos de resistencia*

Familias de antibióticos	Mecanismos de resistencia microbiana
Quinolonas	Mutación de los genes de girasa o acumulación reducida del fármaco intracelular
Sulfonamidas	Producción de objetivos insensibles a través de la dihidropteroato sintasa

2. Microorganismos asociados a resistencia microbiana de importancia a nivel hospitalario

Las enfermedades infecciosas representan un gran desafío para el sistema de salud a nivel mundial. A pesar de los esfuerzos de la comunidad científica en el desarrollo de nuevos antimicrobianos y alternativas terapéuticas, actualmente estas enfermedades han alcanzado niveles alarmantes de mortalidad y morbilidad, especialmente en pacientes hospitalizados, inmunocomprometidos o de alto riesgo (García Palomo, Agüero Balbín, Parra Blanco, & Santos Benito, 2010; Kollef, Torres, Shorr, Martin-Loeches, & Micek, 2021). Lo anterior, asociado al desarrollo de resistencia a los antimicrobianos usados comúnmente para su tratamiento, ha empeorado el panorama.

Es así como la OMS, en el año 2017, publicó una lista de microorganismos con “Prioridad crítica” para la búsqueda de nuevos tratamientos eficaces para su control, debido a los altos niveles de resistencia y su prevalencia en los ambientes clínicos (WHO, 2020). Entre los patógenos de mayor importancia presentado en la lista de patógenos prioritarios se encuentran: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, entre otros (Gajdács & Albericio, 2019).

Estos microorganismos son los agentes causales de un amplio rango de infecciones que afectan el tracto respiratorio, el torrente sanguíneo, el tracto urinario, infecciones de heridas e infecciones del sistema nervioso, asociados tanto a entornos clínicos como a entornos comunitarios. Adicionalmente, presentan perfiles de multirresistencia y frecuentemente tienen la facilidad de transferir y adquirir material genético con otros microorganismos, promoviendo la diseminación de microorganismos resistentes asociado a la expresión de una gran variedad de factores de virulencia (Andersson, Nicoloff, & Hjort, 2019; Jung, Ryu, & Kim, 2019).

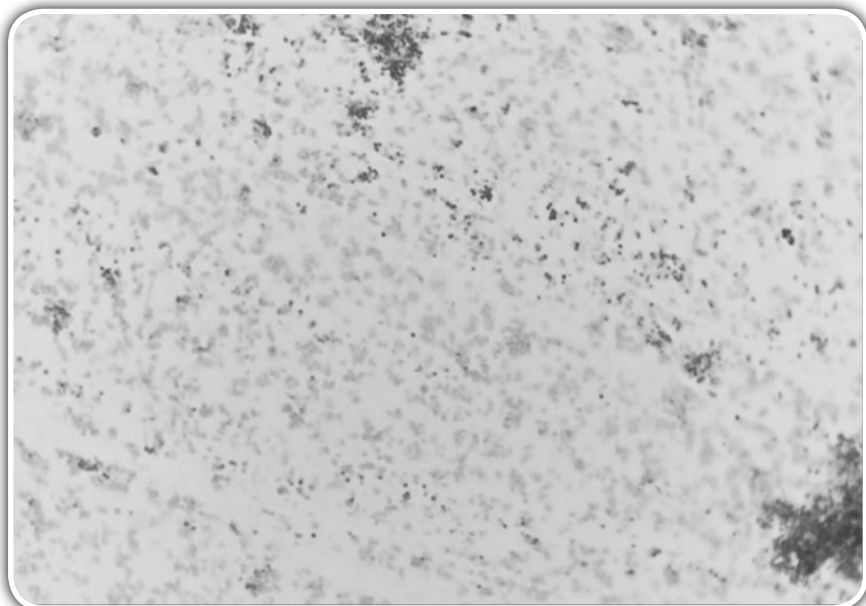
A continuación, se describen las principales características de los microorganismos causantes de infecciones en entornos clínicos y entornos comunitarios, agrupados en bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras.

2.1 Bacterias Gram positivas

Estas bacterias se encuentran como flora normal de la piel y mucosas en humanos y animales; pero pueden comportarse como patógenos oportunistas llegando a ocasionar infecciones de importancia clínica en tejidos, enfermedades respiratorias, e intoxicaciones alimenticias. En general poseen un metabolismo respiratorio aerobio facultativo, pueden ser esféricas como cocos dispuestos en cadenas, tétradas y racimos o en forma de bacilos (Quispe Pari & Castillo Limberd, 2014).

***Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)** es un coco Gram positivo que suele asociarse en racimos (Figura 1). Forma parte de la microbiota cutánea y son también causa habitual de infecciones tanto en la comunidad como en los centros de atención de salud. Las infecciones ocasionadas por *S. aureus*, se presentan desde infecciones en piel y tejidos blandos, otitis, neumonía hasta sepsis generalizadas (Cheung, Bae, & Otto, 2021).

Figura 1. Coloración Gram de *S. aureus*. Se observan cocos Gram positivos en diferentes agrupaciones



Fuente: elaboración propia.

La patogenicidad de *S. aureus* está dada por una gran diversidad de factores de virulencia, en el que se destaca la producción de enzimas que facilita la invasión y destrucción del tejido, como son la hialuronidasa, DNasa, lipasa y fibrinolisisina y la secreción de toxinas como la toxina exfoliativa causante del síndrome de piel escaldada en recién nacidos y la toxina del síndrome de shock tóxico estafilocócico STTT (Bien, Sokolova, & Bozko, 2011).

Staphylococcus epidermidis (S. epidermidis) es un microorganismo comensal presente en la piel y en las membranas mucosas. Sin embargo, debido a ciertos factores, éste se ha convertido en un patógeno oportunista de gran importancia clínica debido a su alta prevalencia en las infecciones intra-hospitalarias, siendo considerado como el principal agente causal de la bacteriemia nosocomial afectando en mayor medida a grupos susceptibles como neonatos, prematuros y pacientes inmunosuprimidos; así mismo, ha sido implicado en infecciones asociadas

a dispositivos médicos como catéter, prótesis y sondas y es causa común de cistitis, endocarditis y septicemia (Chabi & Momtaz, 2019).

Su relevancia a nivel hospitalario está relacionada con su capacidad para adherirse rápidamente en la superficie de tejidos o dispositivos médicos por medio de interacciones hidrófobas, la secreción de adhesinas y la expresión de proteína de superficie estafilocócica 1 y 2 (SSP 1-2) que promueven a su vez la formación de biopelícula que es el factor de virulencia más importante que posee este microorganismo (Brescó et al., 2017).

Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) o también llamado neumococo, es un coco Gram positivo que generalmente se dispone en pares. Es parte del microbiota de las vías aéreas, pero comúnmente puede convertirse en oportunista y producir infecciones de importancia clínica tanto en niños como en adultos. Es la principal causa de la neumonía adquirida en la comunidad y puede asociarse también con infecciones respiratorias, otitis media aguda, meningitis y sepsis (Brooks & Mias, 2018). En cuanto a sus principales factores de virulencia se encuentra la cápsula que le provee protección contra la fagocitosis. La IgA proteasa que inhibe la respuesta inmune del huésped y la enzima hemolisina productora de hemólisis (Tikhomirova et al., 2021).

Streptococcus pyogenes (S. pyogenes) es una bacteria Gram positiva, habitualmente encontrada en piel y mucosas humanas. Es conocido como el causante principal de faringitis bacteriana en el hombre y está implicada en un gran número de infecciones cutáneas como la escarlatina, el impétigo y la celulitis y en otras infecciones como otitis, neumonía y fiebre reumática, entre otras (Lannes-Costa, de Oliveira, da Silva Santos, & Nagao, 2021).

S. pyogenes, cuenta con importantes factores antigénicos como la proteína M, en su pared celular que le permite evadir la fagocitosis por parte de células especializadas. El ácido lipoteicoico presente en la superficie celular le permite una mayor adhesión al epitelio celular del huésped y presenta también una

cápsula de ácido hialurónico que evade el reconocimiento por parte del sistema inmune. Además, esta bacteria secreta enzimas como la estreptoquinasa, hialuronidasa, estreptolisina O y S y la exotoxina pirogénica causante de la escarlatina (Lannes-Costa et al., 2021).

Enterococcus faecalis (E. faecalis) es una bacteria del tracto gastrointestinal que puede colonizar otras áreas como la mucosa orofaríngea y vaginal así como la piel. Comúnmente se dispone en pares o cadenas y tiene la capacidad de sobrevivir a condiciones extremas lo cual le permite vivir en diferentes ambientes como el agua, el suelo y los alimentos. Es un microorganismo frecuente en infecciones nosocomiales y se ha asociado a infecciones urinarias, intra-abdominales, bacteriemias, endocarditis y enfermedades dentales como periodontitis y caries (García-Solache & Rice, 2019).

E. faecalis es considerado uno de los patógenos nosocomiales resistentes a múltiples fármacos más prevalentes a nivel mundial, asociado a factores de virulencia como la presencia de la proteína de superficie enterocócica que aumenta la capacidad de adherencia y colonización de superficies bióticas o abióticas, la producción de enzimas como gelatinasa y citolisina y la formación de biopelícula (A. C. Anderson et al., 2016).

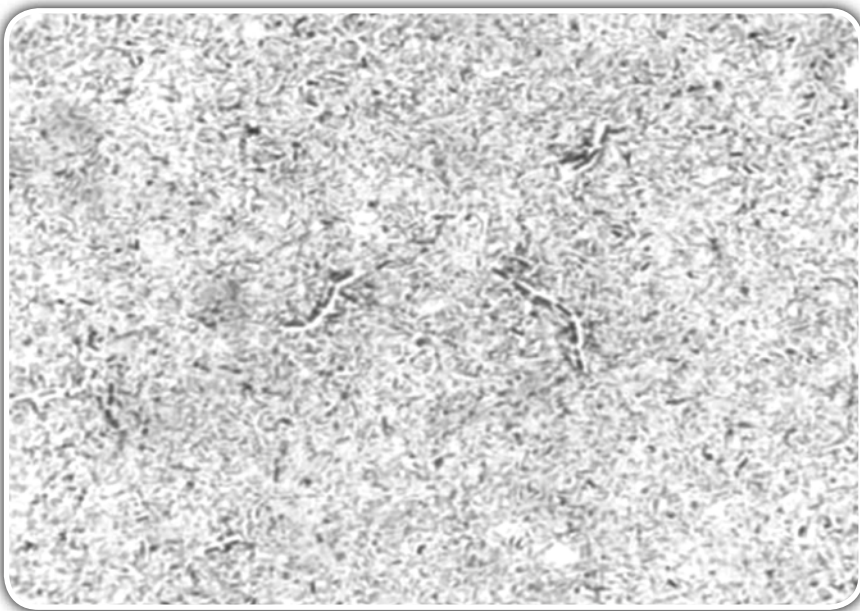
2.2 Bacterias Gram negativas

Las bacterias Gram negativas son responsables de generar diferentes patologías, que van desde infecciones urinarias y gastrointestinales leves hasta complicaciones más severas como enfermedades nosocomiales y bacteriemias. Se describe que algunos de estos microorganismos presentan distintos mecanismos de resistencia a antibióticos de tipo multiresistentes o extremo resistente.

Dentro de los microorganismos Gram negativos de importancia clínica, tanto en humanos como en animales, se encuentra

Escherichia coli (*E.coli*), bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un bacilo anaerobio facultativo, con metabolismo fermentativo, posee flagelos peritricos o algunas son inmóviles (Figura 2). *E. coli* forma parte del microbiota del tracto gastrointestinal de animales y humanos pero que puede convertirse en un microorganismo oportunista y patógeno, asociado a gran variedad de infecciones.

Figura 2. Coloración Gram de *E. coli*. Se observan bacilos Gram negativos



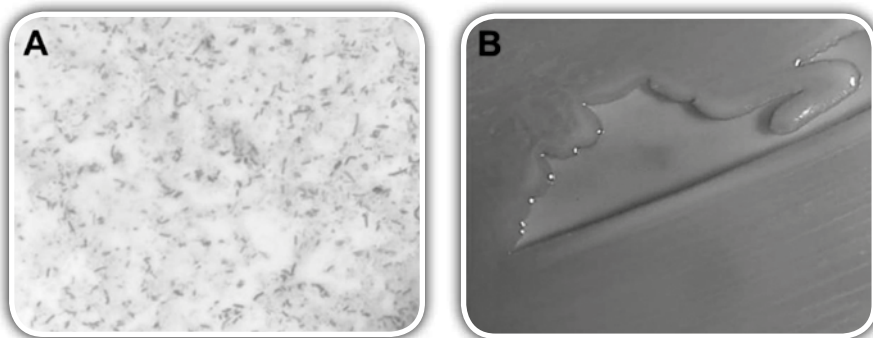
Fuente: elaboración propia.

***Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)** es otra bacteria Gram negativa, caracterizada por poseer cápsula y es inmóvil. Es una bacteria intestinal común que puede provocar infecciones nosocomiales como: neumonía, septicemias o las infecciones de los recién nacidos y los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos. Dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, se reconoce como una de las especies de mayor importancia clínica, por su asociación a infecciones nosocomiales donde pacientes

inmunosuprimidos, hospitalizados o con enfermedades de base son los más afectados (Han et al., 2022).

Se caracteriza por desarrollar factores de virulencia que aumenta su patogenicidad como lo son: la cápsula, los sideróforos, los lipopolisacáridos, las fimbrias, las proteínas de la membrana externa y el sistema de secreción tipo 6 (Choby, Howard-Anderson, & Weiss, 2020).

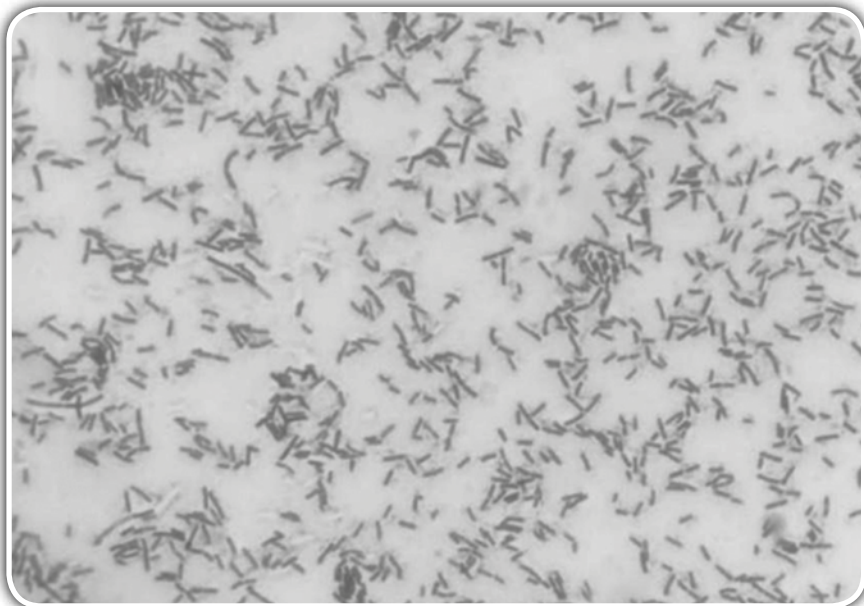
Figura 3. Morfología de *K. pneumoniae*. **A.** Coloración Gram, se observan bacilos Gram negativos. **B.** Colonias de *K. pneumoniae* en Agar MacConkey



Fuente: elaboración propia.

***Pseudomona aeruginosa* (*P. aeruginosa*)** es un bacilo Gram negativo aerobio (Ochoa et al., 2013), se encuentra habitualmente en el agua, suelo y plantas (Figura 4). Es un patógeno oportunista, causa enfermedades y/o infecciones nosocomiales como neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias, causante de alta morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística y pacientes inmunosuprimidos (Overhage et al., 2008). Causante de alta morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística y pacientes inmunosuprimidos (Overhage et al., 2008).

Figura 4. Coloración Gram de *P. aeruginosa*. Se observan bacilos Gram negativos



Fuente: elaboración propia.

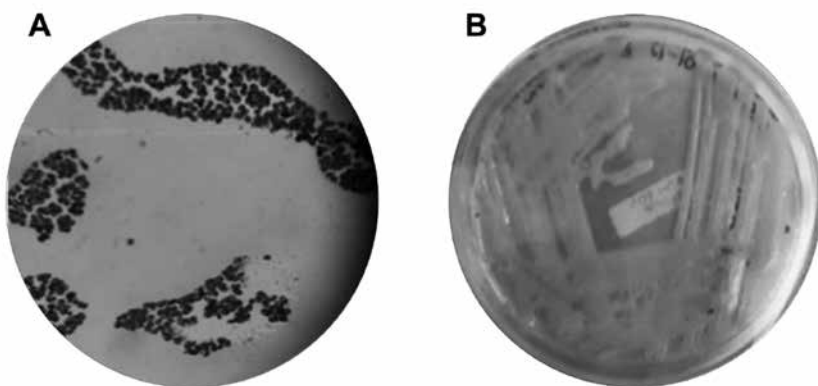
P. aeruginosa, presenta una gran variedad de factores de virulencia dentro de los cuales se encuentran: los flagelos, fimbrias (*pili*), matriz de exopolisacáridos, toxinas, exoenzimas y formación de biopelículas. Produce un polímero de polisacáridos que facilita la adherencia a la superficie epitelial pulmonar además de actuar como barrera para los antibióticos. Dentro de las exotoxinas que este produce se destacan: la exotoxina A que daña el epitelio alveolar y las células endoteliales pulmonares, el sistema de secreción de tipo III, responsable de la secreción de las toxinas exo S, exo T, exo U y exo Y; las primeras tres han sido vinculadas a la virulencia. Exo S y Exo T desorganizan el citoesqueleto de actina de la célula hospedera, bloquean la fagocitosis y causan la muerte celular, en tanto Exo U favorece la inflamación excesiva, incrementa el daño tisular y causa la muerte celular (Luján Roca, 2014).

2.3 Levaduras

Las levaduras son hongos que suelen presentar formas esféricas, ovoides o elipsoidales y algunas pueden presentar hifas (Alfonso et al., 2010). La prevalencia y la mortalidad de las infecciones fúngicas ha aumentado considerablemente, dado en mayor medida por las infecciones del torrente sanguíneo que son causadas por especies del género *Candida*, seguido del género *Aspergillus* y otros hongos emergentes (Cortés, Ruiz, Melgarejo, & Lemos, 2020).

El género *Candida*, representa las levaduras de mayor relevancia en salud pública como causa de infecciones superficiales o sistémicas con alta mortalidad, sobre todo en personas inmunocomprometidas. Es una especie dimórfica, es decir, crece como una levadura o en forma de hifa, dependiendo de las condiciones ambientales (Figura 5).

Figura 5. Morfología de *Candida* sp. **A.** Coloración Gram, se observan levaduras en 100X. **B.** Colonias de levaduras en Agar PDA



Fuente: elaboración propia.

Candida spp. puede ser comensal en los seres humanos, ya que vive en las superficies de la mucosa, sin embargo, está destinado a proliferar cuando las condiciones son permisivas, lo que

puede conducir a infecciones invasivas y de la mucosa (Min, Ichi-kawa, Woolford, & Mitchell, 2016).

Del género *Candida* se han descrito más de 150 especies, en su mayoría se presentan como hongos comensales en el cuerpo humano; sin embargo, un grupo representativo de estas se asocia a infecciones en humanos, entre ellas: *C. albicans* considerado el principal microorganismo patógeno aislado con mayor frecuencia en aislamientos clínicos.

La patogenicidad de *C. albicans* está asociada a la expresión de una gran variedad de factores de virulencia que facilitan la colonización del huésped y su rápida propagación por el tejido. Entre los principales factores están: la secreción de enzimas hidrolíticas como proteasas, fosfolipasas y lipasas; cambios fenotípicos y morfológicos; factores de adhesión como las adhesinas que facilitan la formación de biopelícula que, a su vez, está asociado a una mayor susceptibilidad a infecciones por dispositivos médicos como catéteres, tubos endo-traqueales, válvulas cardíacas, entre otros (López-Ávila, Dzul-Rosado, Lugo-Caballero, Arias-León, & Zavala-Castro, 2016).

3. Resistencia a los antimicrobianos

Como se ha indicado previamente, la resistencia a los antimicrobianos es una grave amenaza para la salud a nivel mundial. Es un fenómeno en el cual un microorganismo ya sea bacteria, virus hongo o parásito, deja de ser afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible, es decir que puede sobrevivir ante la presencia de un antimicrobiano, ya que poseen la capacidad para neutralizar o inhibir su efecto (Barsoumian et al., 2015).

La OMS determinó la resistencia a los antibióticos como una de las 10 principales amenazas para la salud pública en el siglo XXI (WHO, 2020). Y aunque pareciera que hay una gran disponibilidad de medicamentos con diferentes mecanismos de acción, el uso inadecuado de estos antimicrobianos, ha llevado a la aparición de microorganismos resistentes. La Figura 6, describe algunas de las causas que generan resistencia a los antimicrobianos incluyendo la falta de control en veterinaria y uso inadecuado de los antibióticos.

Figura 6. Causas por las cuales se genera resistencia a los antibióticos



Fuente: elaboración propia.

Con el paso del tiempo se han descrito tres categorías de resistencia para las bacterias (Jiménez Pearson et al., 2019):

- MDR o multirresistencia: cuando hay resistencia a 3 grupos de antibióticos.
- XDR o la resistencia extendida: cuando el patógeno es resistente a 10 ó 11 de los 12 grupos de antibióticos.
- PDR o panresistencia: cuando el patógeno es resistente a todos los antimicrobianos disponibles.

Como consecuencia de la farmacoresistencia, en la actualidad hay menos opciones de tratamiento para los pacientes, lo que se traduce en un aumento de morbi-mortalidad, un tratamiento más extenso, un tiempo de enfermedad y hospitalización más prolongado, la necesidad de medicamentos más costosos y dificultades financieras, tanto para las personas afectadas como para los sistemas de salud, entre otros (Bordin et al., 2019).

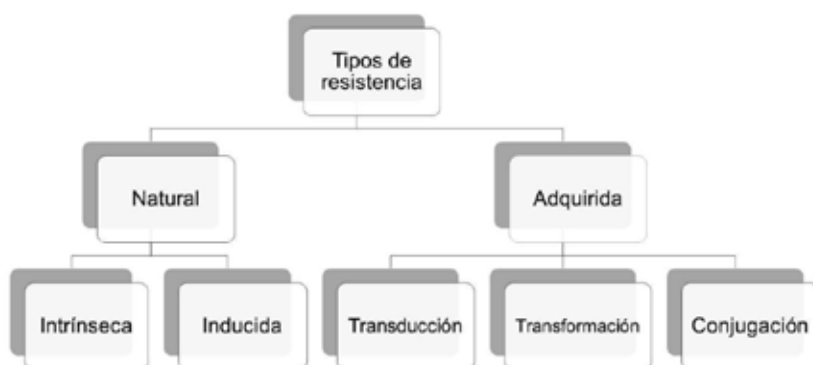
Por lo tanto, se necesitan urgentemente antimicrobianos novedosos para tratar las infecciones debidas a bacterias resistentes a los antibióticos como las identificadas en la lista de la OMS de patógenos prioritarios. Ahora bien, si no se cambia la forma en que se utilizan actualmente los antibióticos, estos nuevos fármacos tendrán el mismo destino que los actuales y se volverán ineficaces (WHO, 2020).

Sin herramientas eficaces para la prevención y el tratamiento adecuado de las infecciones debidas a microorganismos que ya presentan resistencia, aumentará el número de personas para quienes el tratamiento está fallando o que morirán a causa de la infección y, así mismo, será más arriesgado llevar a cabo procedimientos médicos como las intervenciones quirúrgicas y trasplante de órganos entre otros.

3.1 Tipos de resistencia a los antimicrobianos

Las bacterias como grupo o especie no siempre son uniformemente susceptibles o resistentes a algún agente antimicrobiano en particular, por el contrario, los niveles de resistencia pueden variar mucho dentro de los grupos bacterianos. Existen diferentes tipos de resistencia agrupados en dos categorías principales, naturales y/o adquiridas resumidos en la Figura 7.

Figura 7. *Tipos de resistencia microbiana*

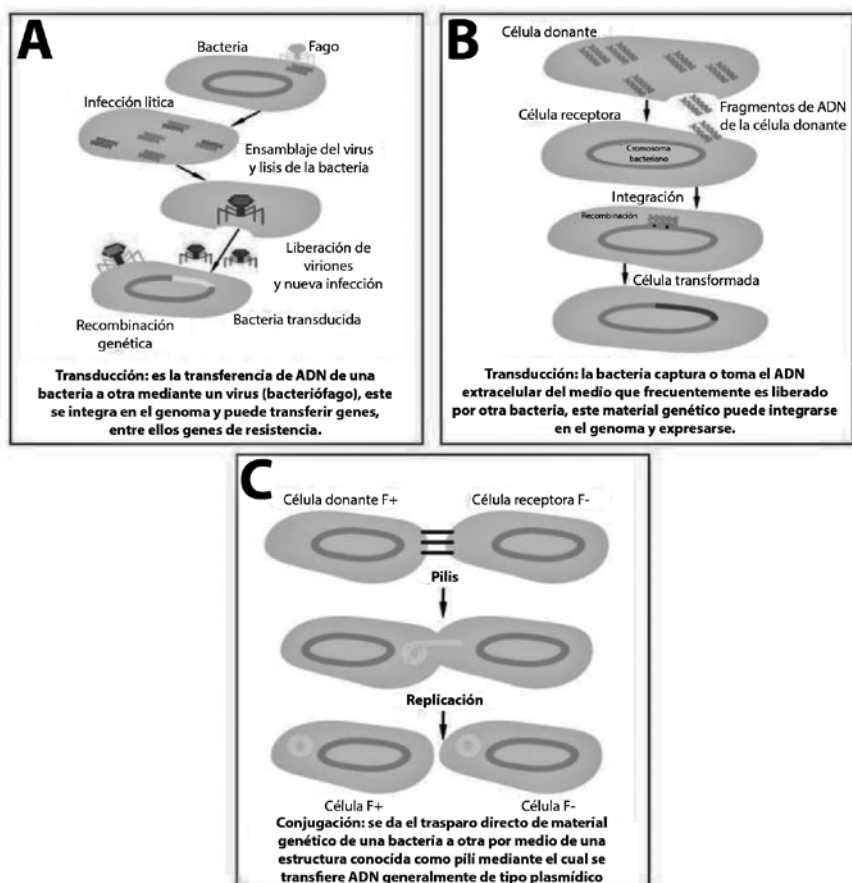


Fuente: elaboración propia.

La resistencia natural es un rasgo que se comparte universalmente dentro de una especie bacteriana independiente de la exposición al antibiótico y no está relacionada con la transferencia horizontal de genes; dicha resistencia natural puede ser intrínseca o inducida. La resistencia inducida es aquella en la cual los genes se expresan naturalmente en las bacterias, pero sólo después de tener exposición al fármaco.

Por otra parte, la resistencia adquirida se presenta cuando hay transmisión de material genético. Existen diferentes mecanismos de transferencia horizontal de genes como: la transducción, conjugación y la transformación; sus principales características se ilustran en la Figura 8 (Calderón Rojas & Aguilar Ulate, 2016).

Figura 8. *Mecanismos de transferencia horizontal de genes*

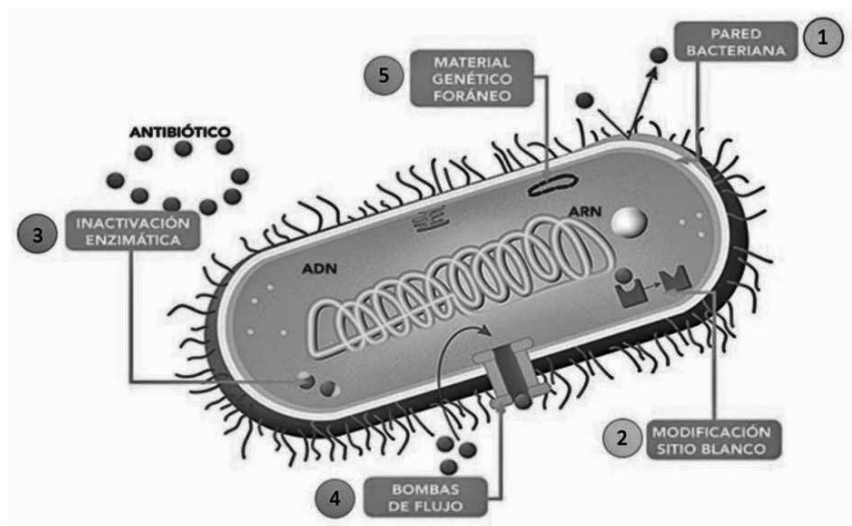


Fuente: Tomado y modificado de Navarrete y Pinilla, 2020.

3.2 Mecanismos de resistencia bacteriana

Las bacterias son capaces de adquirir resistencia a los antibióticos a través de diversos mecanismos, estos son: La disminución de la absorción del fármaco, modificación del sitio blanco, inactivación del fármaco, bombas de eflujo y material genético foráneo (Abushaheen et al., 2020). De esta forma, una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos. Los principales mecanismos por los cuales los microorganismos pueden adquirir resistencia a los fármacos antimicrobianos se representan en la Figura 9 y 10.

Figura 9. *Mecanismos de resistencia*



Fuente: Tomado y modificado de: Comunicación médica Continua. (2020). Resistencia bacteriana una crisis actual.

Las bacterias, al poseer tan diversos mecanismos a través de los cuales puede adquirir resistencia a los antibióticos, le permite alcanzar un nivel superior de multirresistencia, el cual se registró por primera vez en las enterobacterias durante la década de 1950. La situación se ve agravada ya que diversos microorganismos, son resistentes a la mayoría de los agentes antibacterianos

actualmente disponibles, se conocen popularmente como superbacterias, lo que representa un desafío terapéutico severo (Fernández & Hancock, 2012) (Fernández y Hancock, 2012).

Figura 10. Mecanismos de resistencia



Fuente: Tomado y modificado de Comunicación médica continua. Resistencia bacteriana una crisis actual, 2020.

3.2.1 Pared bacteriana

Es importante recalcar que las bacterias tienen una diferencia natural en la composición lipídica de sus membranas celulares siendo ricas en fosfolípidos cargados negativamente como el fosfatidilglicerol (PG), la cardiolipina (CL) y la fosfatidilserina (PS) (Romaniuk & Cegelski, 2015).

Las bacterias Gram negativas tienen una membrana externa que contiene lipopolisacáridos (LPS) que actúa como barrera de permeabilidad que reduce el acceso a la membrana citoplasmática otorgando una resistencia innata a ciertos antimicrobianos. Otras bacterias como las micobacterias tienen una membrana externa que tiene un alto contenido de lípidos, haciendo que fármacos hidrofóbicos tengan acceso fácil a la célula pero los fármacos hidrofílicos tienen un acceso limitado (Andersson et al., 2019).

Mientras que las bacterias Gram positivas al no poseer membrana externa su restricción del acceso de medicamentos no es tan frecuente. Sin embargo, se ha evidenciado que *Staphylococcus aureus* posee una pared celular engrosada que dificulta que el fármaco ingrese a la célula, proporcionando resistencia intermedia a la vancomicina (Romaniuk & Cegelski, 2015).

En el caso de bacterias con membranas externas de mayor grosor, requieren que las sustancias a menudo ingresan a la célula a través de canales de porina. Los canales de porina en bacterias Gram negativas, generalmente permiten el acceso a moléculas hidrofílicas. Hay dos formas principales en las que los cambios en las porinas pueden limitar la absorción del fármaco: i) una disminución en el número de porinas presentes; y ii) mutaciones que cambian la selectividad del canal de la porina. De esta manera algunas bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* adquieren resistencia, debido a la reducción del número de porinas, siendo este un mecanismo de resistencia a los carbapenémicos (Christaki, Marcou, & Tofarides, 2020).

3.2.2 Modificación del sitio blanco

Son variaciones naturales o cambios adquiridos en los sitios blanco de acción de los antimicrobianos que impiden la unión del fármaco. Estos cambios usualmente resultan en la mutación de un gen que codifica para la proteína blanco. Dado que la interacción del antibiótico con la molécula blanco es generalmente bastante específica, una alteración menor puede tener un efecto importante en la unión del antibiótico.

Estas alteraciones pueden ser (Andersson et al., 2019; Christaki et al., 2020):

- Alteración en la subunidad 30S o subunidad 50S del ribosoma conduce a la resistencia a fármacos que afectan la síntesis de proteínas.

- Alteración de la PBP (proteínas de unión la penicilina): La modificación de la PBP es un mecanismo de resistencia en bacterias Gram-positivas ya que estas son transpeptidasas involucradas en la construcción de peptidoglicano en la pared celular el aumento de estas conduce a una menor afinidad por antibióticos de tipo β -lactámicos y la disminución de PBP conlleva con la unión normal del fármaco.
- Precursores de la pared celular alterados: la síntesis de la pared celular en bacterias Gram-positivas puede ser inhibida por glicopéptidos (vancomicina), mediante su unión a residuos de D-alanil-D-alanina de precursores del peptidoglicano. La D-alanil-alanina se cambia a D-alanil-lactato como resultado de lo cual los glicopéptidos no se entrecruzan con ellos, por lo que se desarrolla resistencia a ellos. Existen También los lipopeptidos actúan despolarizando la membrana.
- Fármacos que se dirigen a la síntesis de ácidos nucleicos, la resistencia se produce a través de modificaciones en la enzima ADN girasa (bacterias Gram negativas) o topoisomerasa IV (bacterias gram positivas). Estas mutaciones provocan cambios en la estructura de la girasa y la topoisomerasa que disminuyen o eliminan la capacidad del fármaco para unirse a estos componentes Mecanismos de protección ribosómica que confieren resistencia a las tetraciclinas.

3.2.3 Inactivación enzimática

Se da mediante la acción de enzimas que inactivan el fármaco agregando fracciones químicas específicas o que destruyen la molécula en sí, lo que hace que el antibiótico no pueda interactuar con su blanco. Hay tres enzimas principales que inactivan los antibióticos, las i) β -lactamasa, ii) las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, y iii) cloranfenicol acetiltransferasas (AAC) (Kapoor, Saigal, & Elongavan, 2017).

Beta-lactamasas: hidrolizan casi todos los β -lactámicos que tienen un enlace éster y amida, por ejemplo, penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos. Hasta la fecha se conocen unas 300 β -lactamasas. Han sido clasificadas en cuatro categorías: i) β -lactamasas de clase A también denominadas penicilinasas -dentro de estas encontramos las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)-; ii) β -lactamasas de clase B son metalo- β -lactamasas con actividad sobre cefalosporinas; iii) β -lactamasas de clase C: también denominadas cefalosporinasas; estos son producidos por todas las bacterias Gram-negativas con excepción de *Salmonella* y *Klebsiella*; iv) β -lactamasas de clase D estas son enzimas hidrolizantes de oxacilina, que se encuentran más comúnmente en *Enterobacteriaceae* y en *P. aeruginosa* (Urquiza Ayala, Jackeline Arce Chuquimia, & Gladys Alanoca Mamani, 2018).

Enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME): son neutralizados por enzimas específicas: fosforiltransferasas, nucleotidiltransferasas o adeniltransferasas y AAC. Estas AME reducen la afinidad de una molécula modificada, impiden la unión a la subunidad ribosómica 30S (Kakoullis, Papachristodoulou, Chra, & Panos, 2021; Kapoor et al., 2017)

Cloranfenicol-acetil-transferasas: mecanismo usado por pocas bacterias Gram positivas, Gram negativas y algunas cepas de *Haemophilus influenzae* que son resistentes al cloranfenicol y tienen una enzima cloranfenicol transacetilasa que acetila los grupos hidroxilo del cloranfenicol. El cloranfenicol modificado no puede unirse correctamente a una subunidad ribosomal 50S (Christaki et al., 2020).

3.2.4 Bombas de eflujo

Son proteínas de membrana que exportan antibióticos de la célula y mantienen sus concentraciones intracelulares bajas, cuando estos antimicrobianos ingresan a la célula, los

mecanismos de eliminación los expulsan nuevamente antes de que alcancen su objetivo (Huang et al., 2022).

Existen cinco familias de bombas de eflujo: la superfamilia de facilitadores principales (MFS); la familia de resistencia a múltiples fármacos pequeños (SMR); la familia de división celular de nodulación de resistencia (RND); superfamilia de casetes de unión a ATP (ABC); y la familia de extrusión de compuestos tóxicos y multidrogas (MATE0). En 2015 se descubrió una nueva familia de transportadores la superfamilia de eflujo de compuestos antimicrobianos proteobacterianos (PACE) (Hassan et al., 2018). Estas familias difieren en términos de fuente de energía ya que la familia ABC funcionan como bombas de eflujo a través del hidrólisis de ATP para el suministro de energía mientras que las superfamilias MATE, MFS, RND y SMR, utilizan la fuerza motriz de protones proporcionada por el gradiente de H^+ o el gradiente electroquímico de Na^+ para suministrar energía y luego extruir múltiples compuestos. Otra diferencia entre estas familias radica en el rango de sustratos que son capaces de extruir y en el tipo de organismos bacterianos en los que se distribuyen (Huang et al., 2022; Piddock, 2006).

3.2.5 Resistencia mutacional

Corresponde a células bacterianas que desarrollan mutaciones en genes afectando la actividad del medicamento. Estas mutaciones se pueden dar en algunos pares de bases durante la replicación bacteriana (mutaciones puntuales), ocasionando el reemplazo de uno o unos pocos aminoácidos en un blanco crítico (enzima, pared celular o estructura celular), así como genes de control o estructuras cromosómicas.

La adquisición de material de ADN extraño a través de Transferencia Horizontal de Genes (HGT) es una de las características de la evolución bacteriana y es causante de resistencia antimicrobiana.

Las bacterias adquieren material genético externo a través de tres estrategias: **transformación** (incorporación de ADN desnudo) es quizás el tipo más simple de HGT pero solo algunas bacterias tienen esta capacidad; **transducción** (mediada por fagos); **conjugación** (“sexo” bacteriano) implica el contacto de célula a célula está ampliamente relacionada con la aparición de resistencia en el entorno hospitalario; esta utiliza elementos genéticos móviles (MGEs) como lo son los plásmidos y los transposones como vehículos para compartir información genética valiosa, aunque se ha encontrado que uno de los mecanismos más eficientes para acumular genes de resistencia a los antimicrobianos está representado por los integrones, que son sistemas de recombinación específicos de sitio capaces de reclutar marcos de lectura abiertos en forma de casetes de genes móviles (Munita & Arias, 2016; Ploy, Lambert, Couty, & Denis, 2000).

3.2.6 Biopelículas o biofilms bacterianos como mecanismos de resistencia

Es una comunidad de bacterias que se encuentran unidas de manera irreversible a un sustrato las cuales están protegidas por una matriz extracelular que les otorga a las bacterias -que lo poseen- protección a ambientes adversos, resistencia a la acción de los fármacos y la respuesta inmune del huésped, así como intercambio de nutrientes con otras bacterias.

Navarrete y col. en su Capítulo del 2021 detallan las etapas de la formación de la biopelícula la cual se empieza con una unión inicial y posterior agregación de estructuras multicelulares, en el que hay un reconocimiento célula a célula que les permite la adhesión mediante adhesinas a superficies abióticas, biomateriales (Santos et al., 2021).

El segundo paso es la maduración de la biopelícula una vez se une a la superficie colonizada en donde las bacterias comienzan a proliferar y secretar una matriz extracelular compuesta de polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas quedando protegidas

de factores nocivos del ambiente para formar una estructura tri-dimensional; el siguiente paso es la dispersión el cual precede la lisis y muerte de las células, algunas células se liberan de la matriz para colonizar nuevas áreas.

3.3 Factores que aceleran la propagación de la resistencia a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos ocurre naturalmente con el tiempo, generalmente a través de cambios genéticos. Los organismos resistentes a los antimicrobianos están presentes en las personas, animales, alimentos, plantas y el medio ambiente (agua, suelo y aire). Lo anterior, como consecuencia al uso dado a los antibióticos para favorecer el crecimiento de los animales, y mejorar los productos derivados de los mismos. También se han usado de manera profiláctica para evitar afecciones en los animales, y es así como llegan trazas de estos antibióticos a los microorganismos, debido a que el uso racional de los antibióticos en estos sectores no está controlado en algunos países (Celis Bustos, Vanesa Rubio, & Camacho Navarro, 2017).

Entre los principales factores que aceleran la propagación de la resistencia a los antimicrobianos, se encuentran los siguientes:

- El uso indebido y excesivo de antimicrobianos es el principal factor que determina la aparición de organismos resistentes. En muchos lugares los antibióticos se usan en exceso y tienen un mal uso en personas y animales, además, a menudo se administran sin supervisión profesional. Los ejemplos de mal uso incluyen el tomarlos en infecciones de tipo viral como resfriados y gripe y cuando se administran como promotores del crecimiento en animales o se usan para prevenir enfermedades en animales sanos.
- La falta de acceso a agua limpia, saneamiento e higiene tanto para las personas como para los animales.

- Medidas deficientes de prevención y control de las enfermedades y las infecciones en los centros de atención de salud y las explotaciones agrícolas.
- El acceso deficiente a medicamentos, vacunas y medios de diagnóstico asequibles y de calidad; esto es debido a la inequidad en el acceso a medicamentos y a los sistemas de salud que se suele presentar debido a la escasez de recursos, la falta de trabajadores sanitarios lo suficientemente calificados y capacitados, además de la desigualdad entre los países.
- Falta de sensibilización y conocimientos por parte de la ciudadanía, por lo que se deben implementar estrategias de educación en la comunidad, así como sistemas de vigilancia más eficaces en el sector de la salud que garanticen la adhesión a tratamientos (González Mendoza, Maguiña Vargas, & González Ponce, 2019; WHO, 2020).

4. Panorama de la resistencia a los antimicrobianos

A nivel mundial se han observado tasas elevadas de resistencia a los antibióticos utilizados habitualmente en los tratamientos lo que indica que se están agotando los antibióticos eficaces. Infecciones comunes como las urinarias, la septicemia, las de transmisión sexual y algunas formas de diarrea se han convertido en infecciones de gran importancia debido a que quienes las producen son bacterias que con el tiempo han llegado a adquirir variedad de genes asociados a resistencia.

Algunas especies bacterianas como *E. coli* se caracterizan por presentar un alto perfil de resistencia antimicrobiana, por la producción de betalactamasas y carbapenemasas, que le confieren resistencia frente a un amplio rango de antibióticos. La resistencia de *E. coli* a las fluoroquinolonas, antibióticos utilizados en el tratamiento de las infecciones urinarias, está muy generalizada (Kot, 2019). En algunos países, los antibióticos carbapenémicos, considerados de último recurso, ya no son eficaces en más de la mitad de los pacientes con infecciones por *K. pneumoniae*, debido a la resistencia. Esta resistencia al tratamiento a los carbapenémicos, se ha propagado a todas las regiones del mundo.

De acuerdo con lo anterior, la propagación de bacterias productoras de carbapenemasas es un problema clínico relevante porque estas enzimas confieren resistencia a la mayoría de los

β -lactámicos (*penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, entre otros*).

La colistina es el único tratamiento de último recurso para infecciones potencialmente mortales por enterobacterias (es decir, *E. coli, Klebsiella spp.*, etc.) resistentes a los antibióticos carbapenémicos. Sin embargo, también se han detectado bacterias resistentes a la colistina en varios países y regiones (Torres et al., 2021).

Otra bacteria de gran importancia en salud pública y que ha presentado gran resistencia es *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM). Pacientes con infecciones por esta causa, tienen una probabilidad de morir 64 veces mayor que los pacientes con infecciones fármaco-sensibles (WHO, 2020).

Es por ello que en el año 2017 la OMS publicó un listado de bacterias para las cuales se declara prioritario buscar nuevos antibióticos. En esta lista se incluyen 12 familias de bacterias, siendo las de mayor importancia bacterias: Gram negativas (WHO, 2020). De acuerdo con el nivel de prioridad, se dividieron en tres categorías según su importancia (tabla 5).

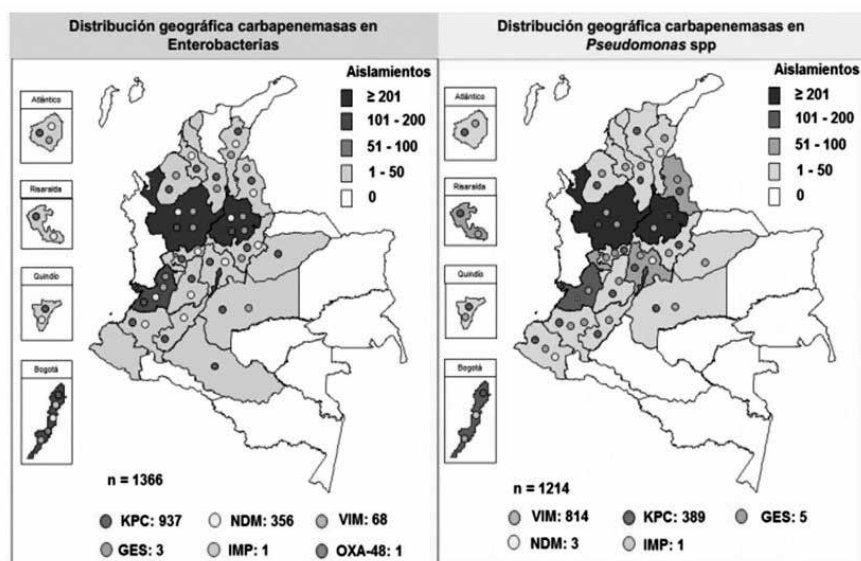
Tabla 5. Bacterias resistentes a los antibióticos priorizadas por la OMS

Prioridad crítica: Infecciones graves y letales	
Bacterias	Resistencia
<i>A. baumannii</i>	Carbapenémicos
<i>P. aeruginosa</i>	Resistencia a carbapenémicos
<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>E. coli, Serratia, Proteus, Klebsiella</i>)	Resistencia a carbapenémicos, Productoras de BLEE (Betalactamasas de espectro extendido)
Prioridad elevada	
Bacterias	Resistencia
<i>Enterococcus faecium</i>	Resistencia a Vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistencia a la Meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la Vancomicina

Prioridad elevada	
Bacterias	Resistencia
<i>Campylobacter spp.</i>	Resistencia a la Claritromicina
<i>Salmonellae</i>	Resistencia a las Fluoroquinolonas
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Resistencia a las Cefalosporinas y a las Fluoroquinolonas
<i>Helicobacter pylori</i>	Resistencia a la Claritromicina
Prioridad media	
Bacterias	Resistencia
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sin sensibilidad a la Penicilina
<i>Haemophilus influenzae</i>	Resistencia a la Ampicilina
<i>shigella spp.</i>	Resistencia a las Fluoroquinolonas

En Colombia, un estudio sobre la vigilancia de la resistencia adelantado por el Instituto Nacional de salud (INS), realizado durante los años 2012 a 2020 evidenció que, la distribución de carbapenemasas por microorganismos fue predominante en las Enterobacterias sobresaliendo el gen KPC y en *Pseudomonas spp.*, el gen VIM (Figura 11) (Instituto Nacional de Salud, 2021).

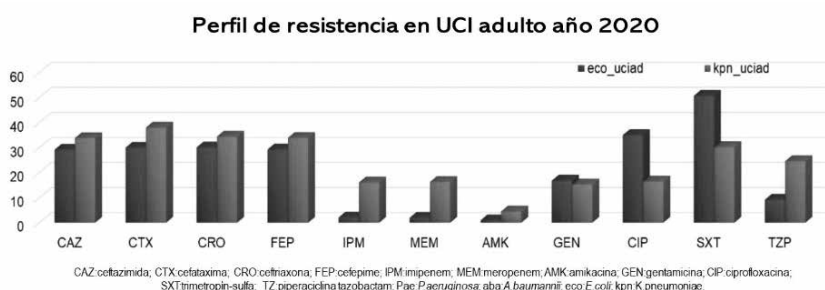
Figura 11. Distribución geográfica de Carbapenemasas en Colombia



Fuente: Tomado y modificado de Boletín epidemiológico 2021 (semana 9).

En la figura 12 se evidencian los perfiles de resistencia obtenidos en el año 2020 en las UCI adultos, en la cual se observa un incremento en la resistencia a carbapenémicos por *K. pneumoniae* de hasta el 16% (Instituto Nacional de Salud, 2021).

Figura 12. Perfil de resistencia de *E. coli* y *K. pneumoniae* en UCI adulto año 2020



Fuente: Tomado y modificado de Boletín epidemiológico 2021 (semana 9).

En el año 2018 en Colombia, el Ministerio de Salud y Protección Social reportó una gran incidencia y prevalencia de infecciones nosocomiales relacionadas con la colonización de distintos dispositivos médicos por diversos patógenos, siendo los más importantes *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, seguido de bacterias Gram positivas y otras Enterobacterias (Programa de prevención, vigilancia y control de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) y la resistencia antimicrobiana, 2018).

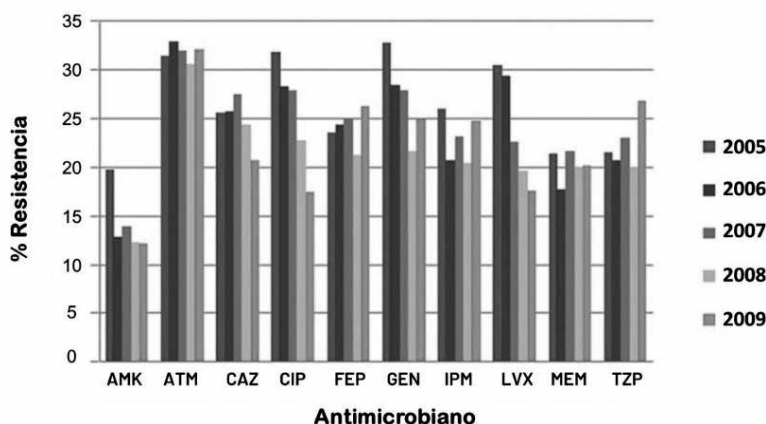
P. aeruginosa presenta gran importancia a nivel clínico debido a su alta resistencia intrínseca a antibióticos la cual es conferida por mutaciones en los genes *ampR*, *ampD* o *dacB*, *PBP4*, que conllevan a una hiperproducción de la betalactamasa cromosómica tipo AmpC. Lo anterior, confiere resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas (ceftazidima y cefepima) y monobactámicos (aztreonam) lo que conlleva a una reducción en las opciones de tratamiento (Nicolau & Oliver, 2010).

También se destaca que este microorganismo tiene la capacidad de generar resistencia gracias a mecanismos de transferencia horizontal enfatizando la presencia de betalactamasas y carbapenemasas. Entre los mecanismos mutacionales, más conocidos se destaca la represión o inactivación de la porina OprD, por la que se introducen las carbapenemasas en la célula bacteriana, que confiere resistencia al imipenem y sensibilidad reducida al meropenem (Nicolau & Oliver, 2010).

Dentro de las carbapenemasas presente para *Pseudomonas* se encuentran: KPC-2 la cual se ha detectado en Colombia, también se han encontrado Carbapenemasas de tipo GES-2 y GES-5, IMP, VIM, y raramente se han aislado cepas con resistencia conferida por OXA 40 (Nicolau & Oliver, 2010).

En Colombia se analizaron 57 aislamientos de *P. aeruginosa* entre 2012 y 2013 sospechosas de ser productoras de carbapenemasas de las cuales luego de realizar pruebas de microbiológicas se confirmó la presencia de carbapenemasas en 43 de estos, de los cuales 33 fueron positivos para el gen bla *VIM*, 9 para el gen bla *KPC*, y un aislamiento se detectó con producción de las carbapenemasas KPC y VIM, evidenciándose que ningún aislamiento presentaban carbapenemasas del tipo IMP y NDM (Abril Riaño et al., 2020).

El estudio sobre resistencia de *P. aeruginosa* a antimicrobianos en hospitales colombianos, realizado por Villa et al., durante los años 2005 al 2009, describe la evolución del porcentaje de resistencia a los principales antibióticos (Figura 13). Para los antimicrobianos ciprofloxacina y levofloxacina, se observó durante el estudio una tendencia hacia la disminución de la resistencia, a diferencia de la piperacilina / tazobactam, que experimentó un aumento progresivo de la resistencia llegando al 26,8% en el año 2009. Respecto al meropenem e imipenem, no se evidenciaron cambios importantes en este período, aunque el número de cepas probadas para cada antimicrobiano fue diferente (Villa et al., 2013).

Figura 13. Tasa de resistencia anual durante el período de 2005 a 2009

Evolución de la resistencia *P. aeruginosa* 2005-2009 UCI. AMK: Amikacina; ATM: aztreonam; CAZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina; CEP: cefepima; GEN: gentamicina; IPM: imipenem; LVX: levofloxacina; MEP: meropenem; TZP: piperacilina/tazobactam. Número de aislados por año: 2005, n: 559; 2006, n: 707; 2007, n: 861; 2008, n: 854; 2009, n: 577.

Fuente: Tomado y modificado de Villa et al, 2013.

De igual manera, se han presentado infecciones fúngicas farmacorresistentes. En mucosa oral, la prevalencia de especies de *Candida* varía entre el 2% y el 37% en población sana y entre el 13% y el 76% en pacientes hospitalizados. De las especies de *Candida*, *C. albicans* predomina en candidiasis genital, oral y cutánea (> 90%) (Bedout & Gómez, 2010), presentando así como un problema de salud pública, por su recurrencia, frecuencia y difícil tratamiento.

Esto último debido principalmente a la producción de biopelícula, pues el rápido crecimiento y la capacidad de adherencia a la superficie les confieren mayor resistencia a los tratamientos antifúngicos como polienos, azoles y equinocandinas (García et al., 2007).

Además, la farmacorresistencia de *Candida auris*, una de las causas más habituales de infección fúngica invasiva, ya es generalizada y se tiene constancia creciente de su resistencia al fluconazol, anfotericina B y voriconazol, así como de la resistencia emergente a la caspofungina (WHO, 2020).

El estudio de los mecanismos de resistencia también ha sido importante en la industria farmacéutica, ya que han surgido múltiples agentes nuevos para eludir los mecanismos de resistencia conocidos. Estos agentes se han desarrollado generalmente a través de la modificación de clases de medicamentos que han sido previamente aprobados por la FDA para su uso como antibióticos.

Los ejemplos incluyen el nuevo aminoglucósido plazomicina, la nueva cefalosporina ceftolozane (que se combinó con tazobactam) y los nuevos inhibidores de β -lactamasa como avibactam, vaborbactam y relebactam que se combinaron con antibióticos β -lactámicos existentes para formar fármacos como ceftazidima-avibactam, meropenem - vaborbactam, imipenem - relebactam y aztreonam-avibactam (Eichenberger & Thaden, 2019).

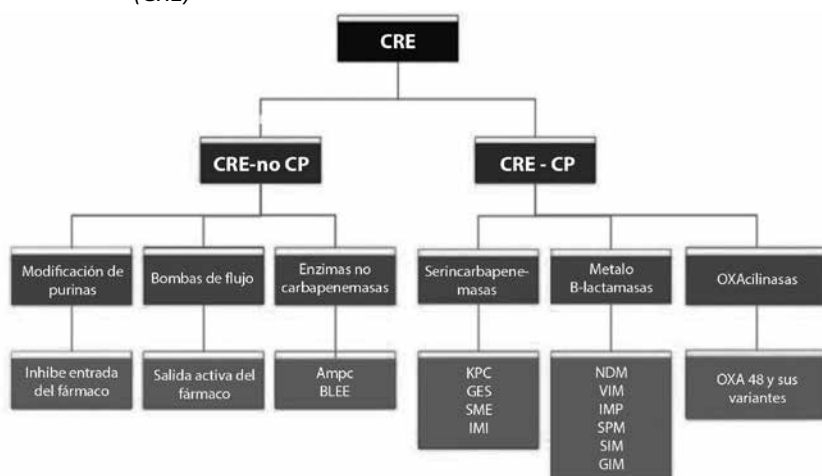
En 2019 la OMS reportó 32 compuestos en fase de desarrollo clínico contra patógenos que presentan gran resistencia, de los cuales solo seis se clasificaron como estructuras novedosas. Es más, la falta de acceso a antimicrobianos de calidad sigue siendo un gran problema. La escasez de antibióticos afecta a países de todos los niveles de desarrollo y especialmente a sus sistemas de atención de salud.

4.1 Enterobacterias resistentes a carbapenémicos

Actualmente, la resistencia a carbapenémicos por parte de microorganismos pertenecientes al grupo de las enterobacterias representa una gran amenaza para la salud pública debido al aumento en la morbilidad y mortalidad de las infecciones asociadas a estos patógenos. Esto debido a las limitadas opciones de tratamiento disponibles para combatir dichos microorganismos multirresistentes, lo cual ha producido un aumento en la prevalencia de infecciones, un tiempo más prolongado de tratamiento y hospitalización y costos sanitarios y de atención más elevados (Vanegas-Múnera & Jiménez-Quiceno, 2020).

La resistencia a carbapenémicos en enterobacterias se produce principalmente por tres mecanismos: modificación de las porinas, lo cual reduce la permeabilidad de la pared celular y disminuye la captación del fármaco; la expresión de bombas de flujo en la membrana que produce la salida activa del fármaco fuera de las células inhibiendo su mecanismo de acción; y la producción de enzimas hidrolizantes de Betalactámicos (Elshamy & Aboshanab, 2020). A su vez, las enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE) pueden sub-dividirse en dos grupos: CRE productoras de carbapenemasas (CRE-CP) y CRE no productoras de carbapenemasas (CRE-no CP) (Figura 14) (Suay-García & Pérez-Gracia, 2019). La producción de enzimas hidrolíticas es el mecanismo de resistencia principal. Estas enzimas de tipo β -lactamasas hidrolizan los carbapenémicos por lo que reciben el nombre de carbapenemasas. Este factor es de gran relevancia ya que facilita la inactivación de gran variedad de Betalactámicos y al ser codificados por genes transportados por plásmidos, la transferencia horizontal de genes de una especie bacteriana a otra produce la propagación de genes de resistencia (Suay-García & Pérez-Gracia, 2019).

Figura 14. Clasificación de Enterobacterias Resistentes a Carbapenémicos (CRE)



Fuente: elaboración propia.

Las enterobacterias resistentes a carbapenémicos, productoras de carbapenemasas CRE-CP pueden producir diferentes tipos de enzimas, las cuales según la clasificación de Ambler se dividen en tres grupos: carbapenemasas de clase A, clase B y clase D.

• Carbapenemasas clase A

Estas enzimas utilizan un residuo de serina en su sitio activo para la inactivación del fármaco β -lactámico, tienen la capacidad de hidrolizar una amplia variedad de β -lactámicos, incluidos carbapenémicos, cefalosporinas, penicilinas y aztreonam y, además, todos son inactivados por inhibidores de β -lactamasa: ácido clavulánico y tazobactam.

Tabla 6. Carbapenemasas Ambler clase A

Carbapenemasas	Especies implicadas
KPC: <i>K. pneumoniae</i> carbapenemasa	<i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>E. cloacae</i> <i>S. marcescens</i>
GES: carbapenemasas de espectro extendido de guayana	
IMI: β -lactamasa hidrolizante de imipenem	
SME: Enzima <i>Serratia marcescens</i>	
NMC: No metaloenzima carbapenemasa	

• Carbapenemasas clase B

Contienen al menos un átomo de zinc en el sitio activo para ser usado como cofactor en la hidrólisis de un anillo bicíclico de β -lactama, hidroliza carbapenémicos, cefalosporinas y penicilinas, pero no hidroliza aztreonam, y estas son resistentes a los inhibidores de β -lactamasa disponibles, pero no son inhibidas por quelantes de iones metálicos como EDTA.

Tabla 7. Carbapenemasas Ambler clase B

Carbapenemasas	Especies implicadas
MBL: metalo- β -lactamasas	
NDM: New Delhi metalo- β -lactamasa-1	<i>A. baumannii</i>
VIM: metalo- β -lactamasa codificada por integrón de Verona	<i>P. aeruginosa</i>
	<i>E. coli</i>
IMP: metalo- β -lactamasa imipenemasa	<i>C. freundii</i>
GIM: German imipenemasa	<i>P. mirabilis</i>
SPM: Sao Paulo metalo- β -lactamasa	<i>M. morganni</i>
SIM: Seoul imipenemasa	

• Carbapenemasas clase D

Denominadas oxacilinasas, este grupo de enzimas tienen un mecanismo de acción similar. Hidrolizan débilmente carbapenémicos, no hidrolizan cefalosporinas y aztreonam, pero tienen la capacidad de hidrolizar eficientemente la oxacilina. No se ven afectados por los inhibidores de la β -lactamasa ni EDTA lo cual puede asociarse a su gran variabilidad en las secuencias de aminoácidos.

Tabla 8. Carbapenemasas Ambler clase D

Carbapenemasas	Especies implicadas
OXAs: Oxacilinasas, principalmente OXA 48 y sus variantes.	<i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i>

5. Estrategias de intervención para combatir la resistencia antimicrobiana

Dada la problemática de resistencia bacteriana a nivel mundial la OMS implementó el Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos a partir del año 2015, el cual cuenta con cinco objetivos: i) concienciar y sensibilizar a la población acerca de la resistencia a los antimicrobianos; ii) mejorar la vigilancia y la investigación; iii) reducir la propagación de las infecciones mediante medidas eficaces de saneamiento; iv) higiene y prevención de las infecciones; v) optimizar el uso de antibióticos en la atención de la salud humana y animal; y vi) aumentar la innovación y la inversión (Khabbaz et al., 2017).

Para dar apoyo al desarrollo de este Plan, se creó el Sistema mundial de vigilancia de la resistencia y el uso de antimicrobianos (GLASS), del cual, a la fecha participan 127 países. Se caracteriza por hacer uso de estándares de vigilancia, mejorar la seguridad del paciente, garantizar la calidad de los datos y estandarizar los reportes sobre bacterias resistentes.

El sistema GLASS comenzó con la vigilancia de Resistencia a los Antimicrobianos (RAM), en bacterias que causan infecciones humanas comunes y ha ampliado su alcance, para incluir la vigilancia del consumo de antimicrobianos (AMC), infecciones fúngicas invasivas y un modelo de vigilancia “Una salud” relevante

para la salud humana. También ha efectuado Vigilancia mundial de la RAM, cobertura y sistemas de aseguramiento de la calidad del laboratorio a nivel subnacional (Achmad Ali Fikri, Syamsul Arifin, 2022; World Health Organization (WHO), 2020)

La OMS también realiza otras intervenciones que son llevadas a cabo en los diferentes países miembros. Dentro de estos proyectos se encuentra *“Trabajando juntos para combatir la resistencia a los antimicrobianos”*, que desde 2010, fue instituido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), para combatir la RAM; quienes trabajan de forma coordinada para disminuir los riesgos en la interfaz salud humana, animal y del medio ambiente. El objetivo de este proyecto es apoyar los esfuerzos para combatir la RAM a través de la implementación de los Planes de Acción Nacional de siete países: Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Paraguay, Perú y Uruguay (*Trabajando juntos para combatir la resistencia a los antimicrobianos*, s. f.).

Además, existe la Red Latinoamericana y del Caribe de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), la cual se estableció en 1996 por la OPS/OMS junto con sus estados miembros. Su objetivo es establecer las políticas e intervenciones para la prevención y control de la RAM en la Región, mediante la recopilación de datos confiables, comparables y reproducibles. Como parte de sus funciones, la red provee información clave para la elección del tratamiento empírico de las enfermedades infecciosas y el diseño de estrategias locales y regionales de utilización de antimicrobianos, gracias a que cuenta con 20 laboratorios nacionales de referencia, que, a su vez, se nutren del trabajo de 750 laboratorios centinela. Estos laboratorios asesoran a los países en temas de evaluación de nuevos fármacos para el tratamiento de infecciones graves, utilidad y limitaciones de los métodos fenotípicos para detección de resistencia, entre otros. De igual manera, esta red de investigación permite el intercambio de conocimientos y aprendizaje entre estudiantes e investigadores.

Dentro de los países miembros se encuentran: Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Costa Rica, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Uruguay, y Venezuela (Giono-Cerezo, Santos-Preciado, Morfín-Otero, Torres-López, & Alcántar-Curiel, 2020).

Otra de las iniciativas incluye la participación activa de las comunidades, liderada desde la OPS, REACT Latinoamérica y la Universidad Internacional de la Florida, y South Centre, para discutir la importancia de empoderar a las comunidades en la lucha contra la RAM (*Iniciativa: Comunidades Empoderadas frente a la RAM*, s. f.).

Además de estas, también existe la Asociación Mundial de Investigación y Desarrollo de Antibióticos (GARDP). Organización sin fines de lucro que acelera el desarrollo y el acceso a tratamientos para infecciones resistentes a los medicamentos. Junto con socios privados y públicos, es financiada por varios países y fundaciones. GARDP trabaja para preservar el poder de los antibióticos para las generaciones venideras (Gajdács & Albericio, 2019).

6. Características generales de los péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos (PAMs), son moléculas propias del sistema inmunológico que pueden encontrarse en diferentes tipos de organismos desde procariotas hasta seres humanos (REF). Tienen un gran potencial para uso clínico, debido a sus múltiples mecanismos de acción, amplio espectro de actividad y bajo potencial de resistencia (Cassir et al., 2014; Rossi et al., 2012).

En general, los PAMs poseen características hidrofóbicas y tienen carga neta positiva (Téllez & Castaño, 2010). Están constituidos por aminoácidos unidos por enlaces covalentes, dados por el extremo grupo amino y carboxilo libres. Los aminoácidos poseen un carbono alfa, al que están unidos los grupos amino y carboxilo, tienen además un átomo de hidrógeno y una cadena lateral.

Al poseer este carbono alfa los aminoácidos presentan la propiedad de quiralidad, es así como los aminoácidos pueden ser L (levógiro o zurdo) o D (dextrógiro o diestro), dependiendo de la disposición espacial de los cuatro constituyentes mencionados. Aunque las propiedades físicas y químicas son idénticas, independientemente de cuál es la disposición espacial; por ende, los péptidos pueden ser L o D, ya que los aminoácidos determinan las propiedades bioquímicas de estos, encontrando

que la mayoría de péptidos al igual que las proteínas son del tipo L (Fabisiak, Murawska, & Fichna, 2016).

Los péptidos más interesantes son del tipo D, puesto que son resistentes a la proteólisis, menos inmunogénicos y que por tanto in vivo tiene una capacidad mayor para circular y ejercer su acción (Zheng et al., 2021).

Los diferentes tipos de PAMs son sintetizados y secretados por varias células y tejidos, incluyendo la piel, las superficies mucosas, los neutrófilos y los epitelios; siendo componentes del sistema inmune innato de humanos y otros mamíferos como se ilustra en la figura 15. Se ha evidenciado que tienen un amplio espectro de acción sobre microorganismos como bacterias Gram positivas y Gram negativas, hongos, virus, parásitos o incluso células cancerígenas (Zhu, Liu, & Niu, 2017), inclusive de inhibir la formación de las biopelículas (Bechinger & Gorr, 2017).

Figura 15. Sitios de producción y secreción de PAMs en los humanos



Fuente: Tomado y modificado de Zhu et al., 2017.

6.1 Clasificación de los péptidos antimicrobianos

En la literatura existen diferentes formas de clasificar los PAMs dentro de las cuales se destacan, según su estructura, su

composición y también por su actividad biológica (Kumar, Kizhakkedathu, & Straus, 2018).

- Según su estructura, pueden ser aniónicos o lineales catiónicos (Tabla 9)

Tabla 9. *Clasificación y características de los PAMs*

Tipo de péptidos	Características	Ejemplos
Péptidos aniónicos	Para ser funcional requieren Zinc como cofactor, son ricos en ácido glutámico y aspártico, provienen de animales y humanos	Maximina (anfibios), dermicidina (humanos)
Péptidos lineales catiónicos	Son del tipo hélices α , y adquieren esta conformación cuando están en presencia de la membrana celular bacteriana y así poderse insertar o afectar la misma, en este grupo se encuentra el péptido LL 37.	LL-37 (humanos), magainina, dermaseptina, bombinina, brevinina-1, esculentinas y buforina II (anfibios), pleurocidina (Secreción mucosa de piel de peces), CAP18 (conejos), Cecropinas, PMAP (ganado, ovejas y cerdos).

- Según su composición, pueden ser:

Tipo de péptidos	Características	Ejemplos
Péptidos catiónicos enriquecidos por aminoácidos específicos	Generalmente lineales, carecen de cisteína, son ricos en aminoácidos específicos según el péptido: prolina, arginina, fenilalanina, glicina, triptófano, histidina	Abaecina (abejas), apidaecinas (abejas), drosocín (<i>Drosophila</i>), bacteriocinas del ganado (Bac7), (ovejas), profenina PR-39 (cerdos), holotripcina (escarabajos), histatina (humano), himenoptaecina (abejas), histatinas (hombre y primates)

Tipo de péptidos	Características	Ejemplos
Péptidos aniónicos y catiónicos, que son fragmentos de proteínas mayores	Poseen fragmentos de proteínas mayores y su actividad en la inmunidad innata no está descrita	Lactoferricina (de la lactoferrina I), Casodicina (caseína humana), algunos dominios de lactoalbúmina bovina, ovoalbúmina y hemoglobina humana

- Según su actividad biológica, pueden ser:

Tipo de péptidos	Características	Ejemplos
Antibacterianos	Presentan múltiples mecanismos de acción	LL-37
Antiparasitarios	Los estudios de la relación de la actividad con estructura indicaron que la actividad antiprotozoaria y antiviral es mediada por diferentes mecanismos	Magainina 2
Antivirales	El mecanismo de acción es el bloqueo de la entrada del virus por la interacción con el heparán sulfato. El heparán sulfato es el glicosaminoglicano más importante para la unión viral. El bloqueo del heparán sulfato reduce la infección viral. Un segundo mecanismo antiviral consiste en bloquear la diseminación entre células.	θ -defensina (retrociclina II), interactúa con una alta afinidad con la glicoproteína B del virus herpes simplex II (HSV-2), protegiendo eficientemente a las células de la infección por HSV-2.1
Antifúngicos	Se ha observado que lisan las células o que interfieren en la síntesis de proteínas de pared celular	Péptidos derivados de lactoferrinas como P18

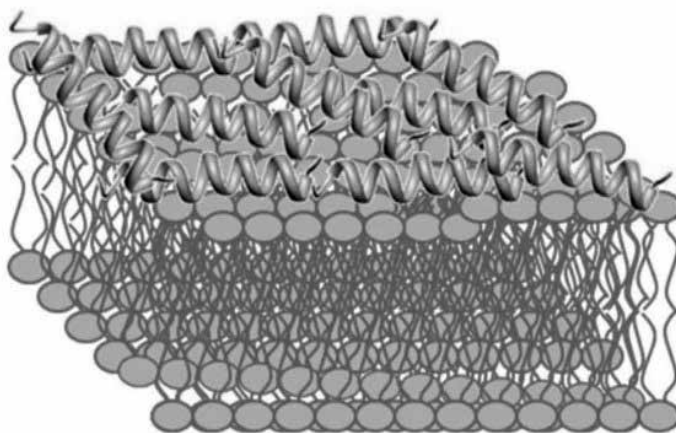
6.2 Mecanismos de interacción de los PAMs con la membrana

Es importante recalcar que los PAMs presentan diferentes mecanismos de interacción y permeabilización de la membrana, dentro de los que se destacan: modelo de hoyo de polilla o modelo de alfombra (carpet mechanism), el de barril (barrel-stave), el del poro toroidal. En general esta interacción ocasiona i) formación de canales, ii) formación de micelios o disolución de la membrana, y iii) translocación a través de la membrana (Mangoni, Mcdermott, & Zasloff, 2016).

Los péptidos de tipo anfipático son los que mayormente forman poros en las membranas biológicas, generando los tipos de interacción, modelo poro toroidal y modelo de barril, y aquellos que no forman poro son mayormente los del modelo de alfombra (Kumar et al., 2018). A continuación, se describen brevemente, estos modelos de interacción.

6.2.1 Modelo de alfombra

Figura 16. *Modelo de acción de los péptidos antimicrobianos en alfombra*

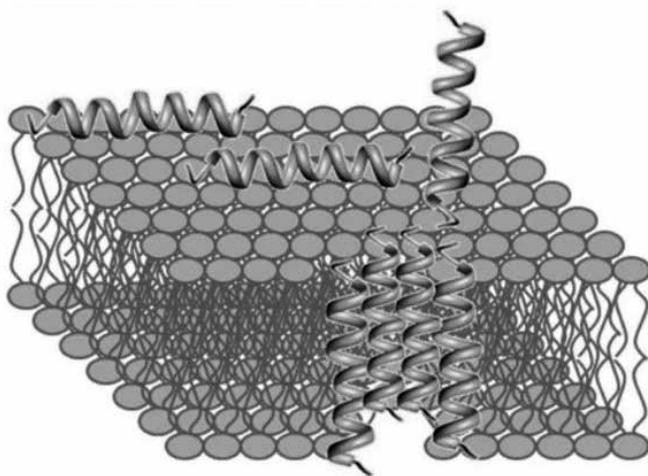


Fuente: Tomado de Kumar et al. 2018.

En este mecanismo los péptidos buscan acumularse para llegar a una concentración umbral y así cubrir la superficie de la membrana con una orientación paralela a la cara externa de la misma, pero no se insertan en esta (Fig 16). Primero los péptidos son atraídos por cargas electrostáticas a los grupos fosfato de los fosfolípidos de la membrana cubriéndola. Una vez cubierta, se orientan y actúan como detergentes, rompiendo la membrana a través de la formación de micelas. Dentro los péptidos que usan este modelo se incluyen, la cecropina, indolicidina, aurein, LL-37 y latarcín Ltc2a (Kumar et al., 2018).

6.2.2 Modelo barril

Figura 17. *Modelo de acción de los péptidos antimicrobianos en barril*



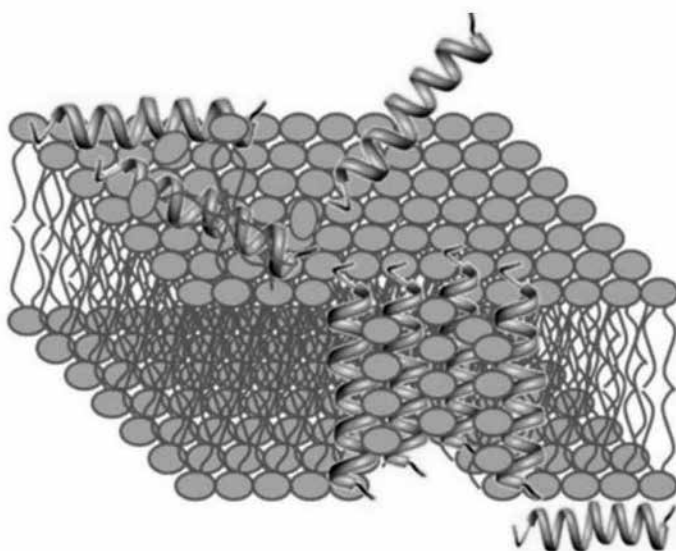
Fuente: Tomado de Kumar et al., 2018.

En este modelo, los péptidos forman un poro en la membrana luego de haber alcanzado una concentración suficiente en la superficie (Fig. 17). Las regiones hidrofóbicas del péptido se alinean con la región lipídica de la membrana y la región hidrofílica del péptido, y así se forma la región interior del poro. Un ejemplo de péptido que induce este tipo de poro en la membrana

es la ovispirina, alameticina, pardaxin, y protegrinas (Téllez & Castaño, 2010).

6.2.3 Modelo del poro toroidal

Figura 18. *Modelo de acción de los péptidos antimicrobianos de poro coloidal*

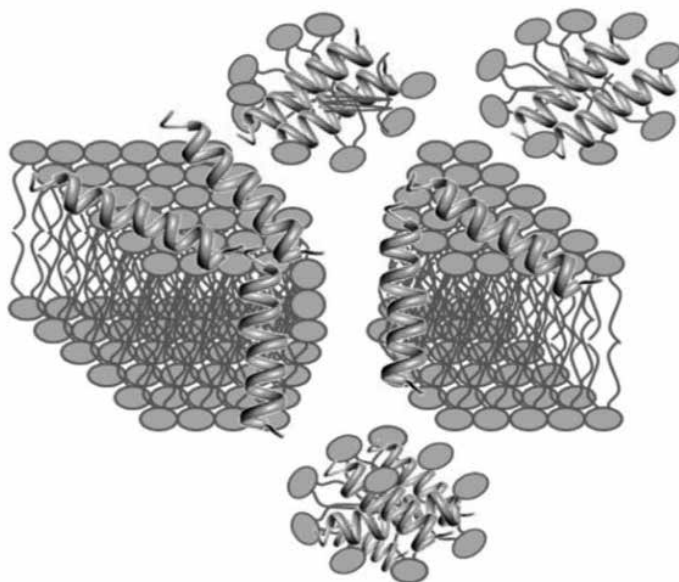


Fuente: Tomado de Kumar et al., 2018

Los PAMs en conformación alfa hélices unidos a la membrana, se agregan e inducen a la monocapa de lípidos a plegarse sobre sí misma de forma continua, estabilizando la formación del poro por las interacciones hidrofóbicas entre las regiones apolares del péptido y las regiones no polares de los lípidos, alcanzando a interactuar simultáneamente con las cadenas acilares (Fig 18). Esto forma un poro con los grupos hidrofílicos orientados hacia el centro del poro, atrapando agua en el corazón del mismo. Este tipo de poro transmembranal está formado por diferentes PAMs como magaininas, y melitina (Téllez & Castaño, 2010).

6.2.4 Mecanismo de agregado

Figura 19. *Modelo de acción de los péptidos antimicrobianos de agregado*



Fuente: Tomado de Kumar et al., 2018.

Este mecanismo es similar a la función de los detergentes. El péptido se une a la membrana y, a una concentración suficiente, se reorienta, lo que permite la formación de estructuras parecidas a los micelios que se extienden en la bicapa en un complejo péptido lipídico (Fig 19). Estos agregados forman un canal por el cual se liberan iones, causando la muerte celular por pérdida del contenido citoplasmático, o pueden desintegrarse espontáneamente, lo que lleva a la translocación de los péptidos hacia el citoplasma donde pueden afectar blancos de acción interna (Téllez & Castaño, 2010).

6.3 Los PAMs como alternativa terapéutica

Ante la necesidad de búsqueda de nuevas estrategias que permitan combatir la RAM, y que presenten mecanismos

novedosos de acción, la ciencia hoy en día se ha interesado en proponer el diseño y uso de PAMs como alternativa terapéutica.

Existen tres enfoques en el desarrollo de técnicas de producción de PAMs, como son la modificación de secuencias conocidas denominadas plantillas, el modelado biofísico, el cual permite entender la actividad del péptido; y por último el cribado virtual (Dehghan Esmatabadi et al., 2017). Estas estrategias han avanzado mediante la ayuda de herramientas computacionales.

Existen ventajas y desventajas en el diseño de las secuencias de los péptidos. La longitud de las secuencias del péptido, puede ser una desventaja que está íntimamente ligada a mutaciones que se introducen en forma aleatoria, lo cual limita el control en el diseño de la secuencia. Los métodos combinatorios sintéticos permiten diseñar una secuencia personalizada, pero se limitan por el tamaño del péptido. Adicionalmente, es importante tener en cuenta que cada diseño de un péptido debe evaluarse *in vitro*, para obtener mayor información sobre sus mecanismos de acción, la degradación de por proteasas que se encuentran en el medio, el estudio del potencial de citotoxicidad, entre otros factores.

6.4 Péptidos antimicrobianos de la familia catelicidinas

Los péptidos humanos se dividen en dos grandes grupos: defensinas y catelicidinas. Las catelicidinas son una familia de PAMs con más de 30 miembros, de tipo catiónico, distribuidos ampliamente en animales y seres humanos. Desempeñan funciones inmunomoduladoras como, angiogénesis, regulación del cáncer al modular la apoptosis, además de actuar en los sistemas respiratorio, gastrointestinal y en la piel (Agier, Efenberger, & Brzezińska-Blaszczyk, 2015).

Todas las catelicidinas comparten un patrón de expresión similar, se sintetizan como pre-proteínas con dominio N-terminal

altamente conservado y dominio antimicrobiano C-terminal. El dominio N-terminal consta habitualmente de 94 a 114 aminoácidos y comparte homología de secuencia con cathelin, un inhibidor de cisteína proteasa derivado de neutrófilos porcinos (por lo tanto, el nombre dominio similar a catelina (CLD)) (Fabisiak et al., 2016).

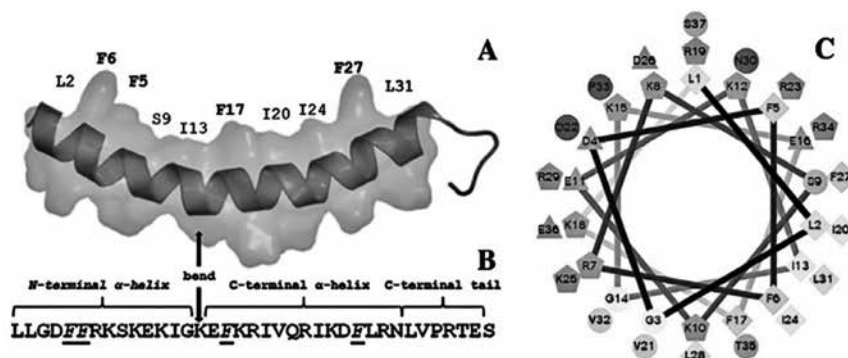
6.5 Actividad antimicrobiana del péptido LL-37

Dentro de los péptidos catelicidinas, el miembro más importante es el LL-37, ya que es el único miembro de esta familia de péptidos antimicrobianos de defensa del huésped expresados en humanos (Hell, Giske, Nelson, Römling, & Marchini, 2010). LL-37 es un péptido antimicrobiano compuesto por 37 aminoácidos (LLGDFFRKSKE-KIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES) iniciando su secuencia por dos leucinas (L) y de conformación tridimensional helicoidal (Figura 20).

Se almacena en gránulos de neutrófilos y células epiteliales específicos como un propéptido inactivo que se codifica en el cromosoma 3p21.3, y escinde extracelularmente por la proteínasa-3 para producir el péptido activo maduro.

La expresión es constitutiva o inducida por contacto con bacterias o componentes de la pared celular bacteriana tales como LPS, alteración de la barrera de las células epiteliales, estrés del retículo endoplásmico (ER), infecciones y heridas (Vandamme, Landuyt, Luyten, & Schoofs, 2012).

Figura 20. Estructura del péptido LL-37. **A.** Estructura tridimensional de LL-37. **B.** Secuencia primaria de LL-37 se indican los extremos N-terminal y C-terminal. **C.** Representación helical wheel de los residuos que componen LL-37



Fuente: Tomado de Santos et al., 2021 y Vandamme et al., 2012.

LL-37 ha demostrado ser un agente terapéutico contra gran cantidad de enfermedades como infecciones y cáncer, además posee gran capacidad para destruir biopelículas bacterianas y la membrana de diferentes microorganismos (Duplantier & Van Hoek, 2013). La propiedad antimicrobiana más importante de LL37 *in vivo* se relaciona con su potente actividad antiinflamatoria (anti endotóxica) y su capacidad selectiva para modular la respuesta inmune favorable. Se ha incluido como terapia antimicrobiana, ya que este péptido no solo ataca las bacterias, sino que también inhibe la formación de biopelícula (Hell et al., 2010).

Se cree que LL-37 actúa formando un poro en la membrana celular o inhibiendo la biogénesis de la pared celular, Es decir, actúa sobre la membrana del microorganismo en estado helicoidal, exponiendo al péptido a serias amenazas que lo neutralizan, incluyendo ciertas proteasas del huésped o compuestos bacterianos, lo que puede ser evitado por la presencia de formas monoméricas (Ageitos et al., 2017).

Todas las características mencionadas hacen del LL-37 un péptido ideal para su utilización como plantilla en el diseño de péptidos miméticos optimizados mediante herramientas

bioinformáticas que podrían ser empleados como estrategia para inhibir la conglomeración de microorganismos dispuestos en estructuras rígidas.

En investigaciones realizadas por el grupo de investigación REMA de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, se ha logrado evidenciar la capacidad de inhibición del péptido LL-37 sobre la formación de la biopelícula en microorganismos Gram positivos (*S. aureus* y *S. epidermidis*) y Gram negativos (*E. coli* y *P. aeruginosa*). En su conformación L y D a concentraciones de 5 μ M logró una disminución de la formación de la biopelícula de 10 a 17 % en el 40% de los aislamientos analizados (Alba et al., 2022). Para las cepas de *P. aeruginosa* es el péptido LL-37 y D-LL37-1 logró inhibición en la formación de biopelículas en un rango de del 49,8 al 79,4 %; por lo anterior este tipo de péptidos suponen una interesante alternativa de tratamiento para combatir infecciones por patógenos con alta prevalencia (Acosta, E., & Martinez, 2018).

7. Otras alternativas terapéuticas no convencionales

La ingeniería genética y la biología sintética han permitido explorar otras alternativas frente al tratamiento de aquellas infecciones causadas por microorganismos resistentes a los antimicrobianos convencionales, ya que la tasa de resistencia antimicrobiana a nivel mundial ha superado la identificación, desarrollo y/o creación de nuevas moléculas que permitan combatirlas. Es por ello que existen otras alternativas no convencionales de tratamiento y control, además de los péptidos antimicrobianos, que están en fase de desarrollo y que pueden resultar prometedoras. Dentro de estos encontramos los siguientes métodos:

7.1 Bacteriófagos contra bacterias resistentes a fármacos

Los bacteriófagos o fagos son virus tipo DNA que infectan y se replican dentro de bacterias. Su acción principal es infectar bacterias de manera selectiva, esto hace que sean más precisos y no se vea afectada la flora comensal o tengan efecto adverso en el ser humano. Además, han demostrado gran eficacia cuando se usan en forma sinérgica con los antibióticos (Liu et al., 2020). Sin embargo, dentro de las desventajas se encuentran

es que esta terapia es transitoria, pues se ha identificado que las bacterias desarrollan resistencia; además si se usan fagos de ciclo lisogénico pueden causar efectos nocivos ya que pueden transmitir información genética a las bacterias y generar aun así mayor resistencia (Ghannad & Mohammadi, 2012).

Otra alternativa descubierta gracias a los bacteriófagos es el uso de endolisinas, enzimas cuya acción principal es la actividad hidrolítica sobre la pared celular de microorganismos Gram positivos. Pero una gran desventaja es la baja capacidad de hidrólisis sobre bacterias Gram negativas, debido al contenido de lipopolisacáridos de la pared celular, que las hace impermeables. Por ello, estudios han demostrado que, a través de la modificación de estas enzimas mediante ingeniería de proteínas se obtienen artilisinas, las cuales poseen la capacidad de atravesar la membrana externa de microorganismos Gram negativos como *P. aeruginosa* y *A. baumannii* (Briers et al., 2014).

Una de las mayores limitaciones frente a esta alternativa no convencional es el hecho de que no hay muchos ensayos clínicos para su desarrollo e identificación de efectos adversos sobre el hospedero. Algunos estudios sugieren que suelen ser identificados por el sistema inmune antes de llegar a la bacteria de interés.

7.2 Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas o CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)

Funciona como un sistema inmune adaptativo bacteriano que memoriza infecciones previas, integrando secuencias cortas de genomas invasores denominados espaciadores en el locus CRISPR. Está constituido por repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y espaciadas entre sí, junto con sus proteínas asociadas que hacen este sistema funcional (Cas). La proteína de tipo nucleasa Cas9, tiene la capacidad de cortar con precisión el ADN basado en una secuencia de ARN guía, es decir puede

usarse como alternativa en contra de secuencias genómicas de tipo bacteriano (Wu, Kriz, & Sharp, 2014).

Desde su descubrimiento el sistema CRISPR se ha usado para editar un genoma en específico, y gracias a esto tienen varias aplicaciones como el tratamiento de enfermedades genéticas, ingeniería del genoma, y la aplicación y edición en genes de resistencia a antimicrobianos. El mecanismo por el cual este sistema es efectivo es gracias a que posee la capacidad de identificar y neutralizar secuencias específicas, a través de 3 pasos: adaptación, expresión, e interferencia (Gholizadeh et al., 2020). Existen dos clases de sistemas CRISPR-Cas de acuerdo a Makarova dependiendo de sus módulos efectores y del tipo de nucleasa asociada. Los sistemas CRISPR-Cas de clase 1 se caracterizan por un módulo efector con múltiples proteínas de unión e incluyen los sistemas CRISPR-Cas de tipo I, III y IV; mientras que la clase 2 cuentan con un módulo efector de una sola subunidad ARNcr. Esta clase incluye los sistemas de tipo II, V y VI. Los tipos II son los más simples en cuanto al número de genes. El gen característico es Cas9 en el tipo II, Cas12 en el tipo V y Cas13 en el tipo III, es por lo cual sistema CRISPR detecta cualquier DNA blanco in vivo, y por ello se ha usado en la edición de genes asociados a virulencia y codificación de genes de resistencia (Wu et al., 2014).

Un ejemplo es el sistema CRISPR-cas13a de *Leptotrichia shahii* ha demostrado atacar secuencias de cepas de *E. coli* resistentes a carbapenémicos y de *S. aureus* resistentes a meticilina; este sistema es empaquetado en una cápside de un bacteriófago que reconocen directamente el sitio de acción, ya que escinde el ARN monocatenario (ARNss) bacteriano guiado por una ARN, y restringiendo así el crecimiento bacteriano y así evitar la propagación de los genes asociados a la resistencia (Kiga et al., 2020).

7.3 Compuestos anti-biopelícula e inhibidores del sistema Quorum Sensing

Las biopelículas como anteriormente fue descrito, son una agrupación de microorganismos envueltos en una matriz de exopolisacáridos, que actúan como un factor de virulencia, que le permite al microorganismo sobrevivir ante situaciones de estrés. Detrás de esta formación de biopelícula hay genes y factores asociados, que favorecen su desarrollo y fortalecimiento; es allí donde los compuestos pueden actuar ya que los que están actualmente disponibles actúan directamente sobre células aisladas o planctónicas (Roy, Tiwari, Donelli, & Tiwari, 2018).

Uno de los factores asociados es el sistema *Quorum Sensing*, el cual concede la comunicación celular y ayuda a determinar la densidad bacteriana en el medio y así mismo, se crean señales que permiten o no la activación de genes autorreguladores del sistema (Penesyan, Gillings, & Paulsen, 2015). Una de las alternativas actuales frente a este sistema son los péptidos anti-biopelícula (PAB), los cuales inhiben la formación de la biopelícula o el crecimiento de la misma luego de su formación. Se ha demostrado que algunos de estos PAB in vitro generan un aumento en la susceptibilidad de cepas de *K. pneumoniae* productoras de Carbapenemasas, además de gran potencial cuando actúan en sinergia con los antibióticos de uso convencional.

7.4 Anticuerpos

Los anticuerpos son una de las grandes alternativas terapéuticas ya que poseen gran capacidad en el reconocimiento de los antígenos, opsonización y neutralización de toxinas derivadas de los microorganismos. La forma más común en el uso de anticuerpos es la administración de inmunoglobulina humana vía intravenosa o el suero hiperinmune, y se han usado en casos de botulismo, difteria y tétanos (Katragkou, Roilides, & Walsh, 2018).

8. Diagnóstico microbiológico de la resistencia a los carbapenémicos

Debido al constante aumento de la resistencia antimicrobiana, y de manera especial a los compuestos carbapenémicos, se hace necesario identificar los microorganismos productores de carbapenemasas. La detección oportuna de bacterias carbapenemasas positivas, permite al personal médico, brindar al paciente un tratamiento adecuado y específico, haciendo un uso racional de los antimicrobianos.

En el laboratorio clínico de diagnóstico microbiológico, se usan técnicas que permiten establecer el fenotipo de sensibilidad y de resistencia antimicrobiano. para ello, se realiza un cribado sobre las enterobacterias para clasificarlas en dos grupos: cepas susceptibles a carbapenémicos y cepas con resistencia intermedia o total a carbapenémicos. Para ambos grupos se usan métodos fenotípicos, dentro de los más comunes encontramos: Test de Hodge modificado, Test basado en inhibidores (APBP, EDTA y Cloxacilina), Medios de cultivo cromogénicos que contienen carbapenémicos, y métodos colorimétricos como el Test CarbaNP.

Existen métodos más especializados, pero que poseen mayor limitación en el laboratorio como lo son MALDI-TOF, y ensayos de inmunodiagnóstico, entre otros (Bou, Vila, Seral, & Castillo, 2014).

El antibiograma es usado para la determinación de la sensibilidad de un antimicrobiano, y consiste en enfrentar el microorganismo de interés frente a un disco impregnado con antimicrobiano, mediante difusión en agar. Para esto se deben usar aislamientos frescos y colonias puras, teniendo en cuenta que los discos a usar, son específicos al tipo de microorganismo y la resistencia intrínseca ya identificada previamente. Su interpretación se realiza midiendo el halo de los diámetros (mm) de inhibición para cada disco de antibiótico usado y luego de la lectura se debe comparar las medidas con la tabla de lectura ya estandarizada por la CLSI. Los resultados se deben informar como sensible, intermedio o resistente (Velasco, Araque, Araujo, Longa & Nieves, 2008).

Uno de los métodos más utilizados en el laboratorio es la metodología del Método de Hodge, ya que es el único método de detección recomendado por el CLSI para la detección de carbapenemasas. Esta prueba se basa en la inactivación de un carbapenémico por algún microorganismo (Bou et al., 2014), aunque esta metodología no permite la clasificación de la enzima presente, y no está recomendado por EUCAAST ya que la interpretación de los resultados presenta dificultad, es por ello que se han realizado ciertas modificaciones al Test (Rickett et al., 2015).

Actualmente, se han desarrollado diferentes sistemas de identificación comerciales debido a la necesidad de obtener resultados más rápidos y una forma de identificación más eficaz y exacta del microorganismo y la sensibilidad a los antimicrobianos. Dentro de los sistemas más usados están MicroScan y Vitek, entre otros.

Pero algunos de estos métodos requieren un tiempo estimado de 24 a 48 horas para establecer el resultado, debido a que se debe exponer el crecimiento del patógeno ante los diferentes antimicrobianos, dificultando así un resultado oportuno; además que, solo permiten poner en evidencia la presencia de las carbapenemasas, más no su clasificación.

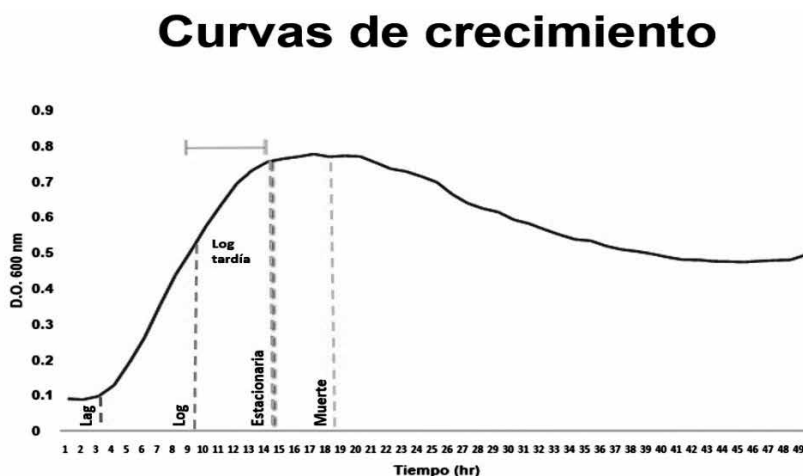
Los métodos fenotípicos convencionales se basan en evidenciar la hidrólisis del carbapenémico o en la inhibición de las carbapenemasas. Uno de los métodos más recientes y basado en técnicas bioquímicas es el método carbaPN, el cual se basa en la hidrólisis del anillo betalactámico del imipenen, con lo cual surge un cambio de color que permite evidenciar la reacción. Este método posee buena sensibilidad y especificidad (Sánchez & Josa M, 2020).

En el laboratorio encontramos otras metodologías que nos permiten la verificación o determinación de la formación de bio-película como mecanismo de resistencia, el monitoreo del crecimiento de microorganismos y su exposición ante agentes antimicrobianos, y así mismo la identificación de la hidrólisis de los carbapenémicos a través de la espectrofotometría. La selección del método a emplear dependerá de las necesidades y capacidades de los laboratorios de diagnóstico o investigación.

8.1 Curvas de crecimiento bacteriano

Durante el crecimiento microbiano, se generan diferentes procesos complejos determinados por los nutrientes y la regulación de la expresión génica, metabolismo dependiendo de los nutrientes, respiración, y replicación, a través de la división celular en un tiempo determinado.

Las curvas de crecimiento microbiano, se generan en diferentes fases, representadas en la figura 21, como son i) fase de latencia o Lag; ii) fase logarítmica o exponencial; iii) fase estacionaria o de plateau; y iv) la fase de muerte (Hajmeer, Basheer, Marsden, & Fung, 2000). Existen equipos automatizados que cuentan con esta metodología, dentro de ellos encontramos el equipo Bioscreen C, que permite el seguimiento de curvas de crecimiento.

Figura 21. *Fases de la curva de crecimiento bacteriano*

Fuente: Tomado y modificado de Acosta, E., & Martínez, 2018.

8.2 Fases de las curvas de crecimiento

8.2.1 Fase de latencia (Fase Lag)

Se define como el retraso en la tasa de crecimiento en un periodo transitorio, por el proceso de adaptación al nuevo entorno. Está dada por las condiciones ambientales previas como es la temperatura y el medio de cultivo. Durante la fase LAG las células se dividen en categorías según su proceso de transición. En la primera, son células que se adaptan para duplicarse, en la segunda, son células nuevas que están adecuadas al entorno para duplicarse y, una tercera, son las células que no se adaptan al nuevo ambiente y mueren (Swinnen et al., 2004)

Se presentan dos subdivisiones, la fase LAG1 o fase LAG inicial, ocurre entre la inoculación y el inicio del crecimiento de la biomasa. Es una adaptación de la fisiología celular a nuevas condiciones; en esta fase la biomasa no crece, pero sucede lo contrario con los genes presentes que se expresan exponencialmente. La fase LAG2 o fase LAG intermedia, esta etapa inicial al

final de LAG1 y el tiempo de inicio de crecimiento. En esta fase la biomasa crece, pero las células no se dividen. Dando paso a la nueva generación de células, y se define en la curva en la intersección de la línea constante de la biomasa y el comienzo de la curva exponencial (Madar et al., 2013). En ambos casos se presenta un proceso de cambio debido a que, al inocular bacterias en un medio fresco de laboratorio, presentan una transición de un medio a otro, utilizando el mecanismo de adaptación o regulación, que no se adaptan al nuevo ambiente y mueren (Swinen, Bernaerts, Dens, Geeraerd, & Van Impe, 2004).

8.2.2 Fase exponencial (Fase Lag 2)

La fase lag 2 da inicio a la fase exponencial, también conocida como “log phase”, fase logarítmica o fase exponencial, se caracteriza por un crecimiento acelerado de la población celular. Esta fase se divide en dos, en la primera parte, las bacterias aumentan su tamaño como consecuencia del aumento de la replicación del material genético, como preparación para la segunda fase que es la reproducción por fisión binaria, en donde el número de bacterias se multiplican de forma exponencial; es decir que, si no hay factores que interrumpan el crecimiento, la duplicación continuará a un ritmo constante y, así sucesivamente, hasta alcanzar el punto máximo de la curva de crecimiento. Este crecimiento dependerá de factores ambientales como temperatura, pH y a los nutrientes disponibles en el medio. Las bacterias consumen de forma acelerada los metabolitos presentes en el medio, con el fin de mantener constante la tasa de crecimiento (Rickett et al., 2015).

En esta etapa se incrementa la producción de ARNm, necesario para lograr el principal objetivo, que es la estabilidad y reproducción masiva del número de células. Este proceso se debe a que, en la fase anterior, la expresión génica está dirigida a mantener el control osmótico a lo largo de la curva de crecimiento. Dichos cambios pueden representar ventajas o desventajas para

los microorganismos. Si las mutaciones que se presentan, proporcionan genes de resistencia o, por el contrario, el material genético se vuelve más frágil (K. L. Anderson et al., 2006).

8.2.3 Fase estacionaria

En la fase estacionaria, las bacterias se encuentran en equilibrio donde continúan dividiéndose, pero a un ritmo más lento en comparación con la fase anterior, esto significa que el número de bacterias producidas, es igual al número de células que mueren, debido a factores externos como los bajos niveles de carbono y otros nutrientes. Los cambios en el ambiente de los microorganismos generan que para cada uno de ellos se desarrollen respuestas metabólicas específicas; a este proceso se le llama, efecto diaúxico o “shift”, en el cual las bacterias son capaces de encender o apagar genes permitiendo que se adapten a los nutrientes disponibles en el medio donde se están desarrollando, es decir, que en lugar de metabolizar los dos azúcares disponibles de manera simultánea, las células microbianas los suelen consumir en un patrón secuencial, lo que resulta en dos fases de crecimiento separadas; en la primera, se utiliza el azúcar o metabolitos de preferencia, cuando estos se agotan, comienzan a utilizar otros factores de menor prioridad; estas dos etapas están divididas por un corto periodo en donde se evidencia disminución del crecimiento generando cambios enzimáticos de adaptación.

En consecuencia, a dichos cambios metabólicos, la cantidad de proteínas liberadas disminuye, conservando la producción de las necesarias para sobrevivir, como proteínas metabólicas, las cuales son utilizadas para la conservación de energía; también funcionan como factor de virulencia que influye en la adhesión y en la capacidad de invasión a la célula huésped (Mariappan, Vellasamy, Hashim, & Vadivelu, 2011; Spratt & Lane, 2022).

8.2.4 Fase de muerte

En esta fase se puede evidenciar por medio de la turbidez, donde se incrementa el número de células muertas debido a la disminución del sustrato que va siendo consumido en las últimas horas de incubación posterior a la fase estacionaria. Las células continúan realizando procesos metabólicos, pero de forma lenta, iniciando una disminución progresiva de células viables, es decir que la población pasa a la fase de muerte culminando así el ciclo de crecimiento bacteriano (Archer et al., 2011; Contreras & Sepúlveda, 2014).

9. Diagnóstico molecular de la resistencia microbiana

Los estudios moleculares tienen diversas áreas de aplicación en las ciencias biológicas y disciplinas como: la infectología, epidemiología, farmacología y terapia génica, entre otras. La mayoría de los métodos moleculares han avanzado en rapidez, sin embargo, muchos de ellos siguen dependiendo de un cultivo, el cual atrasa el resultado. Es por ello que las muestras ideales para la detección de las carbapenemasas deben ser las muestras obtenidas directamente del paciente y obtener así un diagnóstico mucho más eficaz y rápido. En la toma de muestras para los estudios de diagnóstico microbiológico molecular existen factores y recomendaciones a tener en cuenta. Cuando es necesario obtener muestra de sangre periférica no es necesario que la persona se encuentre en ayunas debido a que este factor no modifica ni la estructura o concentración de los ácidos nucleicos; sin embargo, lo ideal es estar en ayuno para evitar que una concentración elevada de lípidos interfiera durante la extracción de los ácidos nucleicos.

Gracias a los avances de la tecnología, actualmente es posible identificar fenotípicamente y genotípicamente los microorganismos que presentan resistencia mediante técnicas como la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), electroforesis y

enzimas de restricción para la identificación de mutaciones. Es por ello que con el paso del tiempo la biología molecular y sus diferentes técnicas han permitido la rápida identificación de la resistencia antimicrobiana, considerándose así métodos de referencia para la identificación de los genes que codifican para las carbapenemasas.

9.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Es el método molecular más comúnmente empleado, siendo una técnica de diagnóstico muy sensible, capaz de amplificar y revelar hasta una sola copia de ADN, a partir de muestras de diferente origen. El desarrollo de esta técnica se da gracias a la enzima ADN polimerasa, que interviene en el crecimiento de la molécula de ADN, realizando la polimerización de los nucleótidos complementarios a la cadena molde de ADN. Con el descubrimiento de la polimerasa estable al calor, aislada de la bacteria *Thermus aquaticus* se logró simplificar y automatizar esta técnica (Bermúdez, 2022).

La eficacia de la PCR está determinada por criterios de suma importancia para técnicas de laboratorio como son: especificidad, eficiencia, fidelidad y sensibilidad. La *especificidad* se obtiene por la generación de un único producto de amplificación. La *eficiencia* con la máxima producción de amplificación en función del número de ciclos y la fidelidad con el menor número de errores introducidos por la enzima ADN polimerasa durante la síntesis de la nueva cadena y, por último, la *sensibilidad* de la PCR, que permite obtener gran cantidad de copias a partir de una cantidad mínima de ADN extraído de la muestra. Es de destacar que se encuentran diferentes variantes de la PCR convencional como son la: RT-PCR, PCR multiplex, PCR Anidada, PCR en tiempo real, entre otras (Bermúdez, 2022).

Mediante PCR en tiempo real ya se han desarrollado nuevas metodologías comerciales que permiten la identificación de las carbapenemasas y sus variantes alélicas (blaIMP, blaNDM,

blaKPC, blaVIM, blaOXA-48, blaOXA-181 y blaOXA-232) como lo son GenPOC, SpeedDx, Carba (beta) PCR y Xpert Carba R, entre otros (Bordin et al., 2019; Cabrera Monroy, 2020), que además de su buen desempeño permiten la determinación a través de diferentes muestras biológicas.

La PCR y sus variantes se ha convertido en una herramienta efectiva para la identificación de genes asociados a resistencia de Carbapenémicos de mayor importancia a nivel mundial como son el gen blaKPC, blaVIM y blaIMP, blaNDM, entre otros (Bou et al., 2014); en el caso de la identificación de resistencia asociada a la formación de biopelícula por parte de *Candida albicans* encontramos los genes ALS3, HWP 1 y BCR 1, además la resistencia de azoles medida por la actividad aumentada de las bombas de eflujo, conferida por los genes CDR1 y CDR2 los cuales confieren resistencia a casi todos los azoles, pertenecientes a la superfamilia del casete de unión al ATP, y MDR1 el cual proporciona resistencia al Fluconazol.

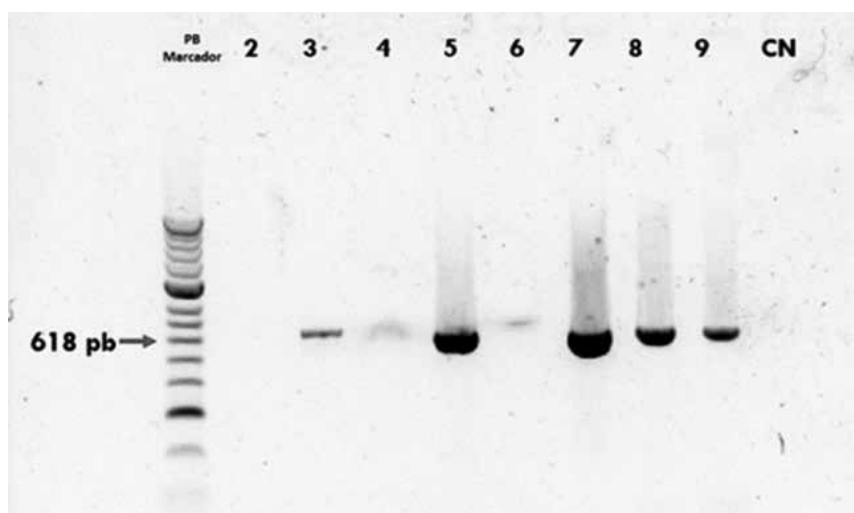
La sobreexpresión de estos genes y el subsiguiente aumento de la actividad de estas bombas impiden la acumulación del fármaco dentro de la célula en el sitio de acción perjudicando así la eficacia del mismo (Brilhante et al., 2016) lo que ha permitido que esta técnica adquiera un mayor valor diagnóstico.

9.2 Electroforesis

El término electroforesis proviene del griego *phorēsis*, que significa ser llevado y, dentro de este contexto, se refiere a transporte de electricidad; es un método electroanalítico de separación, basado en la migración de las partículas cargadas o potencialmente cargadas al ser sometidas a la acción de un campo eléctrico. Esta separa los iones debido a la diferencia de la relación carga-tamaño (Bermúdez, 2022). Esta técnica nos permite la identificación de la presencia de los productos esperados a través de la reacción en cadena de la polimerasa.

En la figura 22 se evidencia la presencia de productos de ampliación que cumplen con el tamaño esperado, estos son de aislamientos *K. pneumoniae* que poseen el gen *mrkA* relacionado con la proteína MrkA que está asociada a fimbrias de tipo 3, la cual facilita las interacciones bacterianas para la formación de biopelícula.

Figura 22. Gel de electroforesis. PCR para el gen *mrkA*. 1. Marcador de peso molecular BIOLINE 50 pb. 3,5, 7 y 9 Muestras positivas para el gen. CN: control negativo



Fuente: elaboración propia.

9.3 Enzimas de restricción

Uno de los mecanismos de defensa bacteriana lo constituyen las enzimas de restricción, las cuales degradan moléculas de ADN invasoras a través de, la hidrólisis del enlace fosfodiéster entre nucleótidos. Estas enzimas se denominan endonucleasas debido a que su actividad catalítica implica la generación de un corte en el interior de la doble cadena del ADN, destruyendo su continuidad lineal. Si bien es un mecanismo de defensa contra ADN bacteriófago, estas enzimas no distinguen ADN propio de ADN extraño por lo que la bacteria hospedera restrictiva debe

proteger su propio ADN de potenciales efectos letales de las endonucleasas de restricción, produciendo así modificaciones en el ADN bacteriano.

Las enzimas de restricción han sido agrupadas en forma general y genérica, en tres grupos diferentes: enzimas tipo I, enzimas tipo II y enzimas tipo III. La clasificación tiene en cuenta su estructura, sitio de reconocimiento, características del proceso de degradación del ADN blanco, cofactores que intervienen en su especificidad de reconocimiento de secuencias de nucleótidos y su asociación con el fenómeno paralelo de la modificación (Bermúdez, 2022).

Dentro de los usos más comunes que se les da a las enzimas de restricción son localizar y aislar determinadas secuencias específicas, usadas para diagnóstico diferencial de mutaciones.

9.4 Electroforesis en campo pulsado

Es una técnica en la cual la dirección del flujo de la corriente en la cámara de electroforesis se cambia periódicamente. Como consecuencia, las moléculas a separar, tienen un cambio de orientación al aplicarse múltiples campos eléctricos.

Esta técnica suele emplearse para la identificación y diferenciación de clones bacterianos; es de gran importancia en estudios epidemiológicos de brotes causados por *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, entre otras, detectar la transmisión la transmisión cruzada de patógenos y reconocer cepas particularmente virulentas (Cardozo-Bernal, Ramón, Poutou-Piñales, Carrascal-Camacho, & Zambrano, 2013).

9.5 Microarreglos o microarrays

Esta metodología permite el estudio de múltiples genes al mismo tiempo, utilizando procesos de hibridación para detectar mediante imágenes la unión de una molécula diana a una sonda

específica que se encuentra inmóvil en un soporte. Involucra una síntesis previa de secuencias cortas de oligonucleótidos o, productos de PCR o sondas de ADN o cDNA, de cadena sencilla, las cuales se unen a un soporte en donde poseen una posición conocida en el sistema. Sobre este soporte o chip se va a realizar la hibridación con la muestra problema, la cual se marca por diversos métodos enzimáticos o fluorescentes entre otros; posteriormente se produce una cantidad de luz que se puede medir y así se identifica a que sonda se ha unido la muestra. Esta metodología permite la detección y cuantificación de la presencia o ausencia de varios genes y su expresión de resistencia, para diferentes betalactamasas al mismo tiempo (BLEE, AmpC y carbapenemasas). El resultado del análisis se obtiene en 8 horas y presenta una sensibilidad y una especificidad prácticamente del 100% (Cabrera Monroy, 2020; March-Rosselló, 2017).

9.6 Espectrometría de masas MALDI-TOF

La espectrometría de masas realiza un análisis de proteínas mediante el cual se hace la identificación de bacterias, hongos o levaduras. Con esta técnica se obtienen resultados en un tiempo promedio de tres horas para la identificación de enzimas que hidrolizan un determinado antibiótico. Si el microorganismo posee la enzima se observará la desaparición del pico correspondiente al antibiótico, de lo contrario se observará la presencia del pico. Esta técnica posee una sensibilidad casi del 100%. También es posible estudiar la sensibilidad a los antibióticos mediante la incubación de microorganismos en presencia de antibióticos en un medio con moléculas marcadas con isótopos. Si el microorganismo es resistente, este incorporará las moléculas marcadas que podrán ser detectadas (Cabrera Monroy, 2020; March-Rosselló, 2017).

Estas técnicas que involucran proteómica se han implementado de manera paulatina en los laboratorios de microbiología (Bou et al., 2014).

Referencias

- Abril Riaño, D. J., Castro Cardozo, B., Moncada Guayazán, M. V., Márquez Ortiz, R. A., Corredor Roza, Z. L., Olarte, N., ... Escobar Pérez, J. (2020). Caracterización genética y molecular de *Pseudomonas Aeruginosa* causante de infecciones en UCI de tres ciudades de Colombia. *Visionarios En Ciencia y Tecnología*, 3(1), 26–31. <https://doi.org/10.47186/visct.v3i1.68>
- Abushaheen, M. A., Muzahed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., ... Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6). <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>
- Achmad Ali Fikri, Syamsul Arifin, M. F. F. (2022). Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022. *World Health Organization* (Vol. 2).
- Acosta, E., & Martinez, W. (2018). *Comparación de la actividad antibiopelícula de los péptidos AC-LL37-1 y D-LL37 en cepas de Staphylococcus spp., Escherichia coli Y Pseudomonas aeruginosa*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

- Ageitos, J. M., Sánchez-Pérez, A., Calo-Mata, P., & Villa, T. G. (2017). Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochemical Pharmacology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>
- Agier, J., Efenberger, M., & Brzezińska-Blaszczyk, E. (2015). Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Central European Journal of Immunology*. Termedia Publishing House Ltd. <https://doi.org/10.5114/ceji.2015.51359>
- Alba, M. L. S., Durán-Rodríguez, A. T., Pulido, L. M. S., Escobar-Pérez, J., Gutiérrez, S. A., Ospina, J. N., ... Molina, L. C. M. (2022). Peptides DLL37-1 and LL37-1, an alternative to inhibit biofilm formation in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 94(3). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210848>
- Alfonso, C., López, M., Arechavala, A., Perrone, M. del C., Gueffand, L., & Bianchi, M. (2010). Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(2), 90–93. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.01.008>
- Aminov, R. (2017). History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. *Biochemical Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.001>
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00134>
- Anderson, A. C., Jonas, D., Huber, I., Karygianni, L., Wölber, J., Hellwig, E., ... Al-Ahmad, A. (2016). Enterococcus faecalis from food, clinical specimens, and oral sites: Prevalence of virulence factors in association with biofilm

- formation. *Frontiers in Microbiology*, 6(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01534>
- Anderson, K. L., Roberts, C., Disz, T., Vonstein, V., Hwang, K., Overbeek, R., ... Dunman, P. M. (2006). Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover. *Journal of Bacteriology*, 188(19), 6739–6756. <https://doi.org/10.1128/JB.00609-06>
- Andersson, D. I., Nicoloff, H., & Hjort, K. (2019). Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0218-1>
- Barsoumian, A. E., Mende, K., Sanchez, C. J., Beckius, M. L., Wenke, J. C., Murray, C. K., & Akers, K. S. (2015). Clinical infectious outcomes associated with biofilm-related bacterial infections: A retrospective chart review. *BMC Infectious Diseases*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0972-2>
- Bechinger, B., & Gorr, S. U. (2017). Antimicrobial Peptides: Mechanisms of Action and Resistance. *Journal of Dental Research*. <https://doi.org/10.1177/0022034516679973>
- Bedout, C. de, & Gómez, B. L. (2010). Candida y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio*, 14, 159–171. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(10\)70133-8](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(10)70133-8)
- Bermúdez, G. P. (2022). *Biología molecular: ADN recombinante y sus aplicaciones. ADN recombinante y sus aplicaciones.*
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2011). Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory

- Response. *Journal of Pathogens*, 2011, 1–13. <https://doi.org/10.4061/2011/601905>
- Bordin, A., Trembizki, E., Windsor, M., Wee, R., Tan, L. Y., Buckley, C., ... Whiley, D. M. (2019). Evaluation of the SpeedX Carba (beta) multiplex real-time PCR assay for detection of NDM, KPC, OXA-48-like, IMP-4-like and VIM carbapenemase genes. *BMC Infectious Diseases*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4176-z>
- Bou, G., Vila, J., Seral, C., & Castillo, F. J. (2014). Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in various scenarios and health settings. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(S4), 24–32. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(14\)70171-5](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(14)70171-5)
- Brescó, M. S., Harris, L. G., Thompson, K., Stanic, B., Morgenstern, M., O'Mahony, L., ... Moriarty, T. F. (2017). Pathogenic mechanisms and host interactions in Staphylococcus epidermidis device-related infection. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01401>
- Briers, Y., Walmagh, M., Puyenbroeck, V. Van, Cornelissen, A., Cenens, W., Aertsen, A., & Oliveira, H. (2014). Engineered Endolysin-Based “ Artilyns ” To Combat Multidrug-. *MBio*, 5(4).
- Brooks, L. R. K., & Mias, G. I. (2018). Streptococcus pneumoniae's virulence and host immunity: Aging, diagnostics, and prevention. *Frontiers in Immunology*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01366>
- Cabrera Monroy, N. (2020). Métodos de detección rápida de carbapenemasas en Enterobacteriaceae.
- Calderón Rojas, G., & Aguilar Ulate, L. (2016). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 73(621), 757–763.

- Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- Cardozo-Bernal, Á. M., Ramón, L. F., Poutou-Piñales, R. A., Carrascal-Camacho, A. K., & Zambrano, D. C. (2013). Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE) para la diferenciación molecular de *Listeria monocytogenes*. *Universitas Scientiarum*, 18(2), 203–222. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC18-2.egcp>
- Cassir, N., Rolain, J.-M., Brouqui, P., Balganes, M., Dinesh, N., Sharma, S., ... Andries, K. (2014). A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Tuberculosis*, 14(1), 178–182. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00551>
- Celis Bustos, Y. A., Vanesa Rubio, V., & Camacho Navarro, M. M. (2017). Perspectiva histórica del origen evolutivo de la resistencia a antibióticos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 105–117. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.69501>
- Chabi, R., & Momtaz, H. (2019). Virulence factors and antibiotic resistance properties of the *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran. *Tropical Medicine and Health*, 47(1). <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0180-7>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Choby, J. E., Howard-Anderson, J., & Weiss, D. S. (2020). Hyper-virulent *Klebsiella pneumoniae* – clinical and molecular perspectives. *Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1111/joim.13007>

- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. (2020). Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *Journal of Molecular Evolution*. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>
- Cortés, J. A., Ruiz, J. F., Melgarejo, L., & Lemos, E. (2020). Candidemia en Colombia. *Biomédica*, 40(1), 1–33.
- Dehghan Esmatabadi, M. J., Bozorgmehr, A., Hajjari, S. N., Sadat Sombolestani, A., Malekshahi, Z. V., & Sadeghizadeh, M. (2017). Review of new insights into antimicrobial agents. *Cellular and Molecular Biology*. <https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.2.6>
- Eichenberger, E. M., & Thaden, J. T. (2019). Epidemiology and mechanisms of resistance of extensively drug resistant gram-negative bacteria. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020037>
- Elshamy, A. A., & Aboshanab, K. M. (2020). A review on bacterial resistance to carbapenems: Epidemiology, detection and treatment options. *Future Science OA*. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0098>
- Fabisiak, A., Murawska, N., & Fichna, J. (2016). LL-37: Cathelicidin-related antimicrobial peptide with pleiotropic activity. *Pharmacological Reports*. Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.03.015>
- Fernández, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 661–681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
- Gajdács, M., & Albericio, F. (2019). Antibiotic resistance: from the bench to patients. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030129>

- García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The enterococcus: A model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>
- García Palomo, J. D., Agüero Balbín, J., Parra Blanco, J. A., & Santos Benito, M. F. (2010). Infectious diseases: Concept, classification, general and specific aspects of infections. Criteria for infectious disease suspicion. Complementary diagnostic tests. Indication criteria. *Medicine*, 10(49), 3251–3264. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70027-5](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70027-5)
- García, R. B., Bonifaz, A., Chassin, O. A., Kuba, E. B., Araiza, J., & Cabello, R. R. (2007). Correlation between clinical characteristics and mycological tests in the vulvovaginitis by *Candida*. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 75(2), 68–72.
- Ghannad, M. S., & Mohammadi, A. (2012). Bacteriophage: Time to re-evaluate the potential of phage therapy as a promising agent to control multidrug-resistant bacteria. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.
- Gholizadeh, P., Köse, Ş., Dao, S., Ganbarov, K., Tanomand, A., Dal, T., ... Kafil, H. S. (2020). How CRISPR-Cas system could be used to combat antimicrobial resistance. *Infection and Drug Resistance*. <https://doi.org/10.2147/IDR.S247271>
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfín-Otero, M. del R., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta de México*, 156(2). <https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>
- González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C., & González Ponce, F. de M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *ACTA MEDICA PERUANA*, 36(2), 145–151. <https://doi.org/10.35663/amp.2019.362.816>

- Gould, K. (2016). Antibiotics: From prehistory to the present day. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv484>
- Gray, D. A., & Wenzel, M. (2020). More than a pore: A current perspective on the in vivo mode of action of the lipopeptide antibiotic daptomycin. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010017>
- Guo, Z. (2017). The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.06.003>
- Hajmeer, M. N., Basheer, I. A., Marsden, J. L., & Fung, D. Y. C. (2000). New approach for modeling generalized microbial growth curves using artificial neural networks. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 8(4), 265–283. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2000.tb00328.x>
- Han, Y. L., Wen, X. H., Zhao, W., Cao, X. S., Wen, J. X., Wang, J. R., ... Zheng, W. Q. (2022). Epidemiological characteristics and molecular evolution mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1003783>
- Hassan, K. A., Liu, Q., Elbourne, L. D. H., Ahmad, I., Sharples, D., Naidu, V., ... Paulsen, I. T. (2018). Pacing across the membrane: the novel PACE family of efflux pumps is widespread in Gram-negative pathogens. *Research in Microbiology*, 169(7–8), 450–454. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.01.001>
- Hell, É., Giske, C. G., Nelson, A., Römling, U., & Marchini, G. (2010). Human cathelicidin peptide LL37 inhibits both attachment capability and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Letters in Applied Microbiology*, 50(2), 211–215. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02778.x>

- Huang, L., Wu, C., Gao, H., Xu, C., Dai, M., Huang, L., ... Cheng, G. (2022). Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040520>
- INS - Instituto Nacional de Salud. (2018). *Infecciones asociadas a dispositivos en Colombia*.
- Instituto Nacional de Salud. (2021). Boletín epidemiológico semanal: Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, Colombia, semana epidemiológica 09. *Boletín Epidemiológico Semanal*.
- J. Navarrete, G. Pinilla, L. M. (2020). Actividad de péptidos antifúngicos derivados de la catelicidina humana LL37 en aislamientos clínicos causantes de candidiasis vulvovaginal. *Infectio*, 24(3), 72–74.
- Jiménez Pearson, M. A., Galas, M., Corso, A., Hormazábal, J. C., Duarte Valderrama, C., Salgado Marcano, N., ... Melano, R. (2019). Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 1–8. <https://doi.org/10.26633/rpsp.2019.65>
- Jung, S. H., Ryu, C. M., & Kim, J. S. (2019). Bacterial persistence: Fundamentals and clinical importance. *Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s12275-019-9218-0>
- Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2021). Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415>
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians.

Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology.
https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

- Katragkou, A., Roilides, E., & Walsh, T. J. (2018). Role of immunoglobulin therapy to prevent and treat infections. In *Management of Infections in the Immunocompromised Host* (pp. 339–358). https://doi.org/10.1007/978-3-319-77674-3_17
- Khabbaz, R., Cars, O., Kumar, S., Perovic, O., Song, J.-H., Thamlikitkul, V., ... Wu, Y. (2017). Implementation of the global action plan on antimicrobial resistance. *WHO GAP AMR Newsletter N°32*, (32), 1–4.
- Kiga, K., Tan, X. E., Ibarra-Chávez, R., Watanabe, S., Aiba, Y., Sato'o, Y., ... Cui, L. (2020). Development of CRISPR-Cas13a-based antimicrobials capable of sequence-specific killing of target bacteria. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16731-6>
- Kollef, M. H., Torres, A., Shorr, A. F., Martin-Loeches, I., & Micek, S. T. (2021). Nosocomial Infection. *Critical Care Medicine*. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004783>
- Kot, B. (2019). Antibiotic Resistance among Uropathogenic *Escherichia coli*. *Polish Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.33073/PJM-2019-048>
- Kumar, P., Kizhakkedathu, J. N., & Straus, S. K. (2018). Antimicrobial peptides: Diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. *Biomolecules*. <https://doi.org/10.3390/biom8010004>
- Lannes-Costa, P. S., de Oliveira, J. S. S., da Silva Santos, G., & Nagao, P. E. (2021). A current review of pathogenicity determinants of *Streptococcus* sp. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/jam.15090>

- Liu, C. G., Green, S. I., Min, L., Clark, J. R., Salazar, K. C., Terwilliger, A. L., ... Maresso, A. W. (2020). Phage-antibiotic synergy is driven by a unique combination of antibacterial mechanism of action and stoichiometry. *MBio*, 11(4), 1–19. <https://doi.org/10.1128/mBio.01462-20>
- López-Ávila, K., Dzul-Rosado, K. R., Lugo-Caballero, C., Arias-León, J. J., & Zavala-Castro, J. E. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *REVISTA BIOMÉDICA*, 27(3). <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>
- Luján Roca, D. Á. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 48(4), 465–474.
- Madar, D., Dekel, E., Bren, A., Zimmer, A., Porat, Z., & Alon, U. (2013). Promoter activity dynamics in the lag phase of *Escherichia coli*. *BMC Systems Biology*, 7. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-136>
- Mangoni, M. L., Mcdermott, A. M., & Zasloff, M. (2016). Antimicrobial peptides and wound healing: Biological and therapeutic considerations. *Experimental Dermatology*, 25(3), 167–173. <https://doi.org/10.1111/exd.12929>
- March-Rosselló, G. A. (2017). Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(3), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.005>
- Mariappan, V., Vellasamy, K. M., Hashim, O. H., & Vadivelu, J. (2011). Profiling of *Burkholderia cepacia* secretome at mid-logarithmic and early-stationary phases of growth. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026518>

- Min, K., Ichikawa, Y., Woolford, C. A., & Mitchell, A. P. (2016). *Candida albicans* Gene Deletion with a Transient CRIS-PR-Cas9 System. *MSphere*, 1(3). <https://doi.org/10.1128/msphere.00130-16>
- Mullis, M. M., Rambo, I. M., Baker, B. J., & Reese, B. K. (2019). Diversity, Ecology, and Prevalence of Antimicrobials in Nature. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02518>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. In *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens* (Vol. 4, pp. 481–511). <https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch17>
- Nicolau, C. J., & Oliver, A. (2010). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas* Carbapenemases in *Pseudomonas* spp. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 28.
- Ochoa, S. A., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L. B., López-Martínez, B., ... Xicohtencatl-Cortes, J. (2013). Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín Medico Del Hospital Infantil de Mexico*, 70(2), 138–150.
- Overhage, J., Campisano, A., Bains, M., Torfs, E. C. W., Rehm, B. H. A., & Hancock, R. E. W. (2008). Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infection and Immunity*, 76(9), 4176–4182. <https://doi.org/10.1128/IAI.00318-08>
- Penesyan, A., Gillings, M., & Paulsen, I. T. (2015). Antibiotic discovery: Combatting bacterial resistance in cells and in biofilm communities. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules20045286>

- Piddock, L. J. V. (2006). Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.382-402.2006>
- Ploy, M. C., Lambert, T., Couty, J. P., & Denis, F. (2000). Integrons: An antibiotic resistance gene capture and expression system. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2000.070>
- Quispe Pari, G. D., & Castillo Limberd, H. (2014). Cocos gram positivos. *Revista de Actualizacion Clinica*, 49, 2172–2175.
- Rickett, L. M., Pullen, N., Hartley, M., Zipfel, C., Kamoun, S., Baranyi, J., & Morris, R. J. (2015). Incorporating prior knowledge improves detection of differences in bacterial growth rate. *BMC Systems Biology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s12918-015-0204-9>
- Romaniuk, J. A. H., & Cegelski, L. (2015). Bacterial cell wall composition and the influence of antibiotics by cell-wall and whole-cell NMR. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0024>
- Rossi, D. C., Munoz, J. E., Carvalho, D. D., Belmonte, R., Faintuch, B., Borelli, P., ... Daffre, S. (2012). Therapeutic use of a cationic antimicrobial peptide from the spider *Acanthoscurria gomesiana* in the control of experimental candidiasis. *BMC Microbiology*, 12(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-28>
- Roy, R., Tiwari, M., Donelli, G., & Tiwari, V. (2018). Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372>
- Sánchez, M., & Josa M, D. (2020). Detección rápida de Enterobacterias productoras de carbapenemasas en hisopados

- rectales de pacientes neonatos colonizados. *Infectio*, 25(2), 89. <https://doi.org/10.22354/in.v25i2.925>
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
- Santos, P., Muñoz, L., Cruz, C., Navarrete, J., & Pinilla, G. (2021). Péptidos antimicrobianos LL-37 y sus derivados frente a microorganismos de importancia clínica: Una alternativa a la resistencia microbiana. In *Ciencia transdisciplinar para el desarrollo y la supervivencia de la humanidad* (pp. 198–215).
- Shrivastava, R., & Chng, S. S. (2019). Lipid trafficking across the Gram-negative cell envelope. *Journal of Biological Chemistry*, 294(39), 14175–14184. <https://doi.org/10.1074/jbc.AW119.008139>
- Singh, S. P., Qureshi, A., & Hassan, W. (2021). Mechanisms of action by antimicrobial agents: A review. *McGill Journal of Medicine*, 19(1). <https://doi.org/10.26443/mjm.v19i1.217>
- Skarżyńska, M., Zając, M., & Wasyl, D. (2020). Antibiotics and Bacteria: Mechanisms of Action and Resistance Strategies. *Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology*, 59(1), 49–62. <https://doi.org/10.21307/pm-2020.59.1.005>
- Spratt, M. R., & Lane, K. (2022). Navigating Environmental Transitions: the Role of Phenotypic Variation in Bacterial Responses. In *mBio* (Vol. 13). <https://doi.org/10.1128/mbio.02212-22>
- Suay-García, B., & Pérez-Gracia, M. T. (2019). Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) infections. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030122>

- Swinnen, I. A. M., Bernaerts, K., Dens, E. J. J., Geeraerd, A. H., & Van Impe, J. F. (2004). Predictive modelling of the microbial lag phase: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(2), 137–159. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.006>
- Téllez, G. A., & Castaño, J. C. (2010). Péptidos antimicrobianos. *Infectio*, 14(1), 55–67. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(10\)70093-x](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(10)70093-x)
- Tikhomirova, A., Trappetti, C., Paton, J. C., Watson-Haigh, N., Wabnitz, D., Jervis-Bardy, J., ... Kidd, S. P. (2021). A single nucleotide polymorphism in an IgA1 protease gene determines *Streptococcus pneumoniae* adaptation to the middle ear during otitis media. *Pathogens and Disease*, 79(1). <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa077>
- Torres, D. A., Seth-Smith, H. M. B., Joosse, N., Lang, C., Dubuis, O., Nüesch-Inderbinen, M., ... Egli, A. (2021). Colistin resistance in Gram-negative bacteria analysed by five phenotypic assays and inference of the underlying genomic mechanisms. *BMC Microbiology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02388-8>
- Urquiza Ayala, G., Jackeline Arce Chuquimia, D., & Gladys Alanoca Mamani, D. (2018). Resistencia bacteriana por beta lactamasas de espectro extendido: un problema creciente bacterial resistance by extended spectrum Betalactamase: a growing problem. *Rev Med La Paz*.
- Vandamme, D., Landuyt, B., Luyten, W., & Schoofs, L. (2012). A comprehensive summary of LL-37, the lactoferrin human cathelicidin peptide. *Cellular Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2012.11.009>
- Vanegas-Múnera, J. M., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2020). Antimicrobial resistance in the 21st century: Towards a post-antibiotic era? *Revista Facultad Nacional de Salud Publica*. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v38n1e337759>

- Velasco, Y., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., & Nieves, B. (2008). *Manual practico de bacteriologia. Manual Práctico de Bacteriología Clínica*.
- Villa, L. M., Cortés, J. A., Leal, A. L., Meneses, A., Meléndez, M. P., & De Grebo, N. (2013). Resistance to antibiotics in pseudomonas aeruginosa in colombian hospitals. *Revista Chilena de Infectología*, 30(6), 605–610. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000600005>
- Wang, G. (2014). Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals*, 7(5), 545–594. <https://doi.org/10.3390/ph7050545>
- WHO. (2020). OMS | Resistencia a los antimicrobianos. *WHO Media Centre*.
- World Health Organization (WHO). (2020). *GLASS Report: Early Implementation 2020. World Health Organisation*.
- Wu, X., Kriz, A. J., & Sharp, P. A. (2014). Target specificity of the CRISPR-Cas9 system. *Quantitative Biology*. <https://doi.org/10.1007/s40484-014-0030-x>
- Zheng, J. S., Liang, J., Shi, W. W., Li, Y., Hu, H. G., Tian, C. L., & Liu, L. (2021). A mirror-image protein-based information bar-coding and storage technology. *Science Bulletin*, 66(15). <https://doi.org/10.1016/j.scib.2021.03.010>
- Zhu, M., Liu, P., & Niu, Z. W. (2017). A perspective on general direction and challenges facing antimicrobial peptides. *Chinese Chemical Letters*, 28(4), 703–708. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2016.10.001>

Esta publicación describe información relevante de los principales patógenos causantes de infecciones resistentes a los antimicrobianos, mecanismos empleados por los mismos para ocasionar dicha resistencia, además de exteriorizar el panorama actual de esta problemática que ha llevado a la implementación por parte de los entes gubernamentales de diversas estrategias de intervención que permitan una mayor prevención y control en la diseminación de estos.

Al mismo tiempo se presentan las diferentes técnicas desde, convencionales hasta métodos moleculares, que permitan un diagnóstico rápido del perfil de susceptibilidad o resistencia para llevar a cabo un posterior tratamiento. Dado que los fármacos actualmente utilizados en el control de las infecciones microbianas, han disminuido su efectividad, se ha hecho necesario efectuar la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas prometedoras como los péptidos antimicrobianos, los cuales describimos ampliamente con el fin de combatir estos patógenos ya sea empleándolos de manera individual y/o conjunta con los antibióticos.

ISBN: 978-958-5198-25-8



9 789585 198258