

Grado en Biología

Revisión bibliográfica: Bacterias multirresistentes.

Revisión bibliográfica: Bacterias multirresistentes.

Bibliographic review: Multiresistant bacteria.

Adrián Olalla Cano

Curso: 2020-2021. Convocatoria: Septiembre

Director académico: María Ángeles Cid Blanco

ÍNDICE

RESUMEN	1
RESUMO.....	1
ABSTRACT	1
PALABRAS CLAVE.....	2
PALABRAS CHAVE	2
KEY WORDS	2
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	3
RESULTADOS	4
Inactivación enzimática del agente antibacteriano	4
Alteración de la proteína objetivo	4
Impedir el acceso del agente a la diana	5
Bombas de eflujo	5
Plásmidos R	7
Bacterias multirresistentes en hospitales.....	8
Perspectiva futura.....	9
Sistema CRISPR-Cas	10
Nanotecnología	11
Bacteriófagos	12
CONCLUSIONES.....	12
CONCLUSIÓNS	13
CONCLUSIONS	13
BIBLIOGRAFÍA	13

RESUMEN

Las bacterias multirresistentes son objeto de gran preocupación para la salud pública debido a su habilidad para resistir los tratamientos con antibióticos. El estudio de los mecanismos de resistencia bacteriana y su comprensión es necesario para poder sortearlos o eliminarlos en los tratamientos de infecciones causadas por bacterias multirresistentes. Dentro de las bacterias multirresistentes cabe destacar el grupo ESKAPE, compuesto por bacterias de alta prioridad declaradas por la OMS. Las infecciones nosocomiales causadas por estas bacterias son cada vez más complicadas, las bacterias están aumentando su capacidad de resistencia y son necesarios fármacos de última generación para tratarlas. Esta situación está dando paso a la aplicación de nuevas tecnologías con aplicaciones bactericidas como la nanotecnología, el empleo de bacteriófagos o el uso del sistema CRISPR-Cas. Estas nuevas tecnologías pueden permitir la implantación de nuevos tratamientos no dependientes de antibióticos o usarse para eliminar la resistencia de las bacterias multirresistentes.

RESUMO

As bacterias multirresistentes son obxecto dunha gran preocupación para a saúde pública debido a súa capacidade de resistir os tratamentos con antibióticos. O estudo dos mecanismos de resistencia bacteriana e a súa comprensión é necesario para poder sortealos nos tratamentos de infeccións causadas por bacterias multirresistentes. Dentro das bacterias multirresistentes cabe destacar as do grupo ESKAPE, composto por bacterias de alta prioridade declaradas pola OMS. As infeccións nosocomiais causadas por estas bacterias son cada vez máis complicadas, as bacterias están a aumentar a súa capacidade de resistencia e son necesarios fármacos de última xeración para tratalas. Esta situación está a dar paso á aplicación de novas tecnoloxías con aplicación bactericidas como a nanotecnoloxía, o emprego de bacteriófagos ou o uso do sistema CRISPR-Cas. Estas novas tecnoloxías poden permitir a implantación de novos tratamentos non dependentes de antibióticos ou usarse para eliminar a resistencia das bacterias multirresistentes.

ABSTRACT

Multiresistant bacteria are a public health of great concern for their ability to resist antibiotic treatments. The study of resistance mechanism and an adequate comprehension is necessary to avoid or eliminate them in multiresistant infections treatments. Among multiresistant bacteria is worth mentioning the group ESKAPE, composed by high priority bacteria declared by the WHO. Nosocomial infections caused by these bacteria are increasingly complicated, bacteria are improving their resistance capacity and state of the art drugs are necessary for treatment. This situation is giving way to the application of new technologies with bactericidal applications such as nanotechnology, the use of bacteriophages or CRISPR-Cas system. These new technologies can allow the

implantation of new not antibiotic dependent treatments or be used to resistance capacity of multiresistant bacteria.

PALABRAS CLAVE

Bacterias Multirresistentes, Infecciones Nosocomiales, Mecanismos de Multirresistencia, Historia de los Antibióticos, Sistemas CRISPR-Cas

PALABRAS CHAVE

Bacterias Multirresistentes, Infecciones Nosocomiais, Mecanismos de Multirresistencia, Historia dos Antibióticos, Sistemas CRISPR-Cas

KEY WORDS

Multiresistant Bacteria, Nosocomial Infections, Multiresistant Mechanisms, Antibiotics History, CRISPR-Cas Systems.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming supuso una revolución sanitaria, como el primer antibiótico conocido, sin embargo, su uso no se generalizó hasta mediados de los años 40 (Nikaido, 2009). Desde el descubrimiento de la penicilina mediante investigación o por azar, como en el caso de la penicilina, se descubrieron numerosos compuestos antibacterianos (Tabla 1), sin embargo, desde que se descubrieron los ketólidos en 1997 no se han descubierto más clases de antibióticos (Durand et al., 2019).

Desde la introducción de los antibióticos para combatir las infecciones bacterianas, las bacterias han empezado a adquirir resistencia a éstos. Siendo una de las primeras detectadas en el *Staphylococcus aureus*, que adquirió resistencia a la penicilina mediante la producción de β -Lactamasas, alcanzando una tasa de resistencia del 75% ya en 1952 (Dennesen et al., 1998).

En la actualidad el control y tratamiento de las bacterias multirresistentes supone un importante coste económico para los hospitales, cada vez hay más estudios que valoran la eficacia y el coste de los tratamientos de las infecciones nosocomiales por bacterias multirresistentes (Wilke, 2010). Los investigadores buscan nuevos antibióticos con mayor eficacia y menor coste de producción, también siendo importante en el coste la terapia y la respuesta del paciente. (Wilke, 2010). En la última década los esfuerzos en la búsqueda de nuevos antibióticos han disminuido considerablemente (Mühlberg et al., 2020),

cambiando su enfoque hacia métodos alternativos para tratar las infecciones causadas por bacterias multirresistentes (Lima et al., 2019), o en la modificación de antibióticos tradicionales (Mühlberg et al., 2020)

Tabla 1. Listado de antibióticos conocidos indicando su fecha de descubrimiento y el antibiótico que llevó a su descubrimiento (Durand et al., 2019).

Clase	Antibiótico	Fecha descubrimiento
Aminoglucósidos	Estreptomina	1943
Fármacos antituberculosos	Pirazinamida	1936
B-Lactámicos	Penicilina	1928
Ácido carboxílico	Mupirocina	1971
Cloranfenicoles	Cloranfenicol	1946
Fosfomicina	Fosfomicina	1969
Glucopéptidos	Vancomicina	1953
Ketólidos	Telitromicina	1997
Lincosamidas	lincomicina	1963
Lipopéptidos	Daptomicina	1986
Macrólidos	Eritromicina	1948
Nitrofuranos	Nitrofurantoína	1952
Nitroimidazoles	Metronidazol	1960
Oxazolidinonas	Linezólido	1987
Polipéptidos	Polimixina	1947
Quinolonas	Ácido nalidíxico	1960
Rifamicina	Rifampicina	1957
Esteroides	Ácido fusídico	1962
Estreptograminas	Estreptogramina B	1953
Sulfonamidas	Sulfametoxazol	1961
Tetraciclinas	Clortetraciclina	1948

OBJETIVOS

Con esta revisión bibliográfica se pretende recopilar información para obtener una idea lo más actualizada posible del estado de las bacterias multirresistentes, mecanismos de resistencia que presentan, su estado en los hospitales y posibles mecanismos para combatirlas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para esta revisión bibliográfica se han considerado principalmente artículos publicados a partir del 2010, con excepción de artículos de especial popularidad o relevancia debido a su cantidad de citas en otros artículos. La búsqueda de estos se llevó a cabo en las bases de datos “Web of Science” y “MEDLINE”, mediante la introducción de los términos “multiresistant bacteria”, “nosocomial infections”, “multiresistant mechanisms”, “antibiotics history” y “CRISPR-Cas

systems”. También se consideraron algunos de los artículos señalados por las bases de datos como “relacionados” con los resultantes de dicha búsqueda.

La elección de artículos se realizó de manera subjetiva, intentando conseguir artículos lo más actualizados posibles y atendiendo a características como relevancia o interés personal.

RESULTADOS

La resistencia en bacterias puede definirse como la capacidad de defensa de éstas frente a agentes antibióticos y/o biocidas presentes en el ambiente que las rodea. Desde un punto de vista bioquímico se puede explicar la resistencia como la incapacidad del agente antibiótico de alcanzar su objetivo en una concentración adecuada para inhibir la actividad celular (Blanco et al., 2016). La multiresistencia en bacterias se alcanza por la acumulación de múltiples genes capaces de conferir resistencia a antibióticos. Esto se puede alcanzar mediante dos vías no excluyentes (Blanco et al., 2016):

- Co-resistencia: Presencia de múltiples genes, cada uno codificando un determinante de resistencia hacia un único agente antibacteriano.
- Resistencia cruzada: Ocurre cuando un gen codifica un determinante que confiere resistencia a múltiples antibióticos.

Esta acumulación se produce generalmente en plásmidos, conocidos como de resistencia o plásmidos R, que pueden ser transferidos horizontalmente a otras bacterias, extendiendo la resistencia (Nikaido, 2009), se los que hablaremos más adelante. Es importante conocer primero los factores y mecanismos capaces de otorgar resistencia en bacterias

Inactivación enzimática del agente antibacteriano.

Este es un mecanismo común de resistencia bacteriana hacia los antibióticos de origen natural (Nikaido, 2009). Un ejemplo de ello, como se menciona en la introducción, es la producción de β -Lactamasas contra la penicilina, produciendo su hidrólisis (Dennesen et al., 1998; Nikaido, 2009). La propagación de la resistencia llevó al desarrollo de nuevos antibióticos β -Lactámicos, como la meticilina, sin embargo, apareció otra enzima, la β -Lactamasa TEM, que además se propagó globalmente (Dennesen et al., 1998; Nikaido, 2009). Otro ejemplo sería, en los aminoglucósidos la modificación mediante aminoglucósido-transferasa y aminoglucósido-fosforilasa, que reducen la carga positiva neta del antibiótico, inactivándolo (Nikaido, 2009).

Alteración de la proteína objetivo

Esta resistencia se obtiene mediante la adquisición de genes codificadores de proteínas con menor susceptibilidad al antibiótico o evitando la interacción del antibiótico con su diana (Nikaido, 2009). En el caso del *Streptococcus pneumoniae*, la secuenciación de genes codificadores de resistencia a la

penicilina reveló que la resistencia se debía a una proteína en mosaico, partes de la cual proceden de otros organismos (Nikaido, 2009). Esto es indicativo de adquisición de genes de otros organismos para ayudar a adquirir resistencia.

Impedir el acceso del agente a la diana

Puede darse principalmente de dos modos; impidiendo la asociación del antibiótico con su objetivo o mediante la expulsión activa del antibiótico a través de bombas de eflujo, en el caso de las bacterias Gram negativas también tienen la posibilidad de reducir la permeabilidad general de la membrana externa (Nikaido, 2009). Un ejemplo de inhibición local son las proteínas Tet (M) o (S) en bacterias Gram positivas, se unen a ribosomas y cambian su conformación, impidiendo la asociación de éstos con tetraciclinas (Nikaido, 2009). En el caso de la reducción de permeabilidad en la membrana externa en Gram negativas se suele producir por cepas con mutaciones en las porinas (Nikaido, 2009). No obstante, ya de manera intrínseca las bacterias Gram negativas presentan mayor resistencia, sobre todo los lipofílicos. Las mutaciones que reducen la permeabilidad pueden resultar perjudiciales para las bacterias, al reducir también su acceso a nutrientes, siendo mutaciones raras, sin embargo, hay informes sobre algún mutante capaz de reducir la permeabilidad de B-Lactámicos sin afectar las pequeñas moléculas de nutrientes (Nikaido, 2009).

Bombas de eflujo

Es interesante conocer más a fondo la resistencia obtenida por la presencia de bombas de eflujo. Estas bombas, o transportadores, están presentes en todos los organismos, siendo capaces de expulsar multitud de compuestos del interior celular (Blanco et al., 2016). En Procariontes encontramos 5 familias mayores de bombas de eflujo: la superfamilia ABC (ATP Binding Cassette), la superfamilia RND (Resistance Nodulation Division), la familia SMR (Small Multidrug Resistance), la superfamilia MFS (Major Facilitator Superfamily) y la familia MATE (Multidrug and Toxic compound Extrusion) (Nikaido, 2009; Blanco et al., 2016). Las familias ABC, SMR, MFS y MATE se encuentran ampliamente distribuidas, sin embargo, la superfamilia RND es específica de bacterias Gram negativas y tienen en ellas un papel predominante en su multiresistencia (Nikaido, 2009). Normalmente la expresión de los genes codificadores de estos transportadores está fuertemente regulada, pero la utilización de antibióticos puede llevar a la selección de mutantes con sobreexpresión de estos genes, aumentando su resistencia (Blanco et al., 2016). A continuación, comentaremos algún ejemplo de bombas de eflujo de las distintas familias (Nikaido, 2009).

La resistencia conferida por estos transportadores puede ser intrínseca, adquirida o fenotípica (Figura 1), la presencia de las dos últimas es fomentada por la presencia de antibióticos o biocidas (Blanco et al., 2016). Los genes codificadores pueden estar presentes en plásmidos sujetos a ser transferidos horizontalmente (Blanco et al., 2016). Una única bomba de eflujo es capaz de extruir más de un antibiótico (Nikaido, 2009; Blanco et al., 2016), siendo un ejemplo de resistencia cruzada y puede realizarse mediante transporte activo o cotransporte.

Tienen un papel importante en la resistencia frente biocidas, como desinfectantes, y además son parte importante en la biodegradación de contaminantes, protegiendo a la célula de sus efectos tóxicos y expulsando el compuesto resultante de la biodegradación (Blanco et al., 2016). La presencia de biocidas, puede causar la selección de mutantes con sobreexpresión de genes codificantes para bombas de eflujo, a su vez estas mismas bombas pueden ser capaces de expulsar de la célula ciertos antibióticos (Blanco et al., 2016). Esto puede ser preocupante debido al uso de desinfectantes y otros antisépticos que se está llevando a cabo por la pandemia causada por el SARS-CoV-2 (España, Orden Ministerial SND/399/2020 del 9 de mayo). Con lo antes mencionado se podría afirmar que el uso de desinfectantes a gran escala que se ha realizado desde el inicio de la pandemia en todos los ámbitos de la sociedad pudo tener un impacto en las bacterias en la naturaleza y las presentes en nuestra microbiota. Sería interesante realizar nuevos estudios para comprobar si realmente el impacto es significativo y, si lo es, hasta qué punto.

Se piensa que estos transportadores han proporcionado de manera secundaria resistencia frente diversos antibióticos (Blanco et al., 2016), siendo su papel fundamental la protección celular frente a metales, contaminantes presentes que capta la célula y otras sustancias potencialmente nocivas (Nikaido, 2009). También tienen papel en la comunicación celular mediante la extrusión de moléculas señal, con un papel en los sistemas de quorum (Blanco et al., 2016).

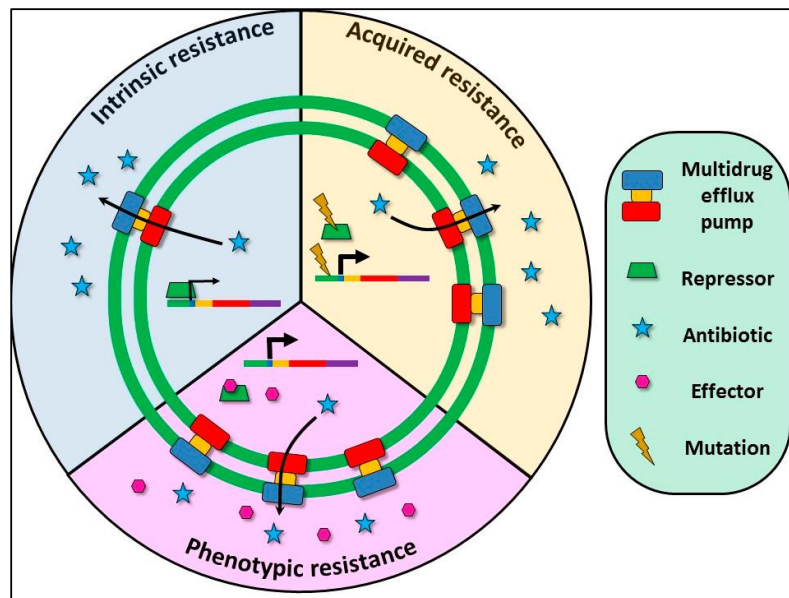
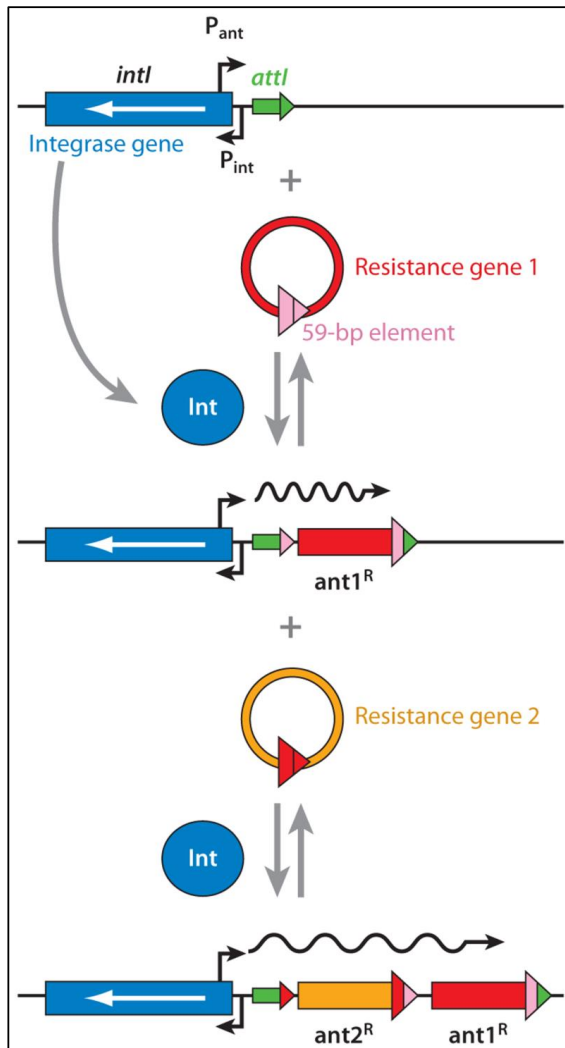


Figura 1. En esta figura observamos el papel de las bombas de eflujo en la resistencia a antibióticos según el tipo de expresión que presentan los genes codificadores y el tipo de resistencia que confieren. La parte azul de la figura representa una transcripción basal de los genes codificadores, proporcionando una resistencia intrínseca contra antibióticos. En la sección amarilla debido a mutaciones que pueden ocurrir a nivel de las proteínas reguladoras, o a nivel del represor, se produce transcripción activa de los genes codificadores. Por último, en la zona rosa la expresión de los genes está regulada por inductores presentes en el ambiente, que activarían la transcripción de los genes, siendo una resistencia fenotípica (Blanco et al., 2016).

Plásmidos R

Los plásmidos son pequeñas moléculas de ADN bacteriano extracromosómico capaces de expresar genes. Los genes que expresan resistencia a antibióticos suelen estar presentes en plásmidos de resistencia (R), esto permite a las bacterias transferir resistencia a las células susceptibles con mayor facilidad (Nikaido, 2009). Esta transferencia es un procedimiento complejo, que se lleva a cabo por un proceso denominado conjugación, en la que intervienen una bacteria donante y otra recipiente.



dirección pueden ser entonces transcritos simultáneamente por el promotor del integrón, P_{ant} (Nikaido, 2009).

Muchos genes codificadores de resistencia forman parte de transposones y contienen una secuencia única de 59 pares de bases (pb) 3'-terminal (Nikaido, 2009). Dentro de los transposones también se localizan integrones que utilizando la anterior secuencia 59 pb son capaces de catalizar la inserción de genes de resistencia corriente abajo de un promotor (Figura 2) (Nikaido, 2009).

Figura 2. En este esquema se representa el mecanismo de inserción de genes de un integrón. Los integrones tienen un gen específico de integrasa (*intl*) y otro lugar específico de integración (*attI*). Cuando un gen de resistencia en forma de casete presenta la secuencia 59 pb, es integrado en el sitio específico *attI* por la integrasa, produciéndose una leve modificación en éste y quedándose con parte de la secuencia 59 pb del gen 1. Este proceso puede repetirse nuevamente como se aprecia con el gen de resistencia 2 en la figura. Estos genes orientados en la misma

También cabe resaltar que algunas bacterias pueden presentar estados de resistencia transitorios, se conocen como células o bacterias persistentes (Nikaido, 2009). Son muy resistentes frente a antibióticos y desinfectantes, estas bacterias son las principales responsables de originar brotes infecciosos en hospitales de origen monoclonal (Dennesen et al., 1998; Nikaido, 2009). La

formación de biopelículas se relaciona también con un aumento de la resistencia de las bacterias embebidas, impidiendo el acceso de biocidas o antibióticos, pero se desconoce hasta que punto se debe a la biopelícula misma o a células persistentes presentes en ella (Nikaido, 2009).

Bacterias multirresistentes en hospitales.

La resistencia bacteriana a agentes antibióticos es ya un problema global debido al uso excesivo de éstos a lo largo de los años (Lima et al., 2019; Santos Zonta et al., 2020), son causantes de problemas en los tratamientos y recuperaciones hospitalarias, contribuyendo al aumento de la mortalidad (Woodford et al., 2011). No solo se produce multirresistencia en las bacterias patógenas, siendo los principales objetivos del uso de antibióticos, ya que las bacterias comensales de la microbiota humana también están expuestas a sus efectos (Jacopin et al., 2020). Estas bacterias comensales pueden generar resistencia a antibióticos y producir graves infecciones nosocomiales, al ser patógenas oportunistas (Jacopin et al., 2020). Estas bacterias comensales multirresistentes suelen acabar en las aguas residuales producidas por los hospitales y otras instalaciones sanitarias mayoritariamente, siendo una fuente de bacterias multirresistentes que acaban diseminadas en el medio ambiente (Lépesová et al., 2020).

Entre las bacterias multirresistentes cabe destacar el grupo denominado ESKAPE (Lima et al., 2019), éstas son: *Enterococcus faecium*., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp*. En el grupo ESKAPE podemos distinguir las críticamente prioritarias (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter spp*) y las altamente prioritarias (*E. faecium*., *S. aureus*) (Santos Zonta et al., 2020).

La *K. pneumoniae* es un patógeno que presenta una alta mortalidad, en torno al 23,4%, aunque el dato es muy variable, y es responsable de neumonías e infecciones del tracto urinario (Santos Zonta et al., 2020). Pertenece a la Familia Enterobacteriaceae y una gran preocupación concierne a las cepas productoras de carbapenemasas de tipo KPC o NDM, capaces de hidrolizar los carbapenémicos (Santos Zonta et al., 2020). También se han encontrado aislados con presencia de metallo- β -Lactamasas (MBLs) de tipo VIM (Woodford et al., 2011).

El *A. baumannii* es un cocobacilo Gram negativo de elevada morbimortalidad. Es un patógeno oportunista normalmente responsable de infecciones nosocomiales, pulmonares y urinarias (Santos Zonta et al., 2020). La mayor parte de los brotes hospitalarios provienen de dos linajes clonales conocidas como European clones I y II (Woodford et al., 2011). En aislados de estas bacterias se han encontrado MBLs tipo VIM (Verona integron-encoded metallo- β -Lactamasas) y resistencia ante carbapenémicos

La *P. aeruginosa* es un bacilo Gram negativo común en infecciones nosocomiales, está presente sobre todo en infecciones respiratorias, urinarias y

bacteriemias, las infecciones se producen mayoritariamente en pacientes de hospitalización prolongada, antibioticoterapia de amplio espectro y ventilación mecánica (Santos Zonta et al., 2020). En unos Aislados bacterianos recogidos en Madrid el 50% de ellas se mostraban susceptibles únicamente ante polimixinas (Woodford et al., 2011).

Las bacterias *Enterobacter spp*, como *E. coli*, que es una bacteria Gram negativa encontrada en la microbiota humana intestinal, es responsable de infecciones digestivas, urinarias, sepsis, bacteriemias y meningitis (Santos Zonta et al., 2020). Las cepas que presentan enzimas CTX-M, que son β -Lactamasas de espectro extendido, son las más preocupantes (Woodford et al., 2011)..

El *E. faecium*, fue una de las primeras bacterias resistentes a vancomicina en aislarse, junto con *Enterococcus faecalis* (Mühlberg et al., 2020). Es una bacteria Gram positiva comensal presente en el intestino humano (Dennensen et al., 1998).

El *S. aureus* es uno lo más virulentos, está asociado a heridas quirúrgicas, infecciones cutáneas, neumonías e infecciones del tracto urinario (Durand et al., 1998). Forma parte del grupo de los cocos Gram positivos, estando presente en la microbiota humana (Santos Zonta et al., 2020). Las cepas más preocupantes son las resistentes a meticilina (MRSA) (Durand et al., 1998; Santos Zonta et al., 2020).

En los hospitales las UCI son zonas de especial riesgo de infección por parte de bacterias multirresistentes debido al uso intensivo de antibióticos (Santos Zonta et al., 2020). Su uso es necesario debido al riesgo que supone una infección en los pacientes, al tener alto riesgo. Sin embargo, el uso excesivo de antibióticos puede aumentar el riesgo de infección por bacterias multirresistentes en los pacientes (Dualleh et al., 2020; Mühlberg et al., 2020). La presencia de múltiples antibióticos en el mismo paciente, según el modelo creado por Jacopin et al. (2020), aumenta la posibilidad de producir multirresistencia en bacterias sobre todo en las bacterias comensales. Sin embargo, en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias multirresistentes lo habitual es usar un tratamiento concomitante de antibióticos, antibióticos de última generación o una combinación de antibiótico e inhibidor de la resistencia bacteriana (Dennesen et al., 1998; Santos Zonta et al., 2020). Esto puede plantear serios problemas a la hora de tratar a dichos pacientes ya que debido a su frágil estado de salud una infección puede resultar mortal, requiriendo mucha precaución por parte del personal sanitario para salvaguardar la salud del paciente.

Perspectiva futura.

La comunidad científica aprecia escasas posibilidades de aparición de un nuevo antibiótico con un impacto efectivo sobre las cepas más peligrosas, al menos en un futuro cercano (Lima et al., 2019; Mühlberg et al., 2020). Esto pone sobre la mesa la problemática de un aumento de la resistencia bacteriana a los

tratamientos actuales sumado a lo anterior dicho. El método de proceder recomendado, para intentar controlar la situación, sería el uso más racionado de antibióticos tradicionales y el empleo conjunto de antibióticos con métodos potenciadores de su efectividad o inhibidores de resistencia (Lima et al., 2019).

Las formas tradicionales de lucha frente a las bacterias multirresistentes en los hospitales consisten, principalmente, en la detección temprana del brote, implementación de medidas para evitar su transmisión, aislamiento de pacientes infectados, uso de EPIS (guantes, mascarillas, etc.), uso de desinfectantes y antibióticos (Dennesen et al., 1998). La desinfección de las superficies hospitalarias para la prevención de la aparición de estos brotes y evitar infecciones nosocomiales son una práctica costosa para los hospitales (Dennesen et al., 1998; Wilke, 2010). Aun así, todo este esfuerzo no impide la aparición de brotes de cepas de bacterias resistentes y multirresistentes, siendo en su mayoría de origen monoclonal (Dennesen et al., 1998).

Aún con lo anteriormente dicho sobre la pérdida de eficacia de los antibióticos, la investigación de nuevos antibióticos es también un factor muy importante en la lucha contra las bacterias multirresistentes (Durand et al., 2019; Mühlberg et al., 2020;). Las investigaciones actuales están más enfocadas en modificaciones estructurales de antibióticos existentes para evitar la resistencia bacteriana y restaurar su capacidad de control de infecciones (Mühlberg et al., 2020).

Los nuevos tratamientos y métodos desarrollados pueden arrojar esperanza para un mejor tratamiento de estas infecciones y mejorar las perspectivas de supervivencia de los pacientes infectados (Yousefi et al., 2017; Lima et al., 2019). Unos nuevos métodos prometedores que no implican la utilización de antibióticos es el uso del sistema CRISPR-Cas, bacteriófagos, y aplicación de nanotecnología en la forma de nanopartículas (Lima et al., 2019).

Sistema CRISPR-Cas

CRISPR-Cas es un sistema capaz de reconocer secuencias de ADN y modificarlas o degradarlas, dependiendo del tipo de sistema (Savitskaya et al., 2016; Lima et al., 2019). La utilidad y relativa simplicidad de este sistema ha permitido a los investigadores replicarlo para su uso en múltiples campos de investigación y desarrollo, sobre todo en el entorno de edición génica. En el entorno sanitario este sistema tiene varias posibilidades en su modo de aplicación frente a bacterias, pudiendo aplicarse directamente como bactericida o como un paso previo al uso de antibióticos, eliminando primero su resistencia (Lima et al., 2019). Este sistema tiene la capacidad de atacar cepas específicas que presentan multirresistencia y eliminarlas. Otro modo de empleo sería marcar como objetivo los genes codificadores de resistencia, inutilizándolo, volviendo a la bacteria vulnerable frente a los agentes antibióticos (Lima et al., 2019).

No obstante, este sistema, aunque eficaz, presenta diversos problemas para su aplicación práctica, siendo el principal problema la falta de un vehículo eficaz para transportar el sistema a la bacteria (Lima et al., 2019). Otros problemas son la adquisición de resistencia a este sistema y la presencia de

cepas en las que el sistema no es efectivo (Lima et al., 2019). Este método tiene grandes posibilidades, a la vez que muchos problemas por superar, necesitando más investigación al respecto.

Nanotecnología

El uso de esta tecnología tiene multitud de utilidades a la hora de sintetizar antibióticos y en forma de nanopartículas para afectar a las bacterias. El uso de nanomateriales con antibióticos puede potenciar su eficacia mejorando sus propiedades como, biodisponibilidad, velocidad de absorción, ayudando en el transporte del antibiótico al interior celular (Lima et al., 2019). Esta última utilización podría aplicarse para ayudar en el método de transporte del sistema CRISPR-Cas antes mencionado. También pueden ayudar a la acción del antibiótico atacando conjuntamente a la bacteria, mediante la utilización de nanopartículas metálicas para atacar funciones celulares y debilitar la célula (Lima et al., 2019). El problema de la aplicación de esta tecnología es su potencial tóxico para el uso en tratamientos de infecciones y la falta de estudios al respecto (Lima et al., 2019).

Algunas nanopartículas con capacidad antibacteriana son: plata (Ag), óxido de hierro (Fe_3O_4), óxido de titanio (TiO_2), óxido de cobre (CuO), oro (Au), óxido de zinc (ZnO), quitosan, fullereno, nanotubos de carbón (CNTs), grafeno, nanopartículas emisoras de óxido nítrico (NO releasing) y nanoemulsiones (Yousefi et al., 2017), una breve exposición de mecanismos y aplicaciones presente en la Tabla 2. La plata es una de las más estudiadas y sus efectos en bacterias pueden conllevar cambios electrostáticos, cambios en la porosidad, ruptura celular, bloqueo enzimático, interferencia en la respiración celular y destrucción del ADN (Yousefi et al., 2017; Lima et al., 2019). Otra nanopartícula con gran potencial es el grafeno y óxido de grafeno, presentan capacidad antibacteriana por si solos y la capacidad de hibridación con otras nanopartículas para potenciar sus efectos (Lima et al., 2019). Tienen la ventaja de tener bajo coste de producción en comparación con otras nanopartículas, aunque presentan potencial citotóxico perjudicial para la salud humana (Lima et al., 2019).

Tabla 2. Nanomateriales con actividad antibacteriana, con sus mecanismos y sus posibles aplicaciones (Yousefi et al., 2017).

Nanomaterial	Mecanismo antibacteriano	Aplicaciones
Ag	Liberación de iones Ag^+ , daño en el ADN, alteraciones en la membrana celular y transporte de electrones	Agente antibacteriano, apósito para heridas quirúrgicas y pie diabético, recubrimiento de instrumental médico
TiO_2	Producción de ROS, daño en la membrana celular	Agente antibacteriano, esterilización de alimentos
CuO	Producción de ROS, Disrupción de membrana celular	Agente antibacteriano
Au	Interacción con la membrana celular, Atracción electrostática	Agente antibacteriano, Terapias fototermales con luz infrarroja, tratamiento auxiliar en infecciones críticas

ZnO	Daño membrana celular, producción H_2O_2 , liberación iones Zn^{2+}	Cremas antibacterianas, lavado de boca, Recubrimiento de instrumental médico
Chitosan	Quelación iones metálicos traza, incrementa la permeabilidad y favorece la ruptura de la membrana celular, inactivación enzimática	Inmovilizar bacterias, esterilización de equipo médico, recubrimientos antibacterianos de superficies
Fullereno	Ataca la integridad de la membrana celular, facilita la actividad de los neutrófilos	Posible uso para esterilizar
CNTs	Producción de ROS, oxidación de lípidos y proteínas de la membrana celular	Membranas resistentes al biofouling
NO-releasing	Producción de ROS y NO	Tratamiento de heridas infectadas
Nano-emulsión	Interacciona con la membrana celular	Agente anti-biopelículas

Bacteriófagos

Debido a la situación descrita anteriormente causada por las bacterias multirresistentes y la búsqueda de métodos alternativos para ayudar a combatirlos algunos investigadores han centrado su atención en los virus bacteriófagos. En la práctica su utilidad presenta problemas, provocando reacción del sistema inmune y pueden causar problemas en el sistema cardiovascular, digestivo y nervioso (Lima et al., 2019). Hay investigaciones que exploran posibles soluciones para los problemas que presenta su uso, mediante el uso de cápsulas de nanopartículas, ligándolos a macromoléculas, sin embargo, es una técnica que aún requiere un gran esfuerzo en investigación (Lima et al., 2019).

CONCLUSIONES

La comprensión de los mecanismos de resistencia es fundamental para controlar la propagación de la multirresistencia y para desarrollar antibióticos o tratamientos capaces de superarlos.

El riesgo de infecciones nosocomiales es un problema cada vez más preocupante de salud pública, debido al aumento de la resistencia en bacterias (grupo ESKAPE) y la falta de nuevos medicamentos capaces de combatirlos.

El desarrollo de nuevas tecnologías y su aplicación en el ámbito sanitario nos muestra un futuro prometedor para la lucha contra las bacterias multirresistentes.

CONCLUSIONES

A comprensión dos mecanismos de resistencia é fundamental para controlar a propagación da multiresistencia e para desenvolver antibióticos ou tratamentos capaces de superalos.

O risco de infeccións nosocomiales é un problema cada vez máis preocupante de saúde pública, debido ao aumento da resistencia en bacterias (grupo ESKAPE) e a falta de novos medicamentos capaces de combatelas.

O desenvolvemento de novas tecnoloxías e a súa aplicación no ámbito sanitario móstranos un futuro prometedor cara a loita contra as bacterias multiresistentes.

CONCLUSIONS

Understanding resistance mechanisms is essential to control the spread of multiresistance and development of antibiotics or treatments to overcome them.

The risk of nosocomial infections is an increasingly worrying problem in public health problem, due to the increase in resistance in bacteria (ESKAPE group), and the lack of new drugs capable of combating them.

The development of new technologies and their application in the health field shows a promising future for the fight against multiresistant bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hiroshi Nikaido. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review of Biochemistry*. 2009. 78; 119-146.
2. Paula Blanco, Sara Hernando-Amado, José Antonio Reales-Calderón, Fernando Corona, Felipe Lira, Manuel Alcalde-Rico, Alejandra Bernardini, María Blanca Sánchez & José Luis Martínez. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms*. 2016. 4(1); 14.
3. Guillaume André Durand, Didier Raoult & Grégory Dubourg. Antibiotic discovery: history, methods and perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2019. 53(4); 371-382.
4. MH Wilke. Multiresistant bacteria and current therapy - the economical side of the story. *European Journal of Medical Research*. 2010. 15; 571.
5. Paul J W Dennesen, Marc J M Bonten & Robert A Weinstein. Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. *Annals of Medicine*. 1998. 30(2); 176-85.
6. Renata Lima, Fernando Sá Del Fiol & Victor M. Balcão. Prospects of the use of new technologies to combat multidrug-resistant bacteria. *Frontiers in Pharmacology*. 2019. 10; 692.

7. Elliott Jacopin, Sonja Lehtinen, Florence Débarre & François Blanquart. Factors favoring the evolution of multidrug resistance in bacteria. *Journal of the Royal Society Interface*. 2020. 17; 20200105.
8. Franciele do Nascimento Santos Zonta, Márcia da Silva Roque, Ruan Gabriel Soares da Silva, Amanda Gabrieli Ritter & Fernanda Tondello Jacobsen. Colonización por ESKAPES y características clínicas de pacientes en estado crítico. *Enfermería Global*. 2020. 19(59); 214-254.
9. Nasra Dualleh., Iman Chanchiri, Helene Skjøt-Arkil, Andreas Kristian Pedersen, Flemming S Rosenvinge & Isik Somuncu Johansen. Colonization with multiresistant bacteria in acute hospital care: the association of prior antibiotic consumption as a risk factor, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020. 75(12); 3675-3681.
10. Mohammadreza Yousefi, Mehdi Dadashpour, Maryam Hejazi, Mohammad Hasanzadehd, Behzad Behnam, Miguel de la Guardia, Nasrin Shadjou & Ahad Mokhtarzadeh. Anti-bacterial activity of graphene oxide as a new weapon nanomaterial to combat multidrug-resistance bacteria. *Materials Science & Engineering C*. 2017. 74; 568-581.
11. Kristína Lépesová, Petra Olejníková, Tomáš Mackul'ak, Klára Cverenkárová, Monika Krahulcová & Lucia Bírošová. Hospital wastewater—important Source of multidrug resistant coliform bacteria with ESBL-production. *International Journal of Environmental Research and Public health*. 2020. 17(21); 7827.
12. Neil Woodford, Jane F. Turton & David M. Livermore. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011. 35(5), 736-55
13. Eric Mühlberg, Florian Umstätter, Christian Kleist, Cornelius Domhan, Walter Mier, & Philipp Uhl. Renaissance of vancomycin: approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 2020. 66(1); 11-16.
14. E. E. Savitskaya, O. S. Musharova, & K. V. Severinov. Diversity of CRISPR-Cas-mediated mechanisms of adaptative immunity in prokaryotes and their application in biotechnology. *Biochemistry*. 2016. 81(7); 653-61
15. Ministerio de Sanidad. Orden SND/399/2020, de 9 de mayo, para la flexibilización de determinadas restricciones de ámbito nacional, establecidas tras la declaración del estado de alarma en aplicación de la fase 1 del Plan para la transición hacia una nueva normalidad. <https://www.boe.es/boe/dias/2020/05/09/pdfs/BOE-A-2020-4911.pdf>.