

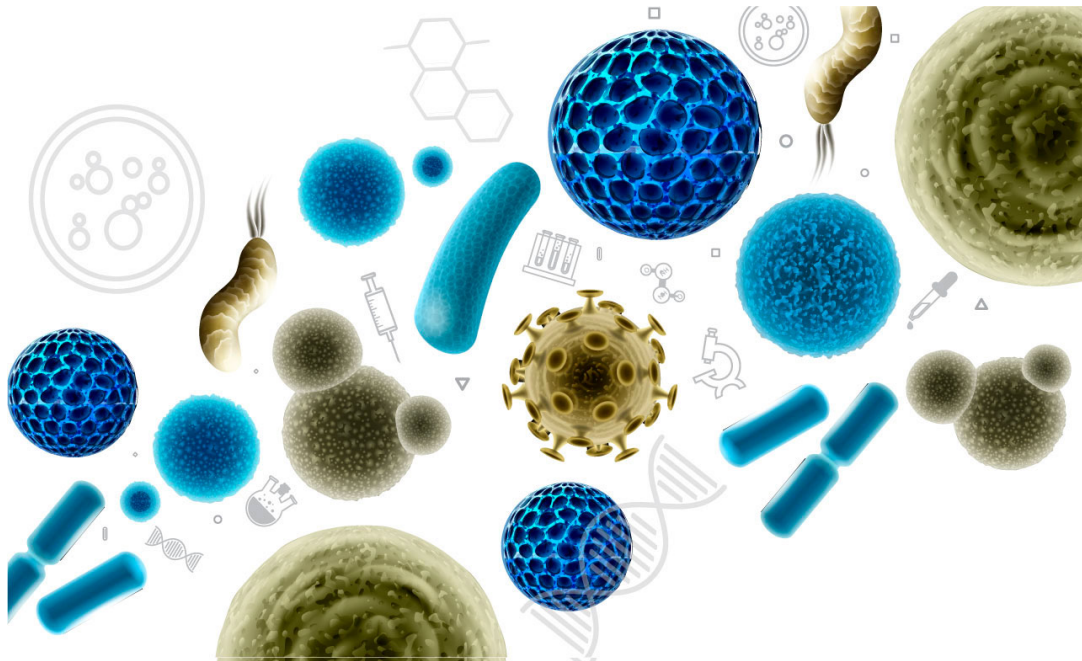


Universidad de Sevilla



Facultad de Farmacia

MICROORGANISMOS ESKAPE: EL PRÓXIMO RETO MICROBIOLÓGICO



Trabajo Fin de Grado

Francisco Javier Alvero Roldán



Universidad de Sevilla
Facultad de Farmacia
Grado en Farmacia

“Microorganismos ESKAPE: El próximo reto microbiológico”

Trabajo Fin de Grado
Revisión bibliográfica

Francisco Javier Alvero Roldán
Tutora: Eloísa Pajuelo Domínguez
Departamento de Microbiología y Parasitología

Sevilla, junio de 2022

**PAJUELO
DOMINGUEZ
ELOISA -
27298094S**

Firmado digitalmente
por PAJUELO
DOMINGUEZ ELOISA -
27298094S
Fecha: 2022.06.15
09:31:05 +02'00'

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
PALABRAS CLAVE.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2-4
2. OBJETIVOS.....	5
3. METODOLOGÍA.....	5
4. RESULTADOS.....	6-34
4.1. MICROORGANISMOS ESKAPE: FACTORES DE VIRULENCIA.....	6-13
4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS.....	14-24
4.3. DESARROLLO DE TERAPIAS ALTERNATIVAS A ANTIBIÓTICOS..	24-35
4.3.1. TERAPIA DE FAGOS.....	24-28
4.3.2. PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS.....	28-31
4.3.3. NANOPARTÍCULAS.....	31-33
4.3.4. COMPARATIVA.....	34
5. CONCLUSIONES.....	35
6. BIBLIOGRAFÍA.....	35-38

RESUMEN

El descubrimiento y la aplicación en la práctica clínica de los antibióticos supuso una auténtica revolución, al hacer posible el tratamiento de las infecciones bacterianas que hasta el momento causaban elevadas cifras de morbilidad y mortalidad. Sin embargo, con el paso del tiempo se descubrió que las bacterias eran capaces de desarrollar resistencia a ellos, debido principalmente al mal uso de los mismos por parte de todos los sectores de la sociedad, lo que las hace inmune al efecto de estos compuestos.

De entre todas las bacterias, las que presentan una mayor problemática son las que integran el grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus* spp.), debido a que han ido desarrollando multirresistencia a la mayoría de los antibióticos en uso clínico hoy en día, lo que causa que las infecciones provocadas por las mismas sean muy complicadas de tratar, especialmente en el ámbito hospitalario, donde afectan principalmente a aquellos pacientes más vulnerables.

Existen una gran variedad de mecanismos por los que las bacterias pueden adquirir la citada resistencia, como la destrucción de las moléculas de antibiótico, pasando por alteraciones en la síntesis de la pared celular o la expulsión de los antibióticos de la célula. Entender dichos mecanismos puede ayudarnos a desarrollar estrategias para intentar paliar el efecto de dichas modificaciones.

De este modo, existen una serie de alternativas que se encuentran ya en práctica o bien en la etapa de ensayos clínicos, con el propósito de reemplazar a los antibióticos convencionales en aquellas situaciones en las que ya resultan ineficaces, como la fagoterapia, el uso de péptidos antimicrobianos y las nanopartículas, entre otros, que serán descritos con mayor profundidad a lo largo del trabajo.

PALABRAS CLAVE: bacterias, ESKAPE, multirresistencia, antibióticos, alternativas.

1. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos han influenciado de manera muy notable la vida en nuestro planeta desde su introducción en la práctica clínica en la década de 1930 (Pendleton et al., 2013). El desarrollo de las terapias antimicrobianas correspondió en primera instancia a Paul Ehrlich, al desarrollar el salvarsán, un profármaco sintético basado en arsénico empleado para el tratamiento de la sífilis. El trabajo de Ehrlich fue continuado por otros científicos, como Gerhard Domagk, sin embargo, el acontecimiento que realmente marcó el inicio de la era de los antibióticos fue el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928 (Hutchings et al., 2019).

El descubrimiento de la penicilina y de los primeros antibióticos condujo a Selman Waksman a empezar un estudio sistemático de microorganismos productores de compuestos antimicrobianos a finales de la década de 1930, lo que permitió aislar numerosos compuestos activos frente a microorganismos (Hutchings et al., 2019).

Durante los últimos 80 años, los antibióticos han hecho posibles enormes avances en la medicina moderna y han revolucionado la práctica de muchas actividades. Sin embargo, el desarrollo de los viajes y del comercio a escala internacional ha contribuido a la rápida diseminación de la resistencia antimicrobiana (RAM) (Pendleton et al., 2013).

Los antibióticos han sido usados de manera incorrecta en todos los ámbitos donde se han aplicado: desde su uso por parte de los médicos -a través de prescripciones innecesarias, indiscriminadas o incorrectas- y de los pacientes -a través de la toma de dosis incorrectas o mediante una duración de tratamiento inadecuada- hasta en la agricultura y ganadería, para el tratamiento de enfermedades o para promover el crecimiento. Estas acciones no solo han provocado la aparición de microorganismos resistentes, sino que además han proporcionado ambientes óptimos para la dispersión y la adquisición de factores de resistencia (Pendleton et al., 2013).

En la Figura 1 se puede observar cuál ha sido la evolución de la resistencia antimicrobiana:

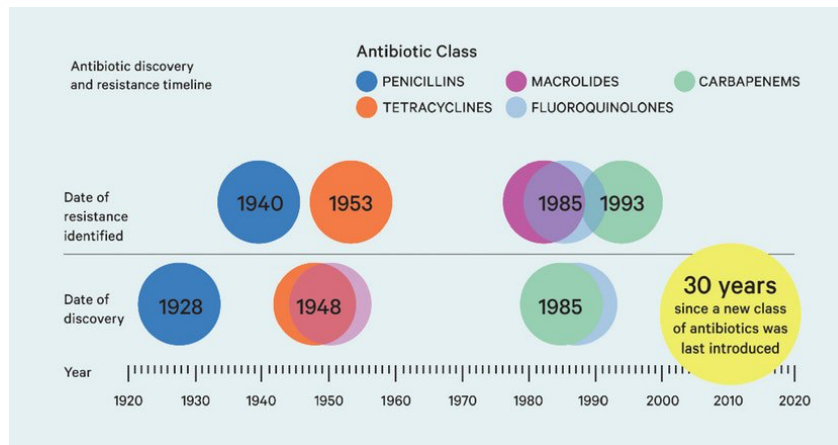


Figura 1. Evolución de la resistencia antimicrobiana. Figura obtenida de Matthew Edwards y Nicola Oliver. Tomada de <https://www.theactuary.com/features/2016/06/2016/05/25/new-arms-race-against-bacteria>

Asimismo, la aparición de bacterias multirresistentes a antibióticos (bacterias resistentes a más de tres grupos de antibióticos) se ha producido de manera conjunta a un menor ritmo de desarrollo de estos medicamentos (de Oliveira et al., 2020). De este modo, desde la década de 1990 se ha producido una ralentización en el desarrollo y comercialización de nuevos antibióticos; y entre 2017 y 2019, únicamente 11 nuevas terapias antimicrobianas fueron aprobadas por la agencia estadounidense FDA (Food and Drug Administration), de las cuales 4 recibieron la aprobación igualmente de la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Hoy en día son necesarias de manera urgente iniciativas globales para desarrollar nuevas terapias antibacterianas o bien terapias alternativas complementarias (de Oliveira et al., 2020).

Sin embargo, actualmente las compañías farmacéuticas no consideran algo prioritario el I+D de nuevos antibióticos, reduciendo los fondos destinados a ello por varias razones, como su elevado coste, la elevada cantidad de tiempo que requerirían los ensayos clínicos, y todo ello sin garantías de que el producto vaya a ser aprobado y sin la seguridad de que no se vayan a desarrollar resistencias al mismo (Pendleton et al., 2013).

Actualmente, no hay un sistema internacional de vigilancia de infecciones causadas por microorganismos resistentes, pero algunos informes estiman que cada año en Europa se producen más de 33.000 muertes y la pérdida de 874.000 años de vida ajustados por discapacidad debido a las infecciones producidas por microorganismos resistentes contraídas tanto en los hospitales como en la comunidad, suponiendo unos 1.500 millones de dólares en

costes directos e indirectos. En los países en vías de desarrollo, donde las estimaciones de pérdidas económicas no están disponibles, las enfermedades contagiosas siguen siendo la principal causa de muerte, algo que en los últimos tiempos se ha visto aumentado por las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes (de Oliveira et al., 2020).

Si la tendencia continúa como en la actualidad, se estima que en el año 2050 morirán alrededor de 10 millones de personas debido a infecciones producidas por bacterias multirresistentes a antibióticos, un número similar al de todas las muertes causadas por todas las enfermedades hoy en día (Figura 2) (Ma et al., 2020). En comparación, desde el inicio de la pandemia de SARS-CoV-2 hasta febrero de 2022 se han producido 5.770.023 muertes debido a dicho virus. (OMS, 2022).

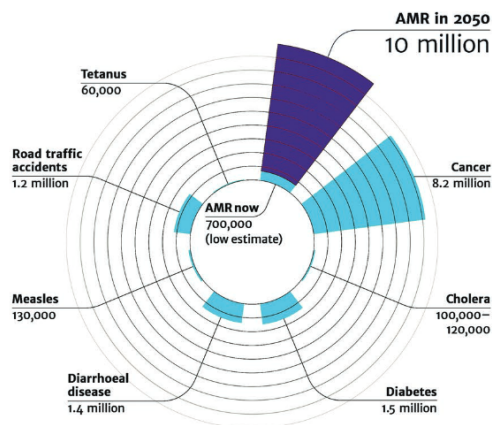


Figura 2. Comparación de muertes por las principales causas en la actualidad y estimación de muertes por bacterias resistentes a antibióticos en el año 2050 (Ma et al., 2020).

De entre todas las bacterias causantes de estas infecciones destacan las que integran el grupo “ESKAPE”, acrónimo que engloba a seis bacterias causantes de la mayoría de las infecciones nosocomiales y cuyo tratamiento es cada vez más complicado debido a su multirresistencia a la mayoría de los antibióticos conocidos. En este sentido, este Trabajo de Fin de Grado pretende hacer una revisión bibliográfica actualizada del problema de la resistencia a antibióticos y las posibles soluciones que se están desarrollando.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado es poner de manifiesto la creciente relevancia clínica de las bacterias ESKAPE y la amenaza que suponen y hacer una revisión de las posibles alternativas que se están abordando.

Para alcanzar dicho objetivo vamos a:

- Conocer el problema que supone a nivel global la resistencia a antibióticos, las causas que la originan y el reto que suponen a la sociedad actual y futura.
- Describir las características más relevantes de las bacterias ESKAPE, así como la incidencia y la mortalidad que causan dichos microorganismos.
- Conocer las distintas alternativas que existen o se están desarrollando como alternativas a la resistencia a los antibióticos.

3. METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos previamente mencionados, se ha realizado una búsqueda exhaustiva de información tanto en páginas web como en las bases de datos PubMed y Science Direct, en la que se han analizado aquellos artículos publicados en inglés entre los años 2012 y 2022 en busca de información relevante.

Del mismo modo, para obtener información acerca de algunos aspectos básicos se ha recurrido a libros de texto acerca de la materia.

Al navegar por las bases de datos, se han usado palabras clave en inglés como ESKAPE bacteria, antibiotic resistance, antimicrobial resistance, así como los nombres de cada una de las bacterias que integran el grupo ESKAPE para recabar información de cada una de ellas y, del mismo modo, el nombre de cada una de las alternativas al uso de antibióticos descritas en el trabajo.

De entre todos los artículos obtenidos se han priorizado dos criterios:

- a) preferentemente que se trate de artículos en inglés y de revistas de elevado impacto internacional, si bien también se han utilizado algunas revisiones en español; y b) preferentemente de los últimos 10 años, si bien se han incluido algunos artículos significativos anteriores y otros de especial relevancia histórica.

Por último, los artículos seleccionados han sido almacenados en la base de datos Mendeley, que se ha utilizado igualmente como gestor bibliográfico a la hora de insertar la bibliografía en el trabajo.

4. RESULTADOS

4.1. MICROORGANISMOS ESKAPE: FACTORES DE VIRULENCIA

El acrónimo ESKAPE engloba a seis bacterias (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.), que son las responsables de la mayoría de las infecciones nosocomiales y tienen la habilidad de “escapar” la acción bactericida de los agentes antimicrobianos (Mulani et al., 2019).

Vamos a pasar a ver las características principales de cada una de ellas:

- ***Enterococcus faecium***: se trata de un coco Gram positivo, que constituye un patógeno oportunista capaz de causar una serie de infecciones nosocomiales asociadas a elevadas tasas de mortalidad. Los enterococos son resistentes de manera intrínseca a varias clases de antibióticos, y a lo largo de las últimas décadas ha habido un aumento significativo en las tasas de resistencia antimicrobiana adquirida en *E. faecium*, principalmente con *E. faecium* resistente a la vancomicina (VRE, por sus siglas en inglés) (Gorrie et al., 2019).

Esta expansión genómica ha incluido acumulación de genes que confieren resistencia a varias clases de antibióticos, incluyendo β -lactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y glucopéptidos. Las investigaciones se han centrado sobre todo en la transmisión de los genes de resistencia a la vancomicina, debido a la importancia clínica de las infecciones por VRE (Gao et al., 2018).

A continuación se detallan algunos de los principales factores de virulencia de esta especie bacteriana:

- **Factores de virulencia excretados**: existen varios ejemplos, como la proteína Cyl, que es una citolisina-hemolisina que daña la membrana de la célula huésped y facilita la infección. Por otra parte, la gelatinasa es una proteasa que hidroliza gelatina, colágeno y otros péptidos pequeños, y se ha demostrado que inhibe las respuestas inmunes mediadas por el sistema del complemento. Por último, la proteína SagA constituye uno de los principales antígenos de esta especie bacteriana, ya que resulta crítica para el crecimiento celular, la activación por estrés y puede que juegue un papel importante en la regulación del metabolismo de la pared celular (Gao et al., 2018).

- **Determinantes en la superficie celular**: encontramos a los polisacáridos, importantes componentes de la superficie celular de bacterias Gram positivas que tienen un papel crucial

en la patogénesis, mediando la evasión de la fagocitosis por los neutrófilos polimorfonucleares y estimulando la producción de citoquinas. Por otra parte, *E. faecium* también posee el antígeno polisacárido enterococal (Epa), que igualmente juega un papel importante en su patogénesis, ya que se ha demostrado que alteraciones en los genes que lo codifican disminuyen la formación de biofilm y aumentan la susceptibilidad a la eliminación mediante neutrófilos polimorfonucleares (Arias y Murray, 2012).

- ***Staphylococcus aureus***: esta bacteria se trata de un coco Gram positivo que forma parte de la microbiota comensal humana (Lee et al., 2018) y se trata de uno de los patógenos más extendidos por el mundo, causando una variedad de enfermedades como neumonía, infecciones quirúrgicas y cardiovasculares, o bacteriemia nosocomial. Otras infecciones producidas por esta bacteria, como infecciones cutáneas moderadamente severas, no son normalmente mortales, pero pueden ir acompañadas de una morbilidad y un dolor asociados significativo (Cheung et al., 2021).

Con el tiempo, algunos clones de *S. aureus* evolucionaron hacia *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA, por sus siglas en inglés). En los años siguientes, el MRSA fue responsable de brotes hospitalarios en muchas partes del mundo (HA-MRSA, por sus siglas en inglés), para pasar al cabo de un tiempo a presentarse igualmente en individuos sanos sin contacto previo con el sistema sanitario (CA-MRSA, por sus siglas en inglés) (Lee et al., 2018).

Dichos ejemplares de MRSA se desarrollaron mediante transmisión horizontal de genes o por la adquisición del cassette cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*), un elemento genético móvil que confiere resistencia a la meticilina así como a la mayoría de los antibióticos β -lactámicos. El MRSA es normalmente resistente también a otras clases de antibióticos, ya que tiene la habilidad de adquirir resistencia a cualquier tipo de antibiótico, lo que tiene implicaciones importantes para las opciones de tratamiento tanto actuales como futuras (Lee et al., 2018).

Algunos de los principales factores de virulencia de *S. aureus* son:

- **Inhibición de la extravasación, activación y quimiotaxis de los neutrófilos**: para poder llegar al lugar de la infección, los neutrófilos necesitan seguir un proceso complejo que involucra adhesión al endotelio, diapédesis y activación y migración hacia el patógeno mediante quimiotaxis. Dicha activación sucede a través de citoquinas específicas, mientras que la quimiotaxis se da a través de sustancias que pueden ser derivadas del hospedador o

producidos por la bacteria. En *S. aureus*, dichas sustancias activadoras incluyen al peptidoglicano o péptidos formilados (Cheung et al., 2021).

S. aureus inhibe estos procesos mediante una variedad de mecanismos. Por ejemplo, la proteína estafilocócica similar a superantígeno 5, que se une al ligando 1 de la glicoproteína P-selectin (PSGL-1, por sus siglas en inglés) en la superficie del leucocito, inhibe la extravasación evitando la adhesión de los neutrófilos mediante PSGL-1 al punto de anclaje de dichas proteínas a las células endoteliales (Cheung et al., 2021).

▪ **Toxinas:** las toxinas producidas por *S. aureus* son uno de los factores que explican su capacidad para evadir la respuesta inmune del hospedador y causar la gran variedad de enfermedades que pueden provocar. Estas toxinas son secretadas a la matriz extracelular y normalmente están involucradas en la penetración tisular. Asimismo, ayudan al crecimiento bacteriano adquiriendo nutrientes esenciales, como el hierro, de células lisadas. De entre las diversas toxinas producidas por esta especie bacteriana, destacan la hemolisina (es un microorganismo beta-hemolítico) y la enterotoxina (Kong et al., 2016).

• ***Klebsiella pneumoniae*:** Esta bacteria se trata de un bacilo Gram negativo que es el causante de varios tipos de infecciones en humanos, incluyendo infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario y bacteriemia (Martin y Bachman, 2018). Antes de la era de los antibióticos, este patógeno se trataba de uno de los principales productores de neumonía a nivel de la comunidad. Posteriormente, con la introducción de los antibióticos, se convirtió en una de las principales bacterias causantes de infecciones a nivel hospitalario, sobre todo de neumonía asociada a respiradores y de neumonía adquirida en unidades de cuidados intensivos (Wang et al., 2020).

La mayoría del genoma de *K. pneumoniae* está conformado por genes accesorios, por lo que dependiendo de los mismos, las cepas de *K. pneumoniae* se dividen en dos tipos (Wang et al., 2020):

-*K. pneumoniae* hipervirulenta (hvKP, por sus siglas en inglés): normalmente se tratan de cepas hipermucoviscosas y se caracterizan clínicamente por su habilidad para causar infecciones en la comunidad invasivas y que pueden resultar mortales, como endoftalmias y abscesos hepáticos, en individuos sanos. Afortunadamente, la mayoría de ellas mantienen susceptibilidad a los antibióticos más frecuentemente usados (Tang et al., 2020).

-*K. pneumoniae* "clásica" (cKP, por sus siglas en inglés): generalmente se comporta como un patógeno oportunista y avirulento, causando infecciones nosocomiales en pacientes

hospitalizados. Sin embargo, son propensas a adquirir múltiples determinantes de resistencia, como β -lactamasas de espectro extendido (ESBL, por sus siglas en inglés) y/o carbapenemasas, siendo estas cepas multirresistentes a antibióticos más difíciles de tratar (Tang et al., 2020).

Los principales factores de virulencia de este patógeno incluyen:

- **Sideróforos:** los sideróforos son moléculas quelantes de hierro secretadas por varias bacterias, entre ellas *K. pneumoniae*, para ayudar en la adquisición de dicho metal. Inicialmente, estos compuestos estaban codificados en el genoma central de la bacteria, pero como el sistema inmune innato encontró maneras de unirse a ellos, estos organismos desarrollaron otros sideróforos codificados en el genoma accesorio. Además de proporcionar hierro, la secreción de sideróforos por parte de *K. pneumoniae* también induce inflamación y diseminación bacteriana (Martin y Bachman, 2018).

- **Fimbrias:** un paso crítico de las bacterias en la progresión de la infección es la adherencia a las superficies de su hospedador. En *K. pneumoniae* esto es conseguido usando fimbrias, estructuras filamentosas que se localizan en la superficie de la bacteria. Esta bacteria posee dos tipos de fimbrias: el tipo 1, que contribuye a la virulencia mediante su habilidad para adherirse a superficies mucosas o epiteliales, y el tipo 3, que contribuye en mayor medida a la formación del biofilm. Además, ambos tipos de fimbrias juegan un papel importante en la colonización de catéteres urinarios, lo que puede llevar a ITUs (Martin y Bachman, 2018).

- ***Acinetobacter baumannii*:** esta bacteria se trata de un cocobacilo Gram negativo que causa una variedad de infecciones nosocomiales en diversas localizaciones; más comúnmente se manifiesta en forma de neumonía asociada a respiradores o bacteriemia asociadas a catéteres centrales. Infecciones producidas por esta bacteria en la comunidad también han sido descritas, aunque hasta el momento sólo las han presentado pacientes que poseían comorbilidades, como alcoholismo, diabetes mellitus, cáncer o enfermedades obstructivas pulmonares (Harding et al., 2018).

Como factores de virulencia encontramos:

- **Resistencia a la desecación y a la desinfección:** la resistencia a la desecación y la persistencia en ambientes secos puede permitir a *A. baumannii* sobrevivir hasta 100 días en estas condiciones desfavorables. Esta supervivencia se debe a los polisacáridos que forman la cápsula, que rodean a toda la célula y la protegen del ambiente. Del mismo modo, la resistencia a la desecación se ha asociado a la composición de la membrana externa, ya que

una cepa mutante de esta bacteria con lipooligosacáridos químicamente alterados resultó ser inestable en ambientes secos, sugiriendo que un aumento en la fluidez de la membrana externa permite que el agua y los nutrientes hidrosolubles escapen de la célula (Moubareck y Halat, 2020).

Esta bacteria es capaz igualmente de expulsar la clorhexidina fuera de la célula, lo que es posible mediante la proteína de eflujo de clorhexidina de *Acinetobacter* (Acel) (Moubareck y Halat, 2020).

- **Vesículas de membrana externa:** las vesículas de membrana externa (OMV, por sus siglas en inglés), son vesículas esféricas secretadas por diversas bacterias Gram negativas, entre ellas *A. baumannii*, que actúan transportando factores de virulencia al interior de las células del hospedador, permitiendo que este patógeno interactúe con el mismo sin necesidad de un contacto estrecho entre ambos. Muchas cepas de *A. baumannii* secretan estas vesículas, conteniendo diversos factores de virulencia, como la porina OmpA, proteasas o fosfolipasas (Lee et al., 2017).

- ***Pseudomonas aeruginosa:*** esta bacteria se trata de un bacilo Gram negativo que constituye un patógeno oportunista, al afectar sobre todo a pacientes hospitalizados. De este modo, causa, entre otras, neumonía asociada a respiradores, infecciones gastrointestinales, urinarias o de tejidos blandos, bacteriemia y otra serie de infecciones especialmente en pacientes con quemaduras severas o en aquellos inmunocomprometidos como los que padecen cáncer o SIDA. Igualmente, también es capaz de colonizar equipamiento médico, como equipos de diálisis o de anestesia, así como servicios y lavabos, lo que facilita su transmisión (Azam y Khan, 2019).

Esta bacteria ha ido desarrollando resistencia a los antibióticos, haciendo difícil su tratamiento y limitando las opciones terapéuticas disponibles, ya que algunas de las cepas de *P. aeruginosa* son resistentes a la mayoría de los últimos antibióticos disponibles, como los carbapenemes o las cefalosporinas de tercera generación. (Azam y Khan, 2019).

Algunos de los factores de virulencia que presenta esta bacteria incluyen:

- **Movilidad:** en las bacterias, la movilidad juega un papel fundamental en la colonización de superficies, así como en su desplazamiento por las mismas, y también contribuye a la formación de biofilm. En el caso de *P. aeruginosa*, la movilidad es producida por el único flagelo que poseen y por las fimbrias. Los movimientos de desplazamiento por superficies sólidas y por el agua son llevados a cabo mediante rotaciones del flagelo, mientras que el

movimiento a sacudidas es llevado a cabo mediante las fimbrias de la superficie (de Sousa et al., 2021).

▪ **Formación de biofilm:** los biofilms son comunidades de microorganismos que viven adheridas a ciertas superficies que están normalmente cubiertas por una matriz extracelular secretada por los mismos. Dicha matriz está compuesta de exopolisacáridos, ADN extracelular, ARN, proteínas y lípidos, y protege al biofilm de condiciones ambientales desfavorables; de este modo, estas bacterias son normalmente más resistentes a los desinfectantes y a los antibióticos que las bacterias en estado libre (Lee y Yoon, 2017). La formación del biofilm consta de las siguientes etapas:

-**Anclaje del biofilm:** es llevado a cabo por una serie de estructuras bacterianas como adhesinas y fimbrias, que están reguladas por cambios en señales ambientales (Lee y Yoon, 2017).

-**Maduración del biofilm:** después de que las bacterias se adhieran a la superficie y unas a otras, llevan a cabo una serie de cambios para adaptarse al nuevo modo de vida. A medida que el biofilm madura, las bacterias sufren cambios fisiológicos y se vuelven mucho más resistentes al estrés ambiental y a la acción de los antibióticos (Lee y Yoon, 2017).

-**Desprendimiento del biofilm:** el último paso en el desarrollo del biofilm es el desprendimiento del mismo, a través de los mecanismos de desprendimiento, erosión o dispersión, que son esenciales para crear nuevos biofilms en otros nichos (Lee y Yoon, 2017).

• ***Enterobacter spp.:*** El género *Enterobacter* engloba a 22 especies bacterianas que son bacilos Gram negativos y que han sido descritas como patógenos oportunistas. De entre todas ellas, las que causan infecciones nosocomiales con mayor frecuencia son *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. hormaechei*, especialmente en las UCIs, donde afectan a los pacientes más vulnerables como neonatos, quemados, o aquellos que están siguiendo un tratamiento inmunosupresor. Del mismo modo, los procedimientos invasivos, como la introducción de catéteres representan igualmente una fuente de infección. Estas bacterias están involucradas en un diverso número de infecciones, como abscesos cerebrales, neumonía, septicemia e infecciones de la cavidad abdominal (Davin-Regli et al., 2019).

A pesar de la importancia clínica que tienen, hasta el momento no se han dilucidado los factores de virulencia de estas bacterias. Los mecanismos patogénicos posibles son complejos y multifactoriales, con la participación de un número de factores de virulencia, cuyo papel en el desarrollo de la enfermedad aún no está esclarecido (Mezzatesta et al., 2012).

En varias bacterias Gram negativas, el sistema de secreción tipo III (TTSS, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser un factor importante que juega un papel crucial en las interacciones patógeno-hospedador. Dicho sistema consiste en varias proteínas unidas que transportan toxinas directamente a las células del hospedador. Por eso, la presencia de TTSS puede ser usada como un indicador general de virulencia bacteriana (Mezzatesta et al., 2012).

En un estudio se demostró que los genes TTSS estaban presentes en 27% de los especímenes de *E. cloacae* aislados de muestras clínicas, por lo que dicho estudio demostró que las enterotoxinas citotóxicas y el TTSS podrían contribuir a la patogénesis de *E. cloacae* (Mezzatesta et al., 2012)

En España, la resistencia a los microorganismos ESKAPE ha ido aumentando a lo largo del tiempo:

En el caso de *E. faecium*, en el período 2005-2017 la resistencia a la ampicilina aumentó del 49,2% al 83,7%, mientras que la resistencia a los aminoglucósidos aumentó del 12,5% al 32,3%. Por otra parte, la resistencia a la vancomicina se mantuvo en niveles bajos (2,4%). En *S. aureus*, la resistencia a la meticilina disminuyó ligeramente en el mismo período, de un 29,4% a un 25,3% (Sánchez-López y Cantón, 2019).

En *Acinetobacter* spp., la resistencia a carbapenemes y aminoglucósidos ha disminuido (68,2% y 56,8%, respectivamente), y también el porcentaje de ejemplares multirresistentes a antibióticos (51,1%). En *P. aeruginosa*, se observaron mayores niveles de resistencia a piperacilina-tazobactam (8,2%), ceftazidima (14,6%), carbapenemes (20,7%), aminoglucósidos (19,3%), fluroquinolonas (23,9%) y un mayor número de ejemplares multirresistentes a antibióticos (10,9%) (Sánchez-López y Cantón, 2019).

En el caso de enterobacterias, tanto en *E. coli* como en *K. pneumoniae* se produjo un aumento de la resistencia: la resistencia a cefalosporinas de tercera generación se incrementó tanto en *E. coli* (1% a 13,1%), como en *K. pneumoniae* (7,1% a 21,7%). Esta tendencia ascendente también se observó en la resistencia a aminoglucósidos, fluoroquinolonas y carbapenemes. De este modo, el porcentaje de ejemplares multirresistentes a antibióticos ascendió en *E. coli* al 5,5% y en *K. pneumoniae* al 13% (Sánchez-López y Cantón, 2019).

En la siguiente tabla se detallan cuáles son las principales características de dichas bacterias:

Especie	Gram (+) o Gram (-)	Resistencias	Manifestaciones clínicas	Tasas de mortalidad	Tratamientos
<i>Enterococcus</i> resistentes a la vancomicina (<i>Enterococcus faecium</i> y <i>E. faecalis</i>).	Gram (+)	Vancomicina, ampicilina, linezolid, teicoplanina, piperacilina y cefalosporinas	ITU asociadas a catéter, bacteriemia asociada a catéter vascular, infecciones intraabdominales y pélvicas y endocarditis	Más del 30% para bacteriemia; 2,5 veces superior a la mortalidad causada por bacteriemias producidas por bacterias resistentes a la vancomicina	Nitrofurantoína, fosfomicina, linezolid, daptomicina, cloranfenicol, doxiciclina, dosis altas de ampicilina y sulbactam y omadaciclina.
<i>S. aureus</i> resistente a la meticilina	Gram (+)	Aminoglucósidos, β-lactámicos, cloranfenicol, trimetoprim, macrólidos, tetraciclinas y fluoroquinolonas	Infecciones agudas de las estructuras cutáneas, bacteriemia, neumonía, infección osteoarticular y endocarditis	Superior al 20% para infecciones del torrente sanguíneo, la mortalidad general oscila entre el 15-50%.	Vancomicina, clindamicina, daptomicina, linezolid, tedizolid, dalvabancina, tigeciclina, trimetoprim y sulfometoxazol, pristinamicina, omadaciclina y lefamulina.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram (-)	Polimixinas, carbapenemes, fluoroquinolonas, cefalosporinas de 3ª generación, aminoglucósidos y tetraciclinas	Neumonía, abscesos hepáticos piogénicos, infecciones de tejidos blandos necrotizantes, bacteriemias, meningitis y endoftalmitis	40-70% para infecciones del torrente sanguíneo producidas por <i>K. pneumoniae</i> resistentes a carbapenemes, 40% para las infecciones pulmonares y 25-47% para las infecciones de tejidos blandos necrotizantes	Aminoglucósidos, terapia de combinación de polimixinas, tigeciclina, meropenem, meropenem-vaborbactam, ertapenem y meropenem, imipenem-cilastatina-relebactam, ceftazidima-avibactam, plazomicina, eravaciclina.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Gram (-)	Carbapenemes, polimixinas, β-lactámicos, tigeciclina, ceftazidima y cefalosporinas de 4ª generación.	Neumonía asociada a respiradores artificiales, infecciones del torrente sanguíneo por catéteres centrales, meningitis nosocomiales, infecciones de la piel y de los tejidos blandos, ITU asociada a catéteres	35% para las neumonías asociadas a respiradores y para las infecciones del torrente sanguíneo	Colistina, tigeciclina, cefiderocol y eravaciclina.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram (-)	Cefalosporinas de 1ª y 2ª generación, piperacilina-tazobactam, aminoglucósidos, quinolonas, carbapenemes y polimixinas.	ITU, infecciones del torrente sanguíneo, neumonía asociada a respiradores, infecciones respiratorias crónicas, infecciones de la piel y tejidos blandos, endocarditis.	67% para la bacteriemia y 33,9% para las ITU.	Piperacilina-tazobactam, ceftolozano-tazobactam, ceftazidima, meropenem, ciprofloxacino, ceftazidima-avibactam, cefiderocol, imipenem-cilastatina-relebactam.
<i>Enterobacter</i> spp.	Gram (-)	Carbapenemes, cefalosporinas de 4ª generación, fluoroquinolonas, β-lactámicos y polimixinas.	ITU, infecciones del torrente sanguíneo, neumonía neonatal, infecciones de la piel y de tejidos blandos, infecciones intraabdominales, endocarditis y artritis séptica.	Supera el 40% para las bacteriemias producidas por <i>E. cloacae</i> .	Nitrofurantoína, cefepima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina, meropenem, piperacilina-tazobactam, trimetoprim con o sin sulfometoxazol, imipenem-cilastatina-relebactam.

Tabla 1. Características principales de las bacterias ESKAPE. Traducido de Oliveira et al., 2020.

4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

La resistencia a los antibióticos se trata de un fenómeno microbiológico natural. Desde los inicios de la vida en la Tierra, las bacterias debieron desarrollar mecanismos frente al ataque de otros microorganismos para establecer y defender sus nichos ecológicos. De este modo, a lo largo de miles de millones de años, estos organismos han ido desarrollando mecanismos para evitar, expulsar, destruir o resistir la acción de compuestos estructuralmente similares a los antibióticos en uso clínico hoy en día. Desde un punto de vista genético, la resistencia puede surgir de manera endógena (mediante mutaciones cromosómicas puntuales), incrementándose este tipo de mutación y la selección de cepas resistentes mediante el uso de concentraciones subterapéuticas de antibióticos, o de manera exógena, mediante la transmisión de genes de manera horizontal a través de plásmidos conjugativos o transposones, y la recombinación de ADN exógeno en el cromosoma bacteriano (Pendleton et al., 2013).

Sin embargo, este proceso natural se ha visto acelerado en los últimos años, y hoy en día tanto el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE.UU. (CDC) como la Organización Mundial de la salud (OMS) consideran a los patógenos resistentes a antibióticos como una amenaza inminente para la salud humana (de Oliveira et al., 2020).

Los factores que han provocado una mayor velocidad en la aparición de bacterias resistentes son dos: el mal uso de los antibióticos y la diseminación de los microorganismos resistentes (Pendleton et al., 2013).

Existen varios tipos de resistencias antimicrobiana: intrínseca, adquirida y adaptativa. A continuación, vamos a pasar a ver cada una de ellas:

La *resistencia intrínseca* es aquella que es inherente a las bacterias debido a sus características propias (Christaki et al., 2020). Es independiente de la exposición a antibióticos y generalmente está mediada por genes presentes en el cromosoma bacteriano. Por ejemplo, todos los ejemplares de *Klebsiella pneumoniae* son resistentes de manera intrínseca a la ampicilina y los bacilos Gram negativos son resistentes a la vancomicina. Los mecanismos de resistencia intrínseca incluyen, entre otros, falta de permeabilidad de la membrana externa, la presencia de bombas de eflujo no específicas, o una falta de las dianas sobre las que actúa el antibiótico, de modo que, aunque el antibiótico entrase en la célula, no le afectaría (Morrison and Zembower, 2020).

Algunos de dichos mecanismos vienen representados en la Figura 3:

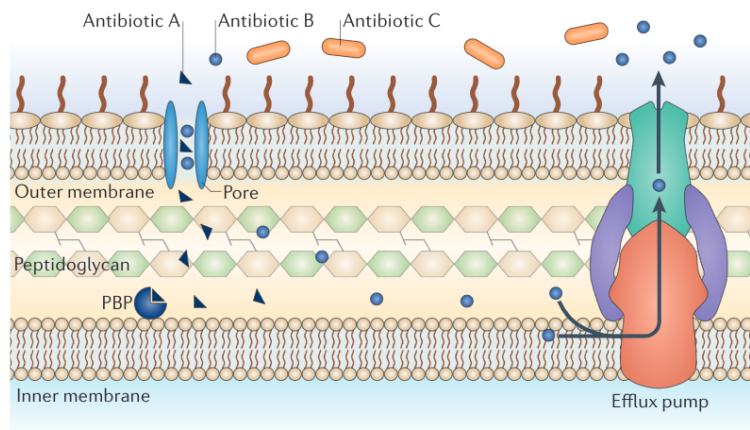


Figura 3. Esta figura muestra algunos de los mecanismos intrínsecos de resistencia. El ejemplo muestra a varios antibióticos β -lactámicos cuya diana son las proteínas de unión a la penicilina (en inglés, Penicillin Binding Proteins, PBP). El antibiótico A puede entrar en la célula a través de una porina transmembrana, llegar a su diana e inhibir la síntesis de peptidoglicano. El antibiótico B también puede entrar en la célula por la porina, sin embargo, es posteriormente expulsado por una bomba de eflujo. El antibiótico C no puede cruzar la membrana externa y por lo tanto no puede acceder a su diana terapéutica (Blair et al., 2015).

La *resistencia adquirida* es aquella que se produce cuando una bacteria que era previamente sensible a un antibiótico adquiere un mecanismo de resistencia bien por mutación o por la adquisición de material genético procedente de una fuente externa, mediante la transmisión horizontal de genes (Christaki et al., 2020). Dicha transmisión de material genético puede ocurrir por tres mecanismos principales, que vienen recogidos en la Figura 4.

-*Transformación*: en este tipo de recombinación genética fragmentos libres de ADN de una bacteria lisada entran en una bacteria receptora, que lo incorporan a su cromosoma (Figura 4-C). (Madigan et al., 2015).

-*Transducción*: este proceso consiste en la transferencia de material genético entre una bacteria donadora y una receptora mediante un bacteriófago (Figura 4-B) (Madigan et al, 2015).

-*Conjugación*: es el proceso más importante en la adquisición de resistencia bacteriana, y consiste en la transferencia de pequeños fragmentos de ADN directamente entre células bacterianas, mediante la formación de un puente citoplasmático entre la bacteria donadora y la receptora a través de una prolongación bacteriana llamada pili sexual. Estos fragmentos de ADN pueden tratarse de plásmidos o bien de elementos integrativos y conjugativos, que pueden ser integrados en el cromosoma bacteriano. Los plásmidos pueden

diseminarse rápidamente a través de comunidades bacterianas, y esto permite a las bacterias no solamente desarrollar rápidamente cambios en su material genético, sino también transmitir este material genético rápidamente. Además, en un único plásmido se encuentran frecuentemente múltiples genes de resistencia, permitiendo la transferencia de resistencia a varios antibióticos en un solo proceso de conjugación (Figura 4-A) (Madigan et al., 2015).

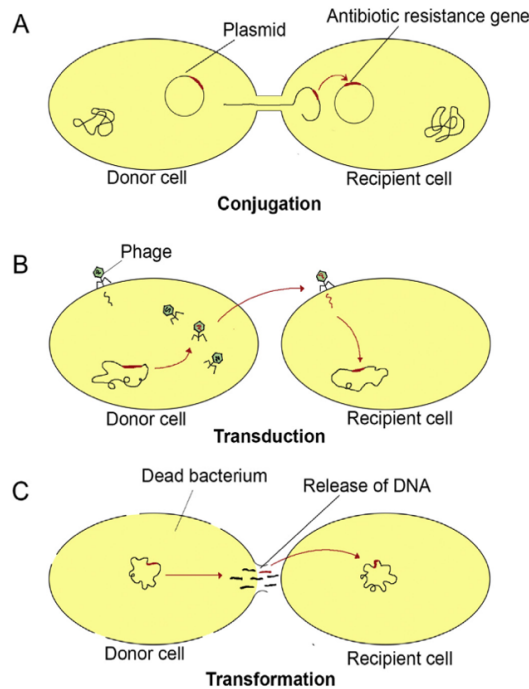


Figura 4. Mecanismos de transmisión de material genético entre bacterias (Pang et al., 2019).

La *resistencia adaptativa* se define como la resistencia a uno o más antibióticos inducida por una señal ambiental específica (p. ej., estrés, pH o niveles sub-inhibitorios de antibióticos). En contraste con la resistencia intrínseca y la adquirida, la resistencia adaptativa es transitoria, y las bacterias generalmente regresan al estado original una vez que la señal inductora desaparece (Christaki et al., 2020).

También es importante diferenciar entre bacterias resistentes y bacterias persistentes (Figura 5). Si una bacteria es resistente a un determinado antibiótico, todas sus células hijas también lo serán. La persistencia, sin embargo, describe a las células bacterianas que no son susceptibles al antibiótico en cuestión pero que no poseen genes de resistencia. Esta persistencia se produce porque algunas células en una población bacteriana pueden estar en la fase de crecimiento estacionario, y la mayoría de los agentes antimicrobianos no afectan a las células que no están creciendo y dividiéndose activamente (Zohra et al., 2021).

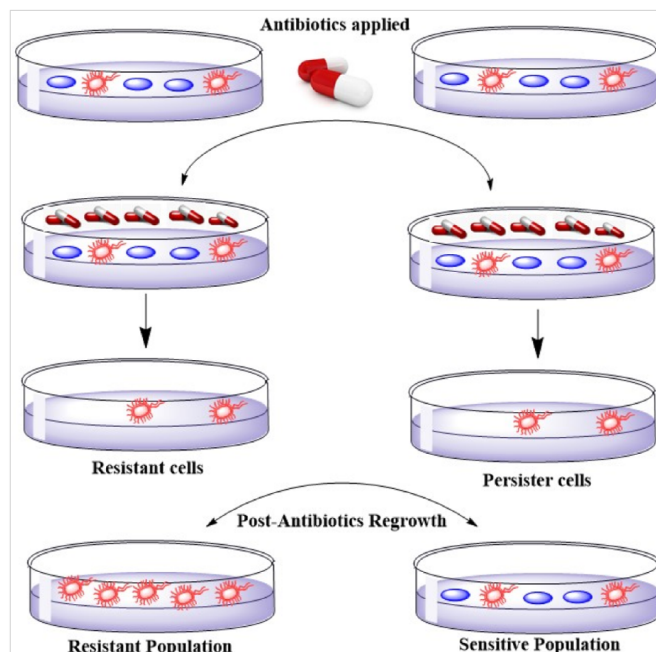


Figura 5. Comparación de la resistencia y la persistencia en una población bacteriana (Zohra et al., 2021).

Aparte de conocer los principios genéticos básicos de la resistencia, es de gran importancia entender los mecanismos de resistencia específicos si se pretenden buscar estrategias terapéuticas efectivas. Los más relevantes son:

- **Destrucción de los antibióticos:** existen una serie de enzimas que son capaces de romper la molécula de antibiótico y hacerla inefectiva. Estas enzimas pueden encontrarse codificadas en cromosomas o más frecuentemente, en plásmidos o transposones, lo que facilita su transmisión entre bacterias (Christaki et al., 2020). Las que presentan una mayor relevancia son las β -lactamasas, que destruyen a los antibióticos β -lactámicos. Los cientos de β -lactamasas que existen actualmente se clasifican según su estructura, como fue propuesto por Ambler (1980). Esta clasificación divide a las β -lactamasas en 4 grupos (A-D). Los grupos A, C y D tienen todos serina en su centro activo, mientras que la clase B, conocidas como metalo- β -lactamasas, tienen zinc en su centro activo (Morrison and Zembower, 2020).

Desde que se descubrió la primera β -lactamasa, la introducción de nuevos β -lactámicos ha ido seguida de la identificación de nuevas β -lactamasas capaces de destruir los nuevos compuestos (Christaki et al., 2020). Vamos a ver ahora algunos ejemplos de ellas:

-Poco después de la introducción en los años 80 de los antibióticos de amplio espectro en la práctica clínica, surgieron β -lactamasas de espectro extendido (ESBL, por sus siglas en inglés), que tienen la habilidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos. Sin embargo, estas enzimas son generalmente inhibidas por ácido clavulánico o tazobactam (Munita y Arias, 2016).

-Las cefalosporinas AmpC de clase C son enzimas que generalmente se encuentran codificadas por genes presentes en el cromosoma bacteriano. En algunas ocasiones, el gen *ampC* se encuentra regulado por un mecanismo de inducción complejo, por lo que en condiciones de no inducción (en ausencia de antibióticos), un regulador transcripcional inhibe la expresión de dicho gen. Sin embargo, en presencia de β -lactámicos, deja de tener efecto la inhibición de la expresión de dicho gen (Khan et al., 2018).

-Del mismo modo, las carbapenemas confieren resistencia tanto a los carbapenemes (algo que los otros tipos de enzimas comentados anteriormente no hacen), así como a prácticamente todos los tipos de β -lactámicos hidrolizables (Christaki et al., 2020).

En la Figura 6 se puede ver cuál es el mecanismo de acción de este tipo de enzimas:

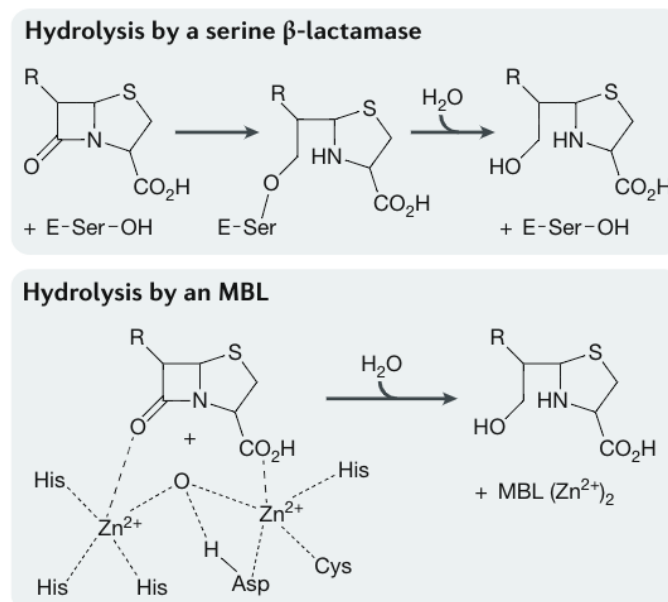


Figura 6. Mecanismo de hidrólisis general de β -lactámicos por las serina y metalo- β -lactamasas. En el caso de las serina β -lactamasas, un carboxilato cargado negativamente en la cadena lateral del anillo de azetidiona del β -lactámico es atraído al sitio activo de la β -lactamasa por residuos cargados positivamente. El antibiótico forma puentes de hidrógeno con la enzima, que es entonces acilada. Posteriormente, una molécula de agua es activada para deacilar el complejo β -lactámico- β -lactamasa, llevando a la generación de una β -lactamasa activa y de una molécula de anillo abierto, microbiológicamente inactiva (Bush y Bradford, 2019).

Las metalo- β -lactamasas requieren al menos uno, y generalmente dos iones Zn^{2+} , conectados por un ion hidróxido que facilita el ataque nucleofílico en el átomo de oxígeno carbonílico del anillo β -lactámico, llevando a la hidrólisis y a la inactivación del antibiótico. Un residuo de Zn^{2+} es mantenido en su lugar por tres residuos de histidina, mientras que si hay un segundo residuo de Zn^{2+} , posee como ligandos residuos de aspártico, cisteína y/o histidina, con la histidina también tomando parte de la reacción de hidrólisis (Bush y Bradford, 2019).

Debido a esto, a lo largo del tiempo se han ido desarrollando inhibidores de β -lactamasas, como ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, con el objetivo de impedir la acción de dichas enzimas. Estos inhibidores funcionan uniéndose al sitio activo de la enzima, impidiendo por tanto la unión y la hidrólisis del antibiótico (Morrison y Zembower, 2020). Algunos de ellos y su mecanismo de acción se muestran en la Figura 7.

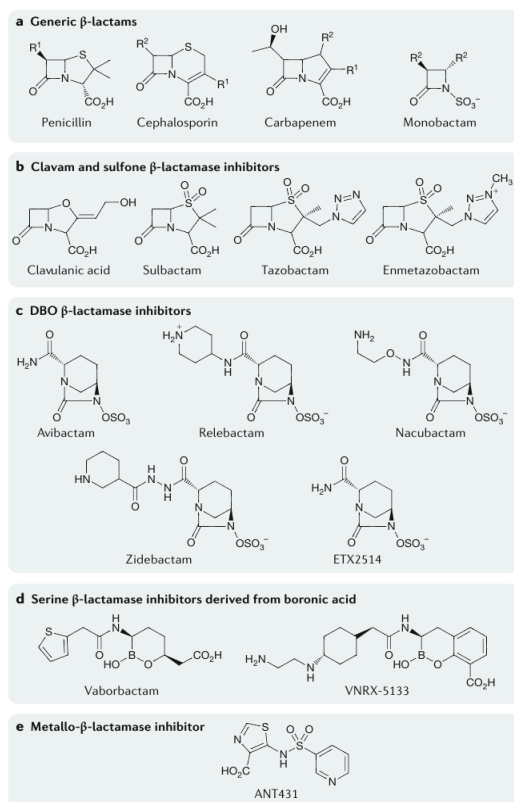


Figura 7. Estructura genérica de los antibióticos β -lactámicos y de los inhibidores de β -lactamasas (Bush and Bradford, 2019).

- **Modificación de los antibióticos:**

La adición de grupos químicos a sitios vulnerables de la molécula de antibiótico por enzimas bacterianas produce resistencia a antibióticos evitando que los mismos se unan a su proteína diana como resultado de impedimentos estéricos (Blair et al., 2015).

Los aminoglucósidos son particularmente susceptibles a modificación porque tienden a ser moléculas grandes con muchos grupos hidroxilo y amida expuestos. Existen tres clases principales de enzimas de este tipo: acetiltransferasas, fosfotransferasas y nucleotidiltransferasas (Blair et al., 2015).

- **Alteración de las enzimas modificadoras de antibióticos:**

La activación de la nitrofurantoína por las reductasas bacterianas, que conlleva la formación de compuestos intermediarios tóxicos para la bacteria, es requerida para obtener la actividad antimicrobiana de dicho antibiótico. Mutaciones en los genes de nitrorreductasa *nfsA* y *nfsB* constituyen el principal mecanismo de resistencia a la nitrofurantoína (Christaki et al., 2020).

- **Alteración de la diana terapéutica por mutación:**

Un ejemplo de este tipo es el desarrollo de resistencia a rifampicina, un antibiótico que bloquea la transcripción al inhibir la ARN polimerasa dependiente de ADN. El bolsillo de unión de dicho antibiótico es una estructura que se localiza en la subunidad β de la ARN polimerasa (codificada por el gen *rpoB*), y después de unirse, la molécula de antibiótico interrumpe la transcripción. La resistencia a rifampicina se ha demostrado que ocurre debido a mutaciones puntuales en el gen *rpoB*, lo que lleva a la síntesis de proteínas ligeramente modificadas por las que el fármaco tiene una menor afinidad (Munita y Arias, 2016)

- **Reemplazo o evitación de la diana terapéutica:**

El reemplazo de las PBP constituye el mecanismo de resistencia a los β -lactámicos en *Streptococcus pneumoniae* y de resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus*. En el caso de *S. pneumoniae* esto se produce como resultado de la alteración de los genes que codifican para dichas proteínas, producida por una recombinación de ADN nativo y ADN externo procedente de estreptococos resistentes (Christaki et al., 2020).

Por otra parte, la resistencia a meticilina en *S. aureus* se produce como consecuencia de la adquisición del gen *mecA*, localizado en un elemento genético móvil conocido como cassette cromosómico estafilocócico (SCCmec). Dicho gen codifica una PBP modificada conocida como PBP2a, que es resistente a todos los β -lactámicos y permite la síntesis de la pared celular (Blair et al., 2015).

Otro ejemplo se trata del mecanismo por el que algunas bacterias Gram positivas adquieren resistencia a los glicopéptidos, como la vancomicina. Dichos antibióticos se unen al extremo C-terminal D-ala-D-ala de los precursores del peptidoglicano y forman un complejo estable, que impiden que se genere el peptidoglicano correctamente. La resistencia a dichos antibióticos es mediada por diversos operones, que codifican enzimas que sintetizan precursores del peptidoglicano con baja afinidad por los gluco péptidos. Así, existe una enzima que sintetiza precursores que terminan en D-Ala-D-Lac, en vez de en D-Ala-D-Ala, lo que confiere una

resistencia elevada, mientras que otra enzima distinta produce precursores que terminan en D-Ala-D-Ser, lo que confiere una resistencia moderada (Khan et al., 2018).

Por último, la adquisición de genes que codifican para las enzimas dihidrofolato reductasa resistentes a trimetoprim y dihidropteroato sintetasa resistentes a sulfonamidas confieren resistencia a estos antibióticos. Así mismo, la habilidad de los enterococos de utilizar ácido fólico exógeno puede aumentar la concentración mínima inhibitoria de estos antibióticos (Christaki et al., 2020).

- **Modificación enzimática de la diana terapéutica:**

Un ejemplo es la metilación de los ribosomas catalizada por una enzima codificada por los genes *erm* (metilasas de ribosomas de eritromicina, por sus siglas en inglés), que confiere resistencia a los macrólidos. Estas enzimas son capaces de mono o dimetilar el dominio V del ARNr 23S que forma parte de la subunidad ribosómica 50S; y debido a este cambio bioquímico, la unión de la molécula de antibiótico a su diana se ve entorpecida. Como los sitios de unión de los macrólidos, las lincosamidas y la estreptogramina B al ARNr 23S se solapan, la expresión de los genes *erm* confiere resistencia cruzada a todos los miembros de estos grupos, conocido como fenotipo MLS_B (Munita y Arias, 2016).

- **Sobreproducción de la diana terapéutica:**

La producción masiva de la diana sobre la que actúa el antibiótico puede llevar a resistencia por superar la capacidad terapéutica del antibiótico. La sobreproducción de la enzima dihidrofolato reductasa, por ejemplo, ha sido demostrada como una causa de resistencia a trimetoprim en *E. coli* (Christaki et al., 2020).

- **Protección de la diana terapéutica:**

Los genes que codifican proteínas que median protección de la diana terapéutica se localizan normalmente en elementos genéticos móviles y median resistencia a fármacos como tetraciclinas o fluoroquinolonas (Khan et al., 2018).

Un ejemplo lo encontramos en la proteína de resistencia a quinolonas Qnr, que es un determinante de resistencia a fluoroquinolonas descrito en *K. pneumoniae*. Dichas proteínas actúan como análogos del ADN compitiendo por el sitio de unión del mismo a las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV. Se cree que esta reducción en la interacción ADN girasa/topoisomerasa IV-ADN reduce las oportunidades de las quinolonas de formar y estabilizar el complejo girasa/topoisomerasa-ADN-quinolona (Munita y Arias, 2016).

- **Permeabilidad reducida de la membrana bacteriana externa:**

Cambios en la permeabilidad de la membrana externa pueden llevar al desarrollo de resistencia adquirida. El número y el tipo de porinas expresadas en la membrana externa afectarán la entrada de antibióticos hidrofílicos y, por lo tanto, a la susceptibilidad de la bacteria a los mismos. Las mutaciones que afectan a la expresión o a la función de las porinas pueden tener diferentes efectos (Figura 8), como pérdida de la porina, modificación de su tamaño o de su conductancia o expresión reducida de las mismas (Christaki et al., 2020).

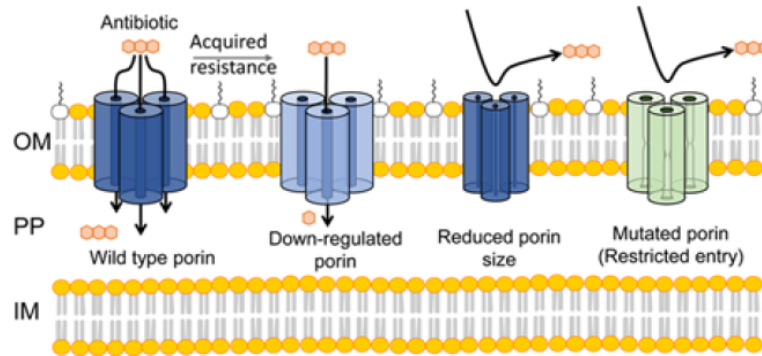


Figura 8. Representación esquemática de los mecanismos de resistencia a través de diferencias en la composición de las porinas (Arzanlou et al., 2017).

- **Bombas de eflujo:**

Las bombas de eflujo son sistemas bacterianos complejos dependientes de energía que se localizan en la membrana citoplasmática y son capaces de expulsar activamente antibióticos de la célula, siendo una de las razones que explican la resistencia intrínseca de las bacterias Gram negativas a muchos de los antibióticos que se emplean para tratar infecciones producidas por bacterias Gram positivas (Blair et al., 2015).

Cuando se sobreexpresan, dichas bombas también pueden conferir resistencia a antibióticos que previamente eran clínicamente útiles. Algunas de estas bombas tienen alta especificidad de sustrato pero la mayoría de ellas transporta un gran abanico de sustratos con diferentes estructuras, y son conocidas como bombas de eflujo que otorgan multirresistencia (Blair et al., 2015).

Aunque todas las bacterias poseen múltiples genes que codifican bombas de este tipo en su cromosoma, algunos de ellos se han movilizad; esto es, se han trasladado a plásmidos que se pueden transferir entre bacterias, lo que quiere decir que este mecanismo puede diseminarse rápidamente a otras bacterias patógenas (Blair et al., 2015).

• **Adaptación celular global (cambios en regulación celular):**

Las bacterias están continuamente desarrollando mecanismos para percibir y responder al estrés en el ambiente, de modo que los procesos celulares esenciales no se vean interrumpidos. El ejemplo más relevante es la resistencia a la daptomicina (Khan et al., 2018).

La daptomicina es un antibiótico que actúa insertándose en la membrana celular en un proceso dependiente de calcio, interfiriendo en la integridad de la misma, lo que lleva a importantes alteraciones que conducen a la muerte de la célula. Inicialmente, los ejemplares de *S. aureus* que presentaron resistencia a la daptomicina se observó que tenían carga superficial positiva con respecto a las bacterias sensibles, por lo que se postuló que las repulsiones electrostáticas evitaban la inserción del complejo daptomicina-Ca²⁺ en la membrana.

Este fenotipo resistente se asocia con mutaciones en el gen *mpfR*, que codifica una enzima que sintetiza lisil-fosfatidilglicerol (lisil-PG), y lo transloca de la parte interna de la membrana a la externa. Las mutaciones en dicho gen asociadas a resistencia a la daptomicina llevan a un fenotipo con función aumentada, donde el resultado es una síntesis y un transporte incrementados de lisil-PG a la superficie celular, llevando a una envoltura celular con una mayor carga positiva. Este se trata del mecanismo de resistencia tanto en *S. aureus* como en *E. faecium* (Khan et al., 2018).

Por otra parte, en *E. faecalis* la resistencia a la daptomicina se produce como resultado de la redistribución en la membrana celular de los microdominios de fosfolípidos aniónicos, alejándolos del tabique de división, y por lo tanto evitando la unión de la daptomicina a las áreas vitales donde se localizan las divisiones celulares (Khan et al., 2018). La Figura 9 muestra la comparativa de los mecanismos de resistencia de *S. aureus*/*E. faecium* frente a *E. faecalis*.

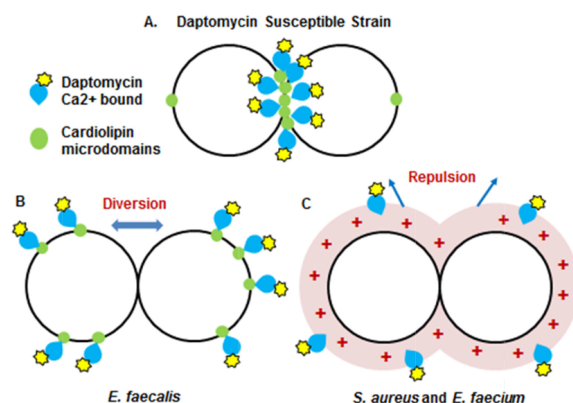


Figura 9. Comparación de mecanismos de resistencia a daptomicina en *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. faecium* (Khan et al., 2018).

En la Figura 10 se muestran esquematizados algunos de los mecanismos comentados anteriormente:

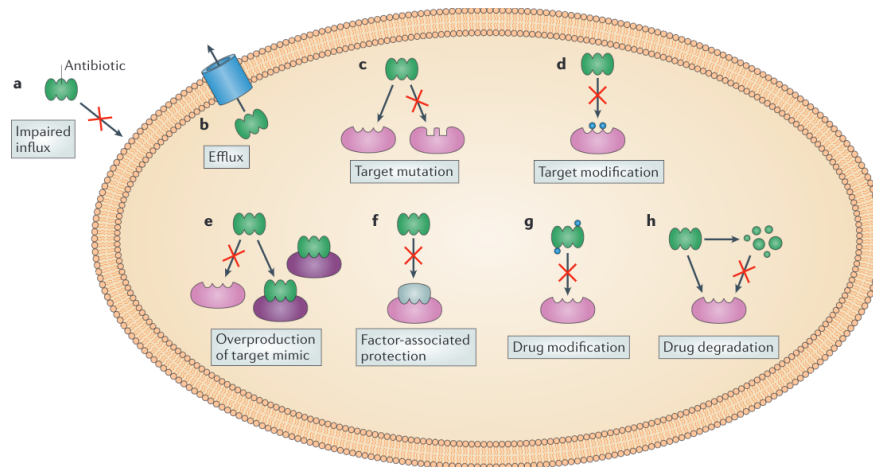


Figura 10. Principales mecanismos de resistencia a antibióticos (Wilson, 2014).

4.3. DESARROLLO DE TERAPIAS ALTERNATIVAS A LOS ANTIBIÓTICOS

Actualmente, existen una serie de terapias alternativas que se encuentran ya en práctica o bien en ensayos clínicos. En este Trabajo de Fin de Grado se van a revisar las diferentes alternativas que se están investigando para hacer frente al problema de la resistencia a antibióticos.

4.3.1. TERAPIA DE FAGOS

Los bacteriófagos, o fagos, son virus que infectan exclusivamente a las bacterias, actuando como agentes bactericidas (Kortright et al., 2019). La terapia de fagos, o fagoterapia, emplea a los fagos para combatir infecciones bacterianas, y fue descrita por primera vez por Félix d’Herelle en 1917 (Rehman et al., 2019). Sin embargo, con el descubrimiento de la penicilina y la posterior “edad dorada” de los antibióticos, más de 40 antibióticos fueron descubiertos e introducidos en la práctica clínica, por lo que los fagos cayeron en desuso. Aun así, debido al creciente problema de la resistencia a antibióticos, el interés por los mismos ha resurgido (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Para entender el fundamento de esta terapia, primero hay que conocer cuál es el ciclo vital de estos virus:

Los virus pueden sufrir dos tipos de ciclos vitales: el lítico y el lisogénico. Los fagos que siguen el ciclo lítico parecen ser los mejores candidatos para el desarrollo de terapias, por lo que nos vamos a centrar en este tipo en concreto. Durante un ciclo de infección lítico (Figura 11) los fagos se adhieren a receptores en la superficie de la bacteria, introducen su material genético en la misma, sufren replicación viral en el citoplasma mediante los mecanismos de replicación, transcripción y traducción viral y, mediante la formación de nuevas partículas víricas, salen de la bacteria mediante lisis de la misma. Este proceso se repite cuando los nuevos fagos generados infectan nuevas células susceptibles (Kortright et al., 2019).

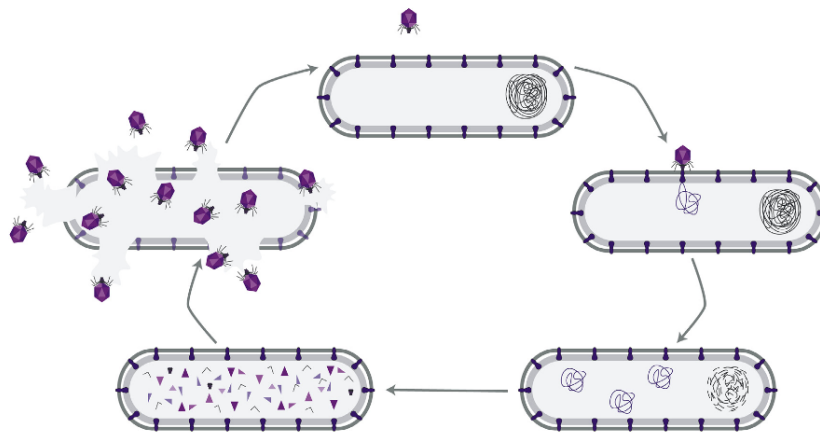


Figura 11. Ciclo lítico de infección (Kortright et al., 2019). Cuando un virus infecta a una célula, emplea la maquinaria celular para replicar su material genético y fabricar las proteínas necesarias para su supervivencia. Una vez se han generado la cantidad suficiente de los mismos, los nuevos virus salen de la célula lisándola, y por tanto provocando su muerte, para buscar a otro hospedador susceptible (Madigan et al., 2015).

Por otra parte, los fagos también pueden seguir un ciclo lisogénico. En dicho ciclo, el material genético de los fagos se integra en el genoma de la bacteria hospedadora y es heredado por las bacterias hijas; aunque bajo condiciones ambientales desfavorables, se pueden escindir del genoma bacteriano y entrar en un ciclo lítico de infección (Kortright et al., 2019). Sin embargo, en el caso de esta terapia, el uso de fagos lisogénicos no está recomendado, debido a que mediante el proceso de conversión lisogénica las bacterias pueden adquirir nuevos rasgos genéticos, generalmente de carácter patogénico, capaces de aumentar su virulencia (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

La fagoterapia presenta numerosas ventajas potenciales con respecto a los antibióticos:

-El carácter no letal de los agentes bacteriostáticos ha permitido que la resistencia a antibióticos se desarrolle más fácilmente, así como permitir el surgimiento de células persistentes. Por otro lado, los fagos líticos son siempre bactericidas, además de interrumpir varios procesos celulares simultáneamente, como la replicación, transcripción y traducción del ADN, mientras que los antibióticos actúan sobre un único proceso, lo que facilita la aparición de mutaciones que conlleven resistencia (Kortright et al., 2019).

-Por otra parte, debido a su gran especificidad (de especie o incluso en ocasiones de cepa), los fagos presentan una ventaja con respecto a los antibióticos de amplio espectro ya que no alteran la microbiota normal del organismo (Rehman et al., 2019); y como dicha microbiota compete con los microorganismos patógenos por ocupar los mismos nichos ecológicos, una disminución de la misma aumenta la propensión a infecciones (Kortright et al., 2019).

-Además, la fagoterapia parece más prometedora en el tratamiento de los biofilms que la antibioterapia, al prevenir su formación y facilitar la penetración en los mismos y su destrucción (Rehman et al., 2019).

-Mientras que los antibióticos requieren ser continuamente administrados para eliminar la infección, los fagos se amplifican en el organismo al final de cada ciclo de replicación, lo que sugiere que serían suficientes dosis menores de los mismos (Kortright et al., 2019), y además, cuando todas las bacterias han sido lisadas, los fagos son automáticamente eliminados del organismo debido a su especificidad (Rehman et al., 2019).

-Por otro lado, aunque la resistencia a los antimicrobianos es inevitable, los fagos pueden tomar ventaja de esto al co-evolucionar junto a las bacterias, por lo que es posible que la población de fagos administrada evolucione para infectar a la población de bacterias resistente (Kortright et al., 2019).

-Por último, otra ventaja de la fagoterapia es su versatilidad. Mientras que el descubrimiento de nuevos antibióticos en los últimos años se ha estancado, la gran diversidad genética que presentan los fagos, su abundancia y su ubicuidad hacen que haya prácticamente una fuente ilimitada de fagos. Más aún, la fagoterapia puede ser administrada de diversas maneras, cada una de ellas adaptada a los recursos disponibles, el tipo de infección y las características de los pacientes (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Sin embargo, una limitación de la terapia de fagos es la inevitable aparición de resistencia a los mismos. Los sistemas bacterianos antifagos se pueden encontrar en cada paso del ciclo de replicación de los fagos, e incluyen, entre otros, modificación de los receptores de unión,

sistemas de exclusión que previenen la entrada de ADN viral y los sistemas CRISPR-Cas, que reconocen y degradan el ADN externo al que se han expuesto previamente. La suma de estos mecanismos de resistencia a los fagos constituyen un “sistema inmune” procariota verdadero (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Sin embargo, la evolución bacteriana lleva consigo restricciones genéticas, en las que la adquisición de resistencia frente a los fagos puede venir con un coste asociado (Gordillo Altamirano y Barr, 2019). De este modo, la fagoterapia se beneficiaría de utilizar ciertos fagos que impulsaran a la bacteria objetivo a sufrir mecanismos de compensación genética, mediante los cuales, aunque se desarrollase resistencia a los fagos, simultáneamente se sufriese una disminución en la eficacia de otro rasgo (Kortright et al., 2019).

Por ejemplo, se ha demostrado mediante la incubación de *S. aureus* con sus fagos líticos correspondientes que se obtenían bacterias mutantes resistentes a los fagos pero con tasas de crecimiento reducidas y producción del polisacárido capsular alterada (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Por lo tanto, el éxito terapéutico se alcanza cuando los fagos lisan a la bacteria, pero también cuando las bacterias desarrollan resistencia a los mismos aparejada de una disminución de su virulencia o de un aumento de su sensibilidad a los antibióticos (Kortright et al., 2019).

La terapia con fagos puede ser de monofago o de polifago, dependiendo de si se usan un único fago o una combinación de ellos (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

La terapia monofago se usa principalmente durante el diseño y el estudio de preparaciones de fagos; sin embargo, la utilidad de esta terapia puede disminuir si aparece resistencia a dichos fagos en la población bacteriana, y aunque esta capacidad evolutiva de los fagos para superar la resistencia bacteriana represente una ventaja con respecto a la terapia con antibióticos, el proceso puede que no sea lo suficientemente eficiente para garantizar el uso clínico de la monoterapia (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Otra desventaja radica en el hecho de que se requiere encontrar la combinación exacta entre un agente etiológico y su fago correspondiente, algo que puede llevarse a cabo en el laboratorio, aunque las propiedades *in vitro* e *in vivo* de los fagos pueden no coincidir (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Para abordar los problemas de la terapia monofago, una estrategia normalmente usada es la terapia polifago, combinando varios de ellos en un cóctel de fagos (Gordillo Altamirano y Barr,

2019). De este modo, al usar varios fagos distintos se retrasa la aparición de resistencias bacterianas, además de que permite expandir el espectro de actuación de los mismos, ya que dichos cócteles pueden ser diseñados para actuar sobre varias especies (Kortright et al., 2019). Sin embargo, estos cócteles requieren procesos de preparación y purificación más largos y complejos, aumentan la posibilidad de desencadenar una respuesta inmune y es más difícil de predecir sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

Al igual que sucede en el caso de los antibióticos, el uso clínico de los fagos requerirá de análisis de laboratorio previos para identificar la susceptibilidad de las distintas cepas a los fagos terapéuticos disponibles (Kortright et al., 2019). Sin embargo, la identificación exacta de la bacteria problema es un proceso que puede ser difícil de llevar a cabo y consumir mucho tiempo; y del mismo modo, un inicio precoz de la terapia con fagos ha demostrado ser crítico para su éxito, lo que justifica el hecho de que se establezcan y se expandan colecciones de fagos para poder identificar y aislar rápidamente fagos candidatos ante cada infección (Gordillo Altamirano y Barr, 2019).

4.3.2. PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

Los péptidos antimicrobianos (AMPs, por sus siglas en inglés) son proteínas de bajo peso molecular con actividad antimicrobiana e inmunomoduladora de amplio espectro frente a bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (Boparai y Sharma, 2019).

Dichos péptidos fueron descritos por primera vez por Alexander Fleming en el año 1922, al identificar a la lisozima tras comprobar sus efectos antibacterianos *in vitro*. Aún así, los primeros intentos terapéuticos con los mismos fallaron debido a una serie de factores, y tras el descubrimiento de la penicilina y del resto de antibióticos, su uso fue relegado a un segundo plano. Sin embargo, actualmente debido a la creciente aparición de bacterias resistentes a antibióticos ha surgido de nuevo interés en los AMPs como tratamientos potenciales (Fry, 2018).

Aunque estas moléculas pueden ser bastantes diversas entre sí, todas comparten algunas características. Para empezar, todos los AMPs poseen una carga positiva que va de +2 a +13. Dicha naturaleza catiónica, que puede ser debida a la presencia de residuos de lisina y arginina, es fundamental para el mecanismo de acción de los péptidos antimicrobianos (Kumar et al., 2018).

Muchos estudios han demostrado la correlación entre carga y actividad antimicrobiana de los péptidos, ya que incrementos en la carga de +3 a +5 en el péptido magainina 2 incrementaron la actividad antibacteriana, sin embargo, un incremento a +6 o a +7 llevó a hemólisis y pérdida de su actividad. Esto puede ser debido al hecho de que una interacción demasiado fuerte entre el péptido y la membrana evita la translocación del mismo a la parte interior de la membrana bacteriana (Kumar et al., 2018).

Por otra parte, la hidrofobicidad es una característica compartida por todos los AMPs, y se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos hidrofóbicos que existen en la secuencia del péptido. La hidrofobicidad determina la capacidad que tienen los AMPs, de naturaleza hidrófila, de repartirse por la bicapa lipídica de la membrana. Esto es requerido para la permeabilización en la membrana, sin embargo, niveles demasiado altos de hidrofobicidad pueden llevar a toxicidad celular y pérdida de la selectividad antimicrobiana (Kumar et al., 2018).

Por último, otra característica compartida por todos los AMPs es la anfipaticidad, que se refiere a la abundancia relativa de residuos hidrofóbicos e hidrofílicos dentro de los péptidos. Esta anfipaticidad puede ser alcanzada por diversas conformaciones peptídicas, pero el mejor ejemplo es la α -hélice, ya que permite que el péptido adopte dos "caras", la polar y la apolar. Inicialmente se pensaba que una reducción de la anfipaticidad llevaba a un incremento en la actividad antimicrobiana y una reducción de la hemólisis, pero posteriormente se ha demostrado que también puede suceder lo contrario, así que la relación entre los parámetros de anfipaticidad, hidrofobicidad y carga neta es complicada y depende de cada caso concreto (Kumar et al., 2018).

Con respecto a su mecanismo de acción, los AMPs interactúan con las membranas bacterianas celulares mediante interacciones electrostáticas, haciendo por lo tanto difícil que las bacterias desarrollen resistencia bacteriana, el principal problema derivado del uso de los antibióticos convencionales (Boparai y Sharma, 2019). Según su mecanismo de acción, los péptidos se pueden clasificar en aquellos que actúan de manera directa y aquellos que ejercen inmunomodulación (Kumar et al., 2018).

Los que actúan de manera directa a su vez se pueden dividir en los que actúan en la membrana y los que no (Boparai y Sharma, 2019). Los que actúan en la membrana se tratan de péptidos catiónicos que causan disrupción en la membrana plasmática al unirse electrostáticamente a los grupos cargados negativamente de la membrana bacteriana, y los daños producidos por la unión de éstos provocan su penetración en la célula y la despolarización de la misma, así como

la pérdida de la segregación de diversos iones intracelulares. Del mismo modo, se pueden crear poros en la membrana celular, que provoquen extravasación de proteínas intracelulares y lleven en última instancia a la lisis de la bacteria (Fry, 2018).

En el caso de las bacterias Gram negativas, la diana a la que se unen los AMPs se trata del polisacárido, mientras que en el caso de las Gram positivas, lo hacen a nivel del peptidoglicano o del ácido lipoteicoico (Fry, 2018).

Se han propuesto varios modelos para explicar el mecanismo de acción de estas moléculas, como se puede observar en la Figura 12. La especificidad de los AMPs por los grupos aniónicos de las membranas celulares bacterianas evita que las células del hospedador se vean afectados por los mismos, ya que las células humanas poseen membranas celulares que contienen fosfolípidos zwitteriónicos y colesterol, sobre los que los péptidos no presentan ninguna afinidad (Fry, 2018).

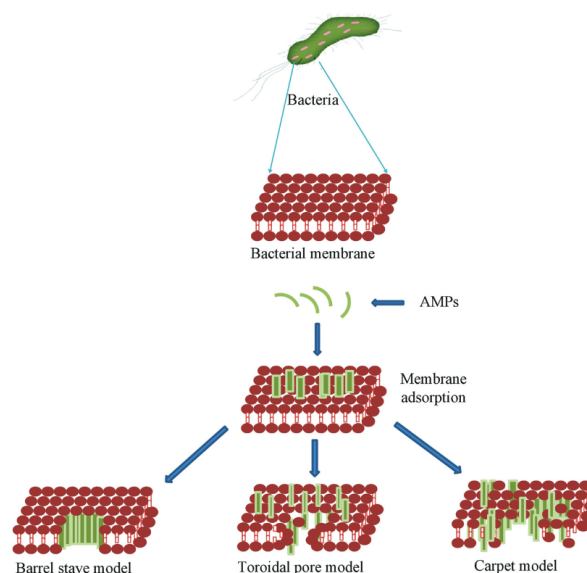


Figura 12. Posibles modos de actuación de los AMPs. Los modelos posibles incluyen el modelo del barril, del poro toroidal y de la alfombra (Boparai y Sharma, 2019).

Por otra parte, los AMPs que no actúan en la membrana son capaces de atravesarla y tener como diana componentes intracelulares. De este modo, son capaces de inhibir la síntesis de ácidos nucleicos o de proteínas, o de bloquear la actividad enzimática (Boparai y Sharma, 2019).

Así mismo, los AMPs también pueden ejercer una función inmunomoduladora mediante el reclutamiento y la activación de células del sistema inmune (Kumar et al., 2018). De este modo, se ha visto que promueven la quimiotaxis y reducen la respuesta proinflamatoria

excesiva causada por las endotoxinas; además de intervenir en la respuesta inmune adaptativa (Fry, 2018).

Sin embargo, los AMPs también presentan una serie de problemas. La mayoría de los péptidos que se encuentran en ensayos clínicos están restringidos a la vía tópica, debido a su toxicidad sistémica (Kumar et al., 2018), y en el caso de que se administren por vía sistémica tienen una estabilidad fisicoquímica baja y una semivida plasmática corta (Wang et al., 2021), mientras que su administración por vía oral lleva a su digestión por las enzimas proteolíticas del tracto digestivo (Kumar et al., 2018). Para solventar esto, se pueden llevar a cabo estrategias como encapsulación en materiales porosos o adsorción a la superficie de estructuras (Wang et al., 2021), modificaciones químicas de los mismos (Kumar et al., 2018), o bien formular dichos péptidos para que se ensamblen con otros péptidos o con otras moléculas que les otorguen protección y faciliten su llegada al lugar donde deben de actuar (Wang et al., 2021).

4.3.3. NANOPARTÍCULAS

Las nanopartículas (NPs, por sus siglas en inglés) son partículas que tienen al menos una de sus dimensiones en el rango nanométrico (1-100 nm). Dichas partículas han demostrado actividad antibacteriana de amplio espectro, (Wang et al., 2017) y pueden ser metálicas, de óxidos metálicos, bimetálicas o magnéticas (Balderrama-González et al., 2021).

Para ejercer su acción antimicrobiana, las NPs necesitan entrar en contacto con las bacterias, para, una vez en contacto, atravesar la membrana bacteriana y ejercer su acción bactericida. Debido a que la membrana bacteriana está muy conservada y es difícil cambiarla con unas pocas mutaciones genéticas, se reduce la probabilidad de desarrollar resistencia (Wang et al., 2017).

Los principales mecanismos de acción de las NPs son:

-Generación de especies reactivas de oxígeno (EROs): en condiciones normales, la producción y la eliminación de EROs en las bacterias está equilibrada (Wang et al., 2017), sin embargo, las NPs son capaces de alterar este equilibrio al entrar en contacto con las bacterias y generar un exceso de EROs que favorezcan la oxidación celular y el estrés oxidativo (Balderrama-González et al., 2021).

-Liberación de iones metálicos: una vez que las NPs atraviesan la pared celular, pueden liberar iones metálicos al interior celular (Balderrama-González et al., 2021). Dichos iones pueden interactuar con los grupos funcionales de las proteínas y los ácidos nucleicos y

afectar a la actividad enzimática y a los procesos celulares, provocando la muerte de la bacteria (Wang et al., 2017).

-Inhibición de la síntesis de proteínas y daño al ADN: estas partículas pueden causar una descomposición de las subunidades ribosómicas y de otras enzimas implicadas en la síntesis proteica (Balderrama-González et al., 2021). Del mismo modo, las NPs de TiO_2 favorecen la degeneración y fragmentación del ADN bacteriano (Wang et al., 2017).

-Daños a rutas metabólicas: alteraciones causadas por las NPs en dichos procesos interconectados pueden causar daño a la membrana celular y producir estrés oxidativo, llevando a la muerte de la bacteria (Wang et al., 2017).

-Inhibición de la formación de biofilms: algunos estudios han demostrado que las NPs afectan a la integridad de los biofilms al interactuar con las sustancias poliméricas extracelulares (Wang et al., 2017) y de este modo favorecen el acceso de moléculas tóxicas para las bacterias (Balderrama-González et al., 2021).

Dichos mecanismos vienen esquematizados en la Figura 13:

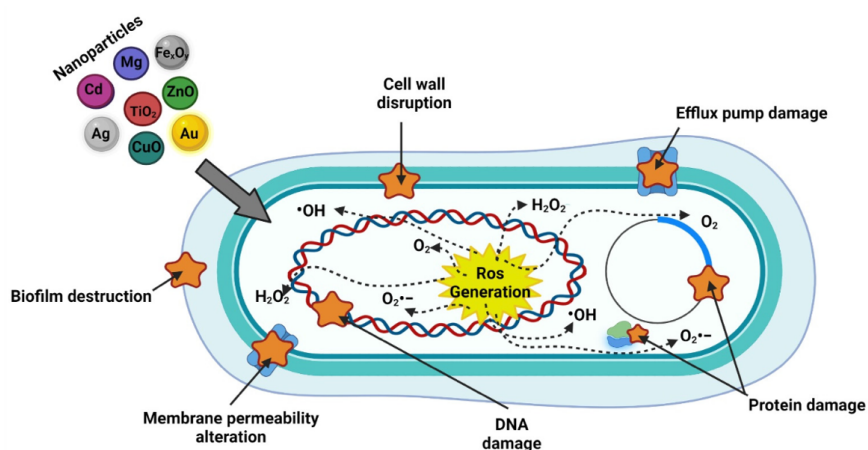


Figura 13. Mecanismos de acción de las NPs (Balderrama-González et al., 2021).

Estos efectos son debidos a las pequeñas dimensiones de estas partículas, que les permiten tener una mayor interacción con las células bacterianas debido a una mayor relación área superficial-masa, y a la posibilidad de una aplicación controlada y versátil (Wang et al., 2017).

Del mismo modo, algunas NPs ejercen múltiples mecanismos de acción simultáneamente, lo que evita la aparición de resistencias, ya que requeriría de varias mutaciones bacterianas simultáneas, lo que es poco probable que suceda (Pelgrift y Friedman, 2013).

Además de ejercer por sí mismas efectos antimicrobianos, las NPs también pueden actuar como transportadoras de antibióticos (Wang et al., 2017). Esto supone una ventaja en el

tratamiento de patógenos intracelulares, ya que son lo suficientemente pequeñas como para ser fagocitadas por los fagocitos que contengan patógenos intracelulares, y una vez dentro de dichas células, liberar los antibióticos precisos, permitiendo una elevada concentración del fármaco en el lugar de acción mientras que la cantidad total de antibiótico administrada permanece baja (Pelgrift y Friedman, 2013), evitando de este modo los efectos secundarios perjudiciales que pudiera tener su administración sistémica (Wang et al., 2017).

Por otra parte, las NPs pueden contrarrestar el efecto de ciertas mutaciones que otorgan resistencia a los antibióticos. Por ejemplo, en el caso de que una bacteria sufriese una mutación que impidiese la entrada de los antibióticos a la misma, se puede hacer uso de liposomas, que son nanopartículas que poseen una bicapa lipídica que se puede fusionar rápidamente con la membrana plasmática bacteriana y liberar una elevada concentración del fármaco en el citoplasma bacteriano de una sola vez (Pelgrift y Friedman, 2013).

Por último, otra ventaja de las NPs es la capacidad que tienen de dirigir selectivamente a los antibióticos al sitio de acción, pudiendo ser esa terapia dirigida activa o pasiva. La terapia dirigida pasiva se basa en el aumento de la permeabilidad y de la retención del fármaco que se da en el sitio de infección (Wang et al., 2017), mientras que la terapia dirigida activa se consigue conjugando a las nanopartículas con anticuerpos frente a un determinado antígeno de la bacteria que se quiere eliminar (Pelgrift y Friedman, 2013).

Sin embargo, no todo son ventajas, ya que un estudio demostró que las NPs de aluminio pueden promover la transferencia de plásmidos mediante conjugación, lo que facilita la extensión de la resistencia a los antibióticos (Wang et al., 2017). Del mismo modo, no todas las NPs pueden ser usadas con fines terapéuticos debido a su toxicidad (Balderrama-González et al., 2021) y aún quedan muchas incógnitas por resolver acerca de sus mecanismos de acción y de su interacción con las células bacterianas (Wang et al., 2017).

4.3.4. COMPARATIVA

En la siguiente tabla vienen resumidas las ventajas e inconvenientes de dichas alternativas:

Alternativas terapéuticas	Ventajas	Inconvenientes
Fagoterapia	<ul style="list-style-type: none"> -Selectividad frente a microorganismos patógenos -Mayor eficacia frente a biofilms -Capacidad de autoamplificación -Posibilidad de coevolucionar junto a las bacterias objetivo -Enorme diversidad y versatilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> -Desarrollo de resistencia a los mismos -Posibilidad de desencadenar respuestas inmunes -Necesidad de encontrar la combinación exacta entre bacteria y fago correspondiente
Péptidos antimicrobianos	<ul style="list-style-type: none"> -Dificultad de que surja resistencia a los mismos -Especificidad sobre las bacterias patógenas -Estimulación del sistema inmune del hospedador. 	<ul style="list-style-type: none"> -Posible toxicidad sistémica -Dificultad de administración por vía oral -Pobres características farmacocinéticas.
Nanopartículas	<ul style="list-style-type: none"> -Dificultad de desarrollo de resistencia a las mismas -Mayor eficacia frente a biofilms -Múltiples mecanismos de acción -Coadyuvantes de antibióticos -Capacidad de llevar a cabo terapia dirigida. 	<ul style="list-style-type: none"> -Posibilidad de estimular la aparición de resistencia antimicrobiana -Posible toxicidad -Necesidad de más estudios para poder hacer uso de todo su potencial.

Tabla 2. Ventajas e inconvenientes de las alternativas al uso de antibióticos convencionales (Elaboración propia).

5. CONCLUSIONES

1. Las bacterias resistentes a antibióticos, en particular las bacterias que integran el grupo ESKAPE, suponen una de las mayores amenazas sanitarias a las que hemos de enfrentarnos para evitar que los pronósticos que vaticinan una elevada mortalidad debido a infecciones causadas por las mismas se hagan realidad.
2. Para ello, es necesario conocer en profundidad las características principales de estas bacterias, como sus factores de virulencia, así como aquellos mecanismos por los que adquieren la citada resistencia.
3. Debido a que dichos mecanismos pueden ser muy variados y afectar a una gran variedad de componentes y funciones celulares, es importante entender las distintas maneras en las que dicha resistencia puede surgir para afrontarla con la estrategia que sea más conveniente en cada caso.
4. De este modo, existen ya una serie de alternativas al uso de los antibióticos que han empezado a mostrar resultados prometedores en su aplicación terapéutica o bien en ensayos clínicos.
5. Además, han sentado el precedente para que futuras investigaciones continúen con el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas que suplan las carencias que presentan los antibióticos o bien mejoren las ya existentes.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2012; 10: 266–78.
2. Arzanlou M, Chai WC, Venter H. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays Biochem.* 2017; 61: 49–59.
3. Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discov Today.* 2019; 24(1): 350–9.
4. Balderrama-González AS, Piñón-Castillo HA, Ramírez-Valdespino CA, Landeros-Martínez LL, Orrantia-Borunda E, Esparza-Ponce HE. Antimicrobial resistance and inorganic nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22.
5. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13: 42–51.
6. Bush K, Bradford PA. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17: 295–306.

7. Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021; 12(1): 547–69.
8. Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J Mol Evol*. 2020; 88: 26–40.
9. Davin-Regli A, Lavigne JP, Pagès JM. *Enterobacter* spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32.
10. Edwards M, Oliver N. The new arms race against bacteria. 2016 [en línea]. [Consultado en marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.theactuary.com/features/2016/06/2016/05/25/new-arms-race-against-bacteria>
11. Gao W, Howden BP, Stinear TP. Evolution of virulence in *Enterococcus faecium*, a hospital-adapted opportunistic pathogen. *Curr Opin Microbiol*. 2018; 41: 76–82.
12. Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(2).
13. Gorrie C, Higgs C, Carter G, Stinear TP, Howden B. Genomics of vancomycin-resistant *enterococcus faecium*. *Microb Genom*. 2019; 5.
14. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol*. 2018; 16: 91–102.
15. Hutchings M, Truman A, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019; 51: 72–80.
16. Khan A, Miller WR, Arias CA. Mechanisms of antimicrobial resistance among hospital-associated pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018; 16: 269–87.
17. Kong C, Neoh HM, Nathan S. Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: A potential form of anti-virulence therapy. *Toxins* (Basel). 2016; 8(72). <https://doi.org/10.3390/toxins8030072>
18. Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE. Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host Microbe*. 2019; 25: 219–32.
19. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*. 2018; 4.
20. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7.
21. Lee K, Yoon SS. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm, a Programmed Bacterial Life for Fitness. *J Microbiol Biotechnol*. 2017; 27: 1053–64.
22. Ma YX, Wang CY, Li YY, Li J, Wan QQ, Chen JH, et al. Considerations and Caveats in Combating ESKAPE Pathogens against Nosocomial Infections. *Adv Sci*. 2020; 7.

23. Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. Brock. Biología de los microorganismos. 14ª edición. Pearson; 2015.
24. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018; 8.
25. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol*. 2012; 7(7) :887–902.
26. Morrison L, Zembower TR. Antimicrobial Resistance. *Gastrointest Endoscopy Clin N Am*. 2020; 30: 619–35.
27. Moubareck CA, Halat DH. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*. 2020; 9(119).
28. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Front Microbiol*. 2019; 10(539).
29. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr*. 2016; 4(2)
30. de Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020; 33(3).
31. Organización Mundial de la Salud. Panel de información de la OMS acerca del Coronavirus (COVID-19). 2022 [en línea]. [Consultado en febrero de 2022]. Disponible en: <https://covid19.who.int/>
32. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019; 37: 177–92.
33. Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013; 65: 1803–15.
34. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013; 11: 297–308.
35. Rehman S, Ali Z, Khan M, Bostan N, Naseem S. The dawn of phage therapy. *Rev Med Virol*. 2019; 29.
36. Sánchez-López J, Cantón R. Current state of ESKAPE microorganisms in Spain: Epidemiology and resistance phenotypes. *Rev Esp Quimioter*. 2019;32(2): 27-31
37. de Sousa T, Hébraud M, Enes Dapkevicius MLN, Maltez L, Pereira JE, Capita R, et al. Genomic and metabolic characteristics of the pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci*. 2021; 22.

38. Tang M, Kong X, Hao J, Liu J. Epidemiological Characteristics and Formation Mechanisms of Multidrug-Resistant Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol.* 2020; 11.
39. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17: 1–17.
40. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* 2017; 12: 1227–49.
41. Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2014; 12:35–48.
42. Zohra T, Numan M, Ikram A, Salman M, Khan T, Din M, et al. Cracking the Challenge of Antimicrobial Drug Resistance with CRISPR/Cas9, Nanotechnology and Other Strategies in ESKAPE Pathogens. *Microorganisms.* 2021; 9: 954.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9050954>