



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Mecanismos moleculares en el desarrollo de resistencia a antimicrobianos: alternativas al uso de antibióticos.

Molecular mechanisms in the development of antimicrobial resistance: alternatives to the use of antibiotics.

Autor: Dña. María Pieras López

Director/es: D. Ignacio Aréchaga Iturregui

Santander, Junio 2019

INDICE:

1. RESUMEN/ABSTRACT.....	1
2. INTRODUCCION:.....	3
2.1 La era de los antibióticos:.....	3
- Conceptos y clasificación de los antibióticos.....	3
- Historia de los antibióticos y del desarrollo de las resistencias.....	4
- Mecanismos de acción de los antibióticos.....	5
2.2 La resistencia antibiótica como problema de salud pública mundial	9
2.3 Papel de la industria farmacéutica.....	10
2.4 Microorganismos: patógenos prioritarios en resistencia antibiótica.....	11
3. RESISTENCIA ANTIBIOTICA:.....	12
3.1 ¿Qué es la resistencia antibiótica?.....	12
3.2 Origen y propagación de las resistencias antibióticas.....	13
3.3 Mecanismos implicados en el desarrollo de resistencia:.....	14
- Mecanismos moleculares.	
- Otras formas de resistencia.	
3.4 Causas y consecuencias de la resistencia antibiótica.....	18
3.5 El papel del uso de antibióticos en ámbitos no médico:.....	21
- Ámbito veterinario	
- Industria ganadera	
- Industria agrícola	
3.6 Problema futuro: Estudios sobre el avance de la resistencia antibiótica	24
3.7 Prevención de la evolución la resistencia antibiótica:.....	25
- Plan de acción mundial de la OMS	
- Plan de acción nacional (PRAN)	
- Programas de optimización del uso de antibióticos (PROA)	

4. NUEVAS TERAPIAS:	27
4.1 Nuevos antimicrobianos.....	27
4.2 Alternativas al uso de antibióticos:.....	29
• Terapias moleculares:	
- Fagoterapia	
- Péptidos antimicrobianos	
- Bacterias depredadoras	
- Bacteriocinas	
- Sistemas CRISPR	
- Otros: liposomas, metales.	
• Inmunoterapia:	
- Vacunas	
- Anticuerpos	
- Probióticos	
- Estimulación inmune.	
5. CONCLUSIONES.....	32
6. ANEXO 1: ELEMENTOS GENETICOS MOVILES.....	33
7. ANEXO 2: BETALACTAMASAS.....	34
8. BIBLIOGRAFIA.....	37

1. RESUMEN/ABSTRACT:

RESUMEN:

Uno de los avances más importantes en la historia de la Medicina fue el descubrimiento y desarrollo de los antibióticos entre finales del siglo XIX y principios del XX, despidiendo lo que ahora conocemos como la era pre-antibiótica y dando paso a la era de los antibióticos. Gracias a este descubrimiento, muchas de las enfermedades potencialmente mortales hasta entonces (tuberculosis, sífilis, peste...) pasaron a ser un problema secundario, mientras que otras, como las cardiovasculares o neoplásicas empezaron a ganar protagonismo desbancando a las enfermedades infecciosas.

Sin embargo, no pasaron más de 30 años hasta que empezaron a publicarse los primeros documentos de desarrollo de resistencia a los antibióticos que iban saliendo al mercado, problema que parecía no preocupar hasta años más tarde. A principios del siglo XXI, comenzaron a notificarse por parte de algunas asociaciones como la OMS o la CDC, las primeras alertas sobre la realidad y el peligro del problema; proclamando la resistencia antibiótica como un problema de salud pública prioritario.

Según un estudio reciente, para 2050 si las resistencias antimicrobianas siguen avanzando exponencialmente como hasta ahora, hasta 10 millones de muertes en el mundo al año serán atribuibles al desarrollo de estas resistencias, por encima de otras causas de muerte como el cáncer o los accidentes de tráfico.

Parece evidente la necesidad de actuación de forma inmediata a través de la implicación global tanto de la población general como de los diferentes sectores responsables (sanitario, veterinario, ganadería, agricultura...) para frenar la evolución y diseminación de las resistencias ya existente y prevenir la aparición de nuevas cepas multirresistentes, así como focalizar los esfuerzos en el desarrollo de nuevos antibióticos u otras alternativas (vacunas, anticuerpos, fagoterapia...) para retrasar la llegada de la época post-antibiótica.

ABSTRACT:

One of the most important advances in the history of medicine was the discovery and development of antibiotics between the end of the 19th century and the beginning of the 20th century, bringing to an end what is now known as the pre-antibiotic era and giving way to the era of antibiotics. Thanks to this discovery, many of the potentially deadly diseases (tuberculosis, syphilis, black plague...) became a secondary problem, while others, such as cardiovascular or neoplastic diseases began to gain prominence by displacing infectious diseases.

However, it wasn't more than 30 years later that the first documents on the development of resistance to antibiotics were being published, a problem that did not seem to worry until years later. At the beginning of the 21st century, some associations such as the WHO or the CDC began to report the first alerts about the reality and danger of the problem; they proclaimed antibiotic resistance as a priority public health problem.

According to a recent study, by 2050 if antimicrobial resistance continues to advance exponentially as it has until now, up to 10 million deaths in the world each year will be attributable to the development of these resistances, over and above other causes of death such as cancer or traffic accidents.

It seems evident the need for immediate action through the global involvement of both the general population and the different responsible sectors (health, veterinary, livestock, agriculture ...) to curb the evolution and spread of existing resistance and prevent the emergence of new multi-resistant strains, as well as focus efforts on the development of new antibiotics or other alternatives (vaccines, phagotherapy ...) to delay the arrival of the post-antibiotic era.

2. INTRODUCCION:

2.1 LA ERA DE LOS ANTIBIÓTICOS

Un antimicrobiano es una sustancia de origen natural o sintético que actúa inhibiendo el crecimiento o matando a microorganismos (parásitos, bacterias, virus y hongos).

La palabra antibiótico deriva del griego Anti, “contra”; bios, “vida”, y estrictamente se define como sustancias producidas de forma natural por organismos vivientes (bacterias, hongos, esporas...) con capacidad para destruir o suprimir el crecimiento y multiplicación de otros. Sin embargo, en la actualidad, esta palabra ha perdido su significado restrictivo y se usa para cualquier sustancia con esta funcionalidad, indiferentemente de que tengan origen natural o artificial

Vamos a centrarnos especialmente en los antibióticos por su papel protagonista en el desarrollo de resistencias y la importancia de los estudios e investigaciones dirigidos a descubrir alternativas a su uso, aunque en ocasiones, también haremos referencia a los otros microorganismos.

Conceptos y clasificación de los antibióticos:

A la hora de clasificarlos, se pueden dividir en diferentes grupos en función de distintos criterios; Según su mecanismo de acción:

BACTERIOSTATICOS: son aquellos actúan inhibiendo el desarrollo y multiplicación de microorganismos, pero no los destruyen. Para erradicar la infección requieren la actividad del sistema inmunológico. (ej. azitromicina, clindamicina, doxiciclina...)

BACTERICIDAS: son aquellos que actúan directamente matando a la bacteria produciendo su lisis (ej. amoxicilina, ceftriaxona, vancomicina...)

BACTERIOSTATICOS	BACTERICIDAS
- Tetraciclinas	- Beta-lactámicos
- Macrólidos	- Glucopéptidos
- Cloranfenicol	- Aminoglucósidos
- Sulfamidas	- Quinolonas
- Otros: Clindamicina, Linezolid	- Otros: Metronidazol, Fosfomicina.

Según su espectro de acción:

BAJO ESPECTRO: son aquellos que ejercen su acción sobre familias específicas de patógenos. (ej. macrólidos)

AMPLIO ESPECTRO: son aquellos que ejercen su acción sobre un gran número de especies distintas. Al tener espectro tan amplio matan también a las bacterias de la flora natural del ser humano. (ej. aminoglucósidos, carbapenemes)

Historia de los antibióticos y del desarrollo y aparición de las primeras resistencias:

El uso de sustancias antibacterianas, se remota a civilizaciones antiguas como la cultura china, que hace más de 2500 años ya usaban la cuajada mohosa de la soja para el tratamiento de ciertas infecciones. Otras culturas (antiguos egipcios, griegos...) también usaban el moho y otras sustancias naturales como por ejemplo la corteza del árbol cinchona originaria de Sudamérica, que contiene quinina, para el tratamiento de la malaria. Se llama antibiosis al efecto que se produce cuando una especie es capaz de sintetizar una sustancia (antibiótica) que resulta nociva para otra especie. Este término fue descrito en 1877 por Louis Pasteur y Robert Koch, cuando observaron un bacilo en el aire que podía inhibir el crecimiento del *Bacillus anthracis*.

Sin embargo, el primer antibiótico como tal descubierto fue la penicilina en 1897 por Ernest Duchesne (Francia), sin tener trascendencia de forma científica. Duchesne fue reconocido póstumamente en 1949, 5 años después de que Fleming recibiera el Premio Nobel. Sin embargo, Fleming reconoció su mérito.

Más adelante, en 1909, Paul Ehrlich comercializó el primer quimioterápico con efecto antibiótico, abriendo la investigación al campo de la terapéutica antibiótica. Se trataba de un medicamento comercializado bajo la marca de "Salvarsán" compuesto por arsfenamina para el tratamiento de la sífilis. Sin embargo, lo que parecía un avance para el mundo de las enfermedades infecciosas y la investigación, se vio frenado por la Primera Guerra mundial. Este medicamento no se utiliza en el presente.

Años más tarde, en 1929, Alexander Fleming, un médico británico descubrió de forma accidental la penicilina. Mientras cultivaba *Staphylococcus aureus* en una placa de Petri, esta fue contaminada por un hongo (*Penicillium notatum*) que impedía la supervivencia de las bacterias a su alrededor, descubriendo así el primer antibiótico reconocido. En 1945, recibió el Premio Nobel de Medicina, junto a Ernst Chain y Howard Walter Florey (produjeron la forma purificada de la penicilina unos años más tarde).

Este hecho, marcó un antes y un después en la historia no solo de la medicina, sino de la humanidad, dando la bienvenida a la era antibiótica y abriendo un mundo a la industria farmacéutica en la investigación y descubrimiento de nuevos antibióticos (1) (FIGURA 1).

FIGURA 1. Aminov, R. 2017 History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact.

Cronología del descubrimiento de las principales familias de antibióticos.

History of discovery of main antimicrobial classes.

Arsphenamines	1910
β -Lactams	1929
Sulphonamides	1935
Polypeptides	1939
Aminoglycosides	1943
Tetracyclines	1945
Amphenicols	1947
Lipopeptides	1947
Macrolides	1950
Oxazolidinones	1952
Glycopeptides	1953
Streptogramins	1953
Ansamycins	1957
Quinolones	1962
Lincosamides	1963

Este esperanzador descubrimiento supuso un boom en el tratamiento de enfermedades infecciosas, hasta el punto de pensar, que se tenían controladas e incluso erradicadas. Sin embargo, el uso indiscriminado de estas sustancias, no tardó en mostrar sus consecuencias y empezaron a dar la cara las primeras bacterias resistentes a los antibióticos que se iban sacando al mercado (2) (FIGURA 2).

Agente	Aprobación FDA	Informe de resistencia	Mecanismo
Penicilina G	1943	1940	Producción de penicilinasas
Estreptomina	1947	1947	Mutación de proteína ribosomal S12
Tetraciclina	1952	1952	Eflujo
Penicilina + tetraciclina (<i>Neisseria gonorrhoeae</i> y enterobacterias)	1943 y 1952	1976 y 1980	β -lactamasas de amplio espectro y bombas de eflujo de tetraciclinas
Meticilina	1960	1961	MecA (Mutación de PBP2a)
Ácido nalidixico	1964	1966	Mutación de topoisomerasa
Gentamicina	1967	1969	Enzimas inactivadoras
Cefotaxima	1981	1981 y 1983	β -lactamasa AmpC β -lactamasa de espectro ampliado (ESBL)
Linezolid	2000	1999	Mutación de ARN 23S

FIGURA 2: *Belloso, W. H., & Histórica, R. (2009). Historia de los antibióticos.*

Aparición de las primeras resistencias antibióticas.

Mecanismos de acción de los antibióticos:

Para que los agentes antimicrobianos puedan ser usados de forma segura y eficaz en el tratamiento de infecciones deben mostrar lo que conocemos como “toxicidad selectiva”. Este concepto hace referencia a la capacidad de actuar de forma lo más específica posible frente a los microorganismos, respetando al máximo la integridad de las propias células del ser humano huésped. La selectividad de los antimicrobianos va a depender del lugar de acción de los mismos, de manera que lo ideal es que actúen sobre estructuras presentes en el microorganismo y ausentes en el ser humano, con el fin de provocar toxicidad nula o lo más baja posible en los tejidos del hombre.

Debido a las diferencias estructurales entre bacterias y células superiores, los antimicrobianos resultan interesantes ya que su toxicidad es limitada. Las principales diferencias entre las células bacterianas y las eucariotas, incluyen:

1. Existencia de un único cromosoma bacteriano en contacto directo con el citoplasma por ausencia de membrana nuclear y por lo tanto con un acceso más fácil para los antibióticos que actúan sobre la síntesis de ADN (3).
2. Presencia de ribosomas de tipo 70 s, inexistente en células eucariotas superiores (3).
3. Dotación de pared celular (peptidoglicano) que le aporta a la bacteria protección y resistencia (3).

En función de la zona de la bacteria a la que ataque el antibiótico existen diferentes mecanismos de actuación:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular:

Los antibióticos pueden actuar inhibiendo cualquiera de las fases de biosíntesis de la pared celular:

1. Fase citoplasmática: actúan a nivel plasmático, inhibiendo la síntesis de los precursores del N-acetil murámico. En esta fase actúan la fosfomicina, la daptomicina y la cicloserina.
2. Fase de transporte de precursores: impide el transporte de los precursores a través de la membrana citoplasmática. Por ejemplo, la bacitracina o las mureidomicinas
3. Fase de organización estructural del peptidoglicano: se produce un bloqueo del ensamblaje de los precursores. En esta etapa actúan los β -lactámicos (unión a PBP) y los glucopéptidos (4).

2. Alteración de la membrana citoplasmática:

Los antimicrobianos que actúan a este nivel, tienen efecto bactericida, inactivando la funcionalidad de la membrana citoplasmática. Hay que tener en cuenta que éstos tienen gran toxicidad sobre las células eucariotas (5).

A este grupo pertenecen las polimixinas, los lipopéptidos (daptomicina), los antibióticos poliénicos (con actividad frente a hongos) que actúan mediante la desestructuración de la membrana. Además, hay otros dos grupos que tienen poco interés clínico en el uso diario, los ionóforos (alteran composición citoplasmática de iones) y los formadores de poros (4).

3. Inhibición de la síntesis de proteínas:

La síntesis de proteínas es uno de los procesos que más frecuentemente se ve afectado por la acción de los antimicrobianos. Es un mecanismo de acción bacteriano específico gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos (70 s) y eucariotas (80 s). La inhibición y, por tanto, la acción del antibiótico puede ocurrir en cualquiera de las fases de síntesis proteica:

1. Fase de activación: es la fase de la síntesis proteica en la que los aminoácidos del citoplasma se unen al ARNt a través de una enzima específica para cada aminoácido, para transportarlos al ribosoma e iniciar la fase de traducción.
La mupirocina es un bacteriostático que se obtiene de especies de *Pseudomonas spp*, que inhibe de forma competitiva a la enzima isoleucil-ARNt sintetasa, impidiendo la incorporación de la isoleucina a la cadena polipeptídica (4).
2. Fase de inicio: el inicio de la síntesis se produce cuando el ARNt que porta el aminoácido metionina se une a las subunidades (primero a la 30S y después la 50S). Es en este momento donde actúan las oxazolidinonas (linezolid) y los aminoglucósidos. El linezolid se une a la subunidad 50S, evitando el complejo de iniciación.
Los aminoglucósidos son sustancias naturales que se obtienen de actinomicetos o semisintéticos del mismo origen. Actúan uniéndose a los ribosomas (subunidad 30S), de manera que se producen muchos errores en la lectura del ARNm, dando

lugar a proteínas anómalas que unen a la membrana plasmática, permitiendo la entrada de más antibiótico al citoplasma hasta el punto de bloquear la acción de los ribosomas por completo (4).

3. Fase de fijación del aminoacil-ARNt al ribosoma:

El proceso de síntesis proteica continúa a través de la incorporación de nuevos aminoácidos gracias al ARNt que va llevando los diferentes aminoácidos formando el complejo aminoacil-ARNt. Algunos antibióticos bacteriostáticos, inhiben la fijación de este complejo al ribosoma, por ejemplo, las tetraciclinas y sus derivados (las glicilciclinas)

Las tetraciclinas son moléculas naturales o semisintéticas que actúan impidiendo esta unión del complejo al ribosoma. La más usada de las tetraciclinas es la doxiciclina.

Las glicilciclinas son derivados sintéticos de las tetraciclinas (tigeciclinas) y son aún más potentes. Tienen capacidad de actuación sobre los ribosomas modificados (4).

4. Fase de elongación: esta última fase, se produce cuando el ARNt con el aminoácido ya se ha fijado a su sitio de unión (locus A), se produce un proceso denominado transpeptidación, que consiste en la unión del aminoácido incorporado y el último aminoácido de la cadena peptídica en formación a través de un enlace peptídico. Este proceso puede estar bloqueado por algunos antimicrobianos como el cloranfenicol y las lincosamidas.

Una vez se ha formado en enlace peptídico, el ARNt que estaba fijado en el locus P, se libera, dejando el aminoácido que transportaba y deja el espacio libre para que el peptidil-ARNt, localizado en el locus A ocupe el locus P, dejando libre el A, para la llegada de un nuevo ARNt y su aminoácido. Este proceso necesita de la participación del factor de elongación F, que puede estar bloqueado por el ácido fusídico.

Progresivamente se va formando un polipéptido que va emergiendo por el locus E de la subunidad 50S.; este último proceso puede estar bloqueado por otros antibióticos como los Macrólidos, lincosamidas, estreptograminas del grupo B y los cetólidos (4).

4. Inhibición de síntesis y/o metabolismo de ácidos nucleicos:

Los microorganismos, para llevar a cabo su multiplicación y crecimiento, necesitan llevar a cabo los procesos de transcripción (producción de ARNm para la síntesis de proteínas a partir de un molde de ADN) y replicación (proceso por el que el ADN bacteriano, en este caso, se duplica para poder transmitir la información a su descendencia) para lo cual son necesarios los ácidos nucleicos (5).

Algunos antimicrobianos como las rifamicinas y las quinolonas actúan interfiriendo con las enzimas necesarias en estos procesos; otros como los nitromidazoles y nitrofuranos actúan directamente dañando el ADN. En consecuencia, debido a su poca selectividad, todos estos, suelen generar cierta toxicidad sobre el resto de células del huésped. Suelen ser bactericidas y actuar independientemente de la fase de crecimiento en que se encuentre la bacteria y de la cantidad de inóculo bacteriano.

5. Antimetabolitos:

Muchas bacterias son incapaces de obtener los productos necesarios para su replicación del medio y necesitan sintetizarlo de forma endógena a través de una serie de enzimas. Uno de estos productos es el ácido fólico. Algunos antibióticos como las sulfamidas y el trimetopim interfieren en su síntesis en diferentes fases. Estos grupos, suelen ser más selectivos, ya que las células eucariotas, por lo general, son capaces de obtener el folato del medio externo. Tienen acción bactericida.

El cotrimoxazol es la combinación de trimetopim y sulfametoxazol (sulfamida), actuando al mismo tiempo en dos fases distintas de la síntesis de folato y en consecuencia puede adquirir efecto bactericida por sinergia de sus dos componentes. Existen otras combinaciones para el tratamiento de toxoplasmosis o el paludismo.

Por otro lado, existen un grupo de fármacos, no considerados antibiótico, que son los antimicrobianos que bloquean los mecanismos de resistencia. Los más importantes son los inhibidores de β -lactamasas (5) (ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam), que normalmente carecen de actividad antibacteriana por sí mismos y por ello se utilizan combinados con un antibiótico. Su mecanismo de acción es diferente a los mecanismos anteriormente explicados, se une de forma irreversible a algunas β -lactamasas, protegiendo de su acción a los antibióticos β -lactámicos.

Es fundamental conocer los diferentes mecanismos de acción de los antibióticos para poder entender los mecanismos de resistencia, así como algunas de las alternativas para el tratamiento de patógenos infecciosos.

Principales grupos de antimicrobianos y representantes de éstos

Mecanismo de acción	Grupos	Antimicrobianos representativos	
Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana	β -lactámicos	Penicilinas	Naturales: penicilina G, penicilina V Resistentes a penicilinas: cloxacilina, oxacilina, meticilina Aminopenicilinas: ampicilina, amoxicilina Carboxipenicilinas: carbenicilina, ticarcilina Ureidopenicilinas: piperacilina, mezlocilina
		Cefalosporinas	1.ª generación: cefazolina, cefalotina 2.ª generación: cefuroxima, cefoxitina ^a , cefotetán ^a , cefaclor, cefamandol 3.ª generación: cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefixima, cefpodoxima 4.ª generación: cefepima, ceftiproma
		Monobactams	Aztreonam
		Carbapenems	Imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem Vancomicina, teicoplanina
Alteración de la membrana citoplásmica	Glucopéptidos Bacitracina Isoxazolidinonas Fosfonopéptidos Polimixinas Lipopéptidos Ionóforos		Fosfomicina Polimixina B, polimixina E (colistina) Daptomicina Tirocidinas Gramicidinas
		Formadores poros Acido fusídico	Acido fusídico
Inhibición de la síntesis proteica	Aminoglucósidos Anfenicoles Estreptograminas Lincosamidas Macrólidos		Gentamicina, tobramicina, amicacina, netilmicina Cloranfenicol, Tiamfenicol Quinupristina-Dalfopristina Clindamicina, lincomicina 14 átomos carbono: eritromicina, claritromicina, roxitromicina 15 átomos carbono: azitromicina (azálidos) 16 átomos carbono: espiramicina, josamicina, midecamicina Cetólidos: telitromicina
		Mupirocina Oxazolidinonas Tetraciclinas Gliciliclinas Quinolonas	Mupirocina Linezolid Tetraciclina, doxiciclina, minociclina Tigeciclina
			1.ª generación: ácido nalidíxico, ácido pipemídico
			2.ª generación: norfloxacino 3.ª generación: ciprofloxacino, levofloxacino 4.ª generación: moxifloxacino, gemifloxacino
Alteración del metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos	Rifamicinas Nitroimidazoles Nitrofuranos Sulfonamidas, Diaminopirimidinas	Rifampicina Metronidazol, ornidazol, tinidazol Nitrofurantoina, furazolidona Cotrimoxazol	
Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos		Trimetoprima sulfametoxazol	
Inhibidores de β -lactamasas		Acido clavulánico, sulbactam, tazobactam	

^a Algunos autores consideran que cefoxitina y cefotetán se deben incluir en el grupo especial de cefamicinas, por las diferencias en su espectro de actividad con respecto al de las cefalosporinas de segunda generación clásicas.

Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). *Mecanismos de acción de los antimicrobianos*

2.2 RESISTENCIA ANTIBIÓTICA: PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA MUNDIAL

La evolución progresiva y la aparición de nuevas resistencias, que durante décadas fueron obviadas, con el paso del tiempo adquirió un carácter preocupante cuando la OMS, CDC y numerosos medios de comunicación, empezaron a publicar alertas sobre el alcance de estas resistencias, hasta el punto de ser declarado como un problema de salud pública prioritario a nivel mundial.

En un documento titulado Antibiotic Resistance Threats in United States (2013) la CDC (Center of Disease Control and Prevention), ya se anunciaba que cada año en Estados Unidos se infectan por lo menos 2 millones de personas con bacterias resistentes a antibióticos y que, aproximadamente, 23.000 personas morían por estas infecciones (6). En España, según datos del registro de CMBD (Conjunto Mínimo Básico de Datos), mueren cada año unas 3.000 personas como resultado de infecciones hospitalarias por bacterias resistentes, datos que duplican en más del doble al número de muertes por accidentes de tráfico a nivel estatal (7).

El problema de las resistencias radica en que los antibióticos son los únicos fármacos cuyos efectos indeseables no afectan solamente a la persona que los consume sino que pueden tener consecuencias en otras, incluso mucho tiempo después de ser consumidos. Además, las cosas se complican aún más, cuando, ya no es solo el mal uso por parte de las personas, sino que, la utilización de estos antimicrobianos en otras industrias acelera la aparición de estas resistencias repercutiendo en el ser humano.

El uso inadecuado de los antibióticos produce en la persona que los consume una selección de los microorganismos resistentes de su flora comensal, matando los más sensibles y dando vía libre a aquellos con ventajas adaptativas y, por lo tanto, mucho más virulentos y difíciles de tratar. Este microorganismo dominante se disemina y perpetúa entre los contactos incluso en ausencia de presión antibiótica y puede acabar infectando a personas con patología de base produciendo lo que conocemos como infecciones oportunistas por cepas multirresistentes.

Esta realidad es tal que, a día de hoy, si el hongo *Penicillium* contaminase las placas Petri de *Staphylococcus* de Fleming, no se habría descubierto la penicilina. Esto es debido a que en su día, casi la totalidad de estas bacterias eran sensibles a este antibiótico, y en la actualidad lo son tan solo el 5-10% de las cepas (8).

Es, por lo tanto, indudable la necesidad de tomar cartas en asunto a nivel mundial y establecer medidas preventivas a todos los niveles (político, educacional, hospitalario...). Es responsabilidad de toda la sociedad comprometerse para frenar este devenir.

En esta revisión vamos a ir analizando todos los factores que rodean al problema, causas y consecuencias, implicaciones estatales, industriales, hospitalarias, planes de acción...con el fin de entender la situación actual y la necesidad inmediata de buscar nuevas opciones de tratamiento y evitar la era en la que las infecciones más comunes lleguen a ser de nuevo mortales.

“No action today, no cure tomorrow” Sharma, A . 7 Abril 2011 (9)

2.3 PAPEL DE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Nos encontramos ante un problema multifactorial, en el que no solo interviene el aumento de las bacterias resistentes por el mal uso de estos fármacos sino que, también, la falta de desarrollo de soluciones. Una de las industrias más fuertemente implicadas en este hecho es la industria farmacéutica. La realidad es que la pérdida de efectividad por parte de los antibióticos evoluciona mucho más rápido que los avances en investigación de fármacos, antibióticos u otras alternativas que ayuden a tratar o prevenir estas infecciones (10).

Después del avance que supuso el descubrimiento de Fleming, la industria farmacéutica centró grandes esfuerzos en investigación y desarrollo de los primeros antibióticos y sus derivados. Gracias a la efectividad que demostraron se llegó a pensar que las enfermedades infecciosas estaban a punto de ser eliminadas; reduciéndose notablemente el número de nuevos antibióticos aprobados y lanzados al mercado (11). En consecuencia, la industria cerró muchos de sus laboratorios de investigación dedicados a la búsqueda de antibióticos; en 1980, había más de 25 compañías farmacéuticas con laboratorios dedicados a la investigación de nuevos antibióticos; hoy, tan solo unos años más tarde, muy pocas de estas compañías mantienen estos programas de investigación (12,13).

Por lo tanto, la pregunta que nos hacemos a día de hoy, a sabiendas del problema, es: ¿por qué la industria farmacéutica ha abandonado la investigación en el desarrollo de antibióticos y de nuevos tratamientos contra las enfermedades infecciosas?

La principal razón de este abandono es el desinterés, fundamentalmente de naturaleza económica. El coste promedio de obtención de una nueva molécula con propiedades antibióticas de forma segura y eficaz se calcula en unos 1.000 millones de dólares (14); asumiendo que la inversión en otros fármacos fuese similar, parece obvio que es mucho más rentable invertir en tratamientos de duración más larga o crónica como por ejemplo, antidiabéticos o tratamientos contra el cáncer o algunos virus como la hepatitis C o el VIH.

Según muchos expertos en este tema, una de las soluciones radica en la colaboración económica público-privada a través de la creación de un nuevo modelo de negocio global sostenible que trabaje en el descubrimiento, desarrollo y distribución de nuevas terapias antimicrobianas.

2.4 MICROORGANISMOS: PATÓGENOS PRIORITARIOS RESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS.

Además de los antibióticos, como protagonistas de esta revisión están los microorganismos, más concretamente las bacterias y sus resistencias, de las que hablaremos en apartados más adelante. Por su parte, las bacterias son microorganismos procariotas unicelulares de pequeño tamaño y diferentes formas (esférica, “cocos”; alargada, “bacilo”; espiral, filamentosa...) que se reproducen por reproducción asexual (fisión binaria).

En la actualidad, debido al desarrollo de resistencias en respuesta adaptativa, hay familias de bacteria que por la rapidez o facilidad de diseminación de resistencias, la gravedad de las infecciones que provocan o el estrecho margen de tratamiento que queda para ellas, son de interés prioritario para la investigación.

En Febrero de 2017, la OMS publicó una lista de los microorganismos que actualmente necesitan de forma más inmediata la investigación y desarrollo de nuevos tratamiento (FIGURA 3). Se trata de una clasificación gradual en función de su riesgo potencial, que incluye una lista de las 12 familias de bacterias más peligrosas para nuestra salud (15).



3 RESISTENCIA ANTIBIOTICA:

3.1 ¿QUÉ ES LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA?

Según informes de la OMS, uno de los principales problemas que está viviendo la medicina en la actualidad es el desarrollo de resistencias a los antimicrobianos y por lo tanto superarlo o buscar alternativas supone un desafío crítico para la medicina moderna. Aunque nos vamos a enfocar en ello, este problema no se focaliza exclusivamente en las bacterias, sino que también afecta a otros microorganismos como virus (resistencias adquiridas a los antirretrovirales cada vez más prevalentes), hongos o parásitos.

La resistencia antibiótica se define como la capacidad de algunas bacterias de mantenerse refractarias a la actuación de algunos antimicrobianos a concentraciones alcanzables en la clínica.

La capacidad de resistencia de una bacteria puede ser natural, que es una propiedad específica de la bacteria, es decir, todas las bacterias de una misma especie tienen de forma intrínseca esta propiedad y que, en consecuencia, ya estaba presente en la era pre-antibiótica (16).

Esto ocurre por ejemplo cuando una bacteria es resistente por carecer de la diana de actuación de un supuesto antimicrobiano, por ejemplo los micoplasmas, que son resistentes a la actuación de las penicilinas por la ausencia de pared celular (17).

Otro ejemplo representativo, es la producción por parte del microorganismo de forma natural de beta lactamasas, como ocurre en el caso de *Klebsiella pneumoniae*, que es intrínsecamente resistente a las penicilinas (18).

La otra opción es la resistencia adquirida, que es la que realmente nos preocupa. Es aquella por la que una especie bacteriana adquiere a través de mutaciones genéticas capaces de alterar procesos fisiológicos o modificar estructuras celulares o bien, por transferencia horizontal de elementos genéticos móviles (plásmidos, bacteriófagos, integrones, trasposones....) y que supone que bacterias que previamente eran sensibles a un antimicrobiano dejen de serlo. En estos casos es necesario realizar un antibiograma porque no está presente en todas las bacterias de una misma especie. Un claro ejemplo es el del *Staphylococcus aureus*, que puede ser sensible o resistente a metilicina (SAMS vs SAMR).

La adquisición de nuevas resistencias ocurre de forma acumulativa de manera que muchas veces pueden llegar a ser resistentes a todos los antibióticos. En este punto conviene definir algunos conceptos (19):

- Microorganismo multirresistente (multidrug-resistant o MDR): es aquel que no es sensible al menos a un antibiótico de 3 o más familias diferentes.
- Microorganismo extensamente resistente (extremely drug-resistant o XDR): aquel que no es susceptible al menos a dos antibióticos de cada categoría

- Microorganismo panresistente (pandrug- resistant o PDR): aquel que es resistente a todos los antibióticos de todas las categorías.

La determinación de la sensibilidad de una bacteria a un determinado antibiótico se determina analizando su actividad *in vitro* en un laboratorio. Se realiza colocando al microorganismo en presencia de concentraciones variables del antimicrobiano que queremos estudiar con el fin de determinar su concentración mínima inhibitoria o CMI (concentración más baja capaz de inhibir el crecimiento del organismo *in vitro*). Para esto se utilizan métodos estandarizados (pruebas de dilución, pruebas automatizadas, pruebas de difusión, pruebas moleculares...), que el profesional sanitario interpretará para establecer el antibiograma.

3.2 ORIGEN Y PROPAGACIÓN DE LAS RESISTENCIAS ANTIBIÓTICAS:

Las resistencias antibióticas surgen cuando, en respuesta a la presión positiva que ejercen los antibióticos sobre las bacterias, estas mutan como mecanismos adaptativo, adquiriendo genes que las dotan de características que las confieren resistencia a dichos antibióticos. Sin embargo, las resistencias no surgen como algo nuevo; hace miles de años las bacterias, para sobrevivir a los efectos tóxicos que les producían unas sustancias liberadas por otras bacterias u hongos (antimicrobianos), desarrollaban mecanismos que se transmitían de generación en generación. Sin embargo, el gran problema aparece cuando este hecho se ve acelerado por el mal uso y abuso de los antibióticos (20).

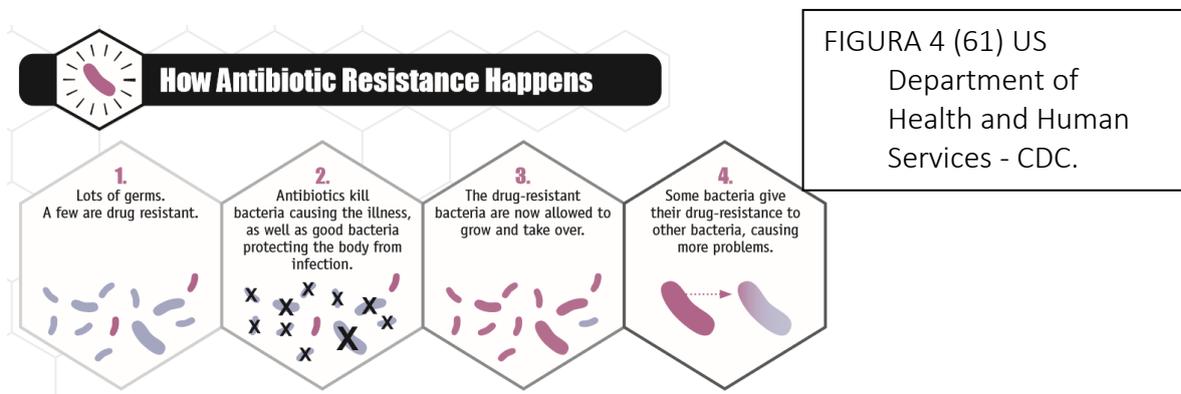


FIGURA 4 (61) US Department of Health and Human Services - CDC.

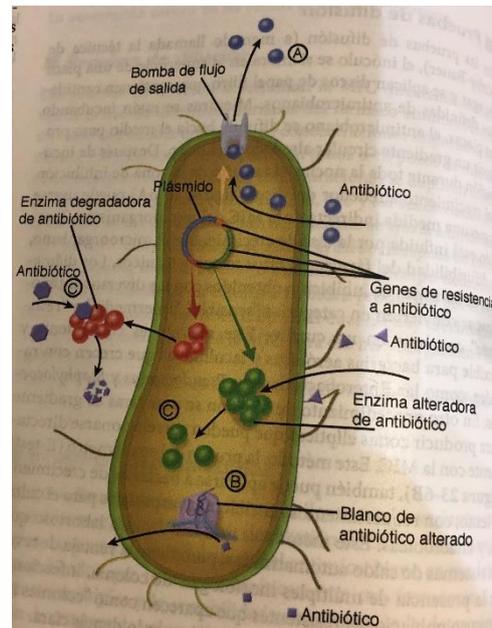
Por lo tanto, el fenómeno de la resistencia antibiótica tiene origen genético, de forma natural o adquirida. Estos genes de resistencia surgen o bien como una mutación adaptativa (mutaciones puntuales o recombinaciones genéticas) o bien a través de la adquisición exógena de genes que se transfieren de una bacteria a otra (21). Los mecanismos involucrados en el intercambio de ADN entre bacterias son los procesos de transferencia horizontal de genes, que se pueden producir por tres procesos diferentes: conjugación, transformación o transducción; siendo el primero de ellos el proceso *in vivo* más exitoso en caso de la diseminación de genes de resistencia para bacterias Gram negativas (22). Los genes de resistencia pueden transferirse formando parte de los elementos genéticos móviles o movilizables: plásmidos, integrones o transposones (22, 23) ANEXO 1.

3.3 MECANISMOS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE RESISTENCIA

Mecanismos moleculares:

Para entender bien el concepto de resistencia antibiótica, sus orígenes y su desarrollo, es importante aproximarnos a la interacción antibiótico-bacteria de forma molecular, haciendo un resumen de los diferentes mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de las resistencias antibióticas (26). De forma general, podríamos clasificar los mecanismos de resistencia en tres grupos:

FIGURA 5 (Kenneth J. Ryan) (5)
En esta imagen están representados los 3 mecanismos de resistencia antibiótica: bombas de eflujo (A), blanco alterado (B) inactivación enzimática (C)



1. Inactivación enzimática:

Es uno de los mecanismos moleculares más frecuentes en el desarrollo de resistencias, especialmente la inactivación por hidrólisis como ocurre en el caso de la resistencia de los betalactámicos a través de la producción de betalactamasas (ANEXO 2) que hidrolizan el enlace amida del anillo penicilánico o celosporánico, produciendo derivados ácidos sin capacidad antimicrobiana, y por lo tanto impidiendo su actuación.

Otras formas de inactivación enzimática puede producirse por modificación química mediante fosforilación, adenilación o la acetilación, esto ocurre, por ejemplo con los aminoglucósidos. La bacterias adquieren a través de plásmidos la capacidad de producir unas enzimas (acetiltransferasa, fosfatidiltransferasa, adenil transferasa) capaces de modificar a los aminoglucósidos impidiendo su unión a los ribosomas bacterianos.

2. Modificación de la diana de actuación:

Otro de los mecanismos de adquisición de resistencia a un antibiótico es la alteración del sitio de unión de este en la bacteria. A continuación se citan algunos ejemplos:

- Pared celular y betalactámicos: en condiciones normales los betalactámicos actúan uniéndose a las PBP, que son proteínas localizadas en la pared celular necesarias para su síntesis. Las mutaciones en estas proteínas o la adquisición de genes que sinteticen PBP diferentes, darán origen a resistencia a estos antibióticos. Esto ocurre, por ejemplo, en el *Streptococcus pneumoniae* que, a

través de una mutación, produce PBPs alteradas y esto le confiere resistencia a la penicilina e incluso a la ceftriaxona; en el caso del *Staphylococcus* meticilin resistente lo que ocurre es que la bacteria adquiere un gen productor de PBP2 responsable de la resistencia.

- Alteración en los ribosomas: en este caso pueden verse implicados diferentes antibióticos en función de la parte del cromosoma que este afectado: Subunidad 30 (aminoglucósidos), Subunidad 50 S (Macrólidos y lincomicinas)....

3. **Alteración de la permeabilidad o transporte celular;** con el fin de impedir que el antibiótico se acumule en el sitio de acción. Diferenciamos varios tipos:

- **Modificación de la entrada de antibióticos en la bacteria:**

Una de las formas de conseguir que un antibiótico sea menos efectivo es impidiendo que alcance su diana reduciendo la cantidad de sustancia que entra en el interior del microorganismo; esto se puede conseguir por diferentes mecanismos que vamos a ir analizando.

Las bacterias Gram negativas son intrínsecamente menos permeables a muchos antibióticos por el hecho de tener una membrana externa rica en lípidos que le confiere permeabilidad a sustancias hidrofílicas. Estas sustancias, tendrán la capacidad de penetrar a través de unas proteínas que se expresan en la membrana externa denominadas porinas. Algunos antibióticos como penicilina o vancomicina por su gran tamaño molecular son incapaces de atravesar estas porinas (resistencia natural). Por lo tanto, una bacteria reduciendo la expresión de estas proteínas o bien, generando canales más selectivos, puede adquirir resistencia a un fármaco. Normalmente este mecanismo, no suele conferir resistencia absoluta, sino dependiente de concentración; pero en el caso de que coexista con otra forma de resistencia podría incapacitar la acción del antibiótico (27).

Un ejemplo de nuevas resistencia por estos mecanismos, es lo que ocurre con algunas *Pseudomonas* y los carbapenemes. Esto ocurre por una mutación en el gen responsable de la porina OprD (que confiere sensibilidad especialmente al Imipenem), que disminuye la afinidad y el transporte del antibiótico a través de la porina, y por lo tanto disminuye la susceptibilidad de dicha bacteria a dicho fármaco. (28).

Otra opción es que la bacteria sea capaz de alterar la entrada de antibióticos cuando ésta es dependiente de energía generada por el gradiente de protones, esto puede ocurrir con algunos aminoglucósidos (26), cuya entrada a la bacteria se produce por un sistema de transporte acoplado al gradiente de protones, de manera que la alteración del gradiente electroquímico dificulta su entrada y acceso su diana.

- Aumento de la salida de antibióticos

La otra forma de generar resistencia es mediante la expulsión del antibiótico del interior celular o resistencia por eflujo, que se produce gracias a las bombas de eflujo. Las bombas de eflujo son sistemas de transporte situadas en la membrana y cuya función es la extrusión de sustancias tóxicas hacia el exterior, en caso de que estas sustancias sean antibióticos, con este mecanismo la bacteria consigue reducir la concentración intracelular del mismo. La mayor parte de bacterias tienen en su genoma genes que codifican proteínas para la formación de estas bombas. Cuando estas bombas de eflujo no son específicas y son capaces de transportar numerosos sustratos (incluyendo antibióticos) pueden ser las responsables de las multi-resistencias explicadas anteriormente (MDR bacteria) (28), estos genes además, pueden moverse a otra bacteria a través de vectores (plásmidos, bacteriófagos...)

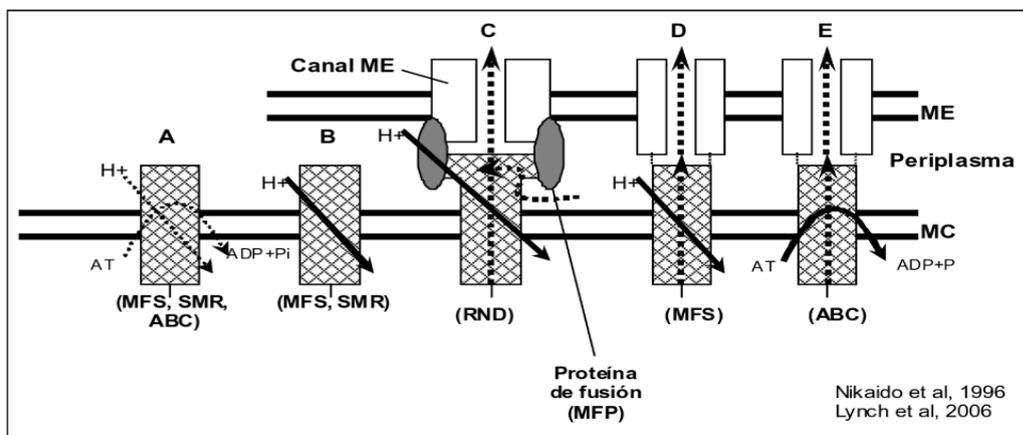


FIGURA 6 (Marchetti et al, 2011)(29)

En esta imagen vemos el esquema de los diferentes tipos de transportadores encargados del eflujo. A y B representan canales simples en bacterias Gram positivas (A) y Gram negativas (B) por gradiente de protones (MSF y SMR) o por hidrólisis de ATP (ABC). (C) (D) y (E) representan sistemas de secreción localizados en bacterias Gram negativas energizados por gradiente de protones (C y D) o bien, por hidrólisis de ATP (E).

Otras formas de resistencia:

Además de las formas de desarrollo de resistencia antibiótica molecular con base génica existen otros mecanismos por los cuales las bacterias pueden ser fenotípicamente menos sensibles a un antibiótico. Algunas de estas formas de resistencia son:

- 1) Factores de virulencia: formación de biofilms

Aunque siempre se relacione la formación de biofilms con algo negativo, no es siempre así, ya que existen biofilms con función protectora como puede ser a nivel vaginal,

formados por lactobacilus que regulan el pH vaginal y previenen la infección por otros microorganismos patógenos (como *Gardnerella vaginalis* u otros anaerobios). Sin embargo, existen numerosas evidencias que relacionan la formación de biofilms con procesos infecciosos y la cronificación de las mismas, directamente relacionado con la resistencia a los antibióticos de las bacterias que forman estos biofilms. Entre las numerosas razones por las que existe esta relación podemos incluir (30):

- La formación de una barrera fisicoquímica a la penetración del fármaco así como del sistema inmune del huésped.
- La disminución de la velocidad de crecimiento de las bacterias dentro del biofilm por las condiciones anaeróbicas de la zona más profunda, así como la limitación de necesidad de nutrientes. Algunos antibióticos como los betalactámicos actúan frente a bacterias en división, lo que supone que muchas veces el tratamiento en monoterapia de bacterias en un biofilms no sería efectivo por esta razón.
- La presencia de sustancias en el microambiente capaces de antagonizar la acción del antimicrobiano
- La adaptación fisiológica de las bacterias en respuesta a la situación de estrés, además del aumento de selección de mutaciones y de la transmisión horizontal de genes hace a estas bacterias mucho más fuertes y resistentes a la acción antimicrobiana, hasta el punto de que muchas de las bacterias se hacen MDR.

En consecuencia, la concentración mínima inhibitoria en estas infecciones puede incrementarse hasta 100-1000 veces más que en el caso de infecciones estándar sin formación de biofilm (31).

2) Indiferencia al fármaco:

Se trata de un fenómeno descrito por Walsh McDermott (32), y defiende el hecho de que un antibiótico no es tan efectivo como debería en bacterias que no se están dividiendo; de manera que, aquellas bacterias que no se encuentran en división por la razón que sea, son parcial o completamente resistentes a antibióticos bacterianos (33).

3.4 CAUSAS Y CONSECUENCIAS DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA:

La progresión natural de la resistencia antibiética se ha visto gravemente acelerada por numerosas **causas**; la fundamental y de la que siempre se habla: el uso inadecuado de antibióticos a nivel sanitario; sin embargo, no es ni mucho menos la única. Para poner soluciones y ejercer acciones preventivas, es necesario hacer una evaluación detallada de todos estos factores que influyen en esta rápida evolución.

1. Uso inadecuado de antibiótico en el sector sanitario:

La relación directa entre el consumo de antibióticos y el incremento de la frecuencia de las resistencias antibiéticas ha sido demostrada en numerosos estudios (34). No solo se trata de cuántos antibióticos se usan; sino que el uso inadecuado incluye otros elementos: cómo se usan (duración, dosis, indicaciones) cuáles se usan y cuándo.

El informe JIACRA (Joint Inter-agency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis) (35) ha sido el primer análisis integrado del consumo de antibióticos en España y su relación con la aparición de resistencias. En 2017 se publicó el segundo estudio con metodología mejorada con respecto al primero.

En este estudio se analizó el consumo de antibióticos tanto en atención primaria como a nivel hospitalario y su relación con la frecuencia de resistencias antibiéticas en España.

Atención Primaria: incluye datos obtenidos a partir de la receta oficial del SNS (Sistema Nacional de Salud) y datos de consumo de antibióticos por receta privada. Aunque para el informe JIACRA se excluyeron los datos de la receta privada por falta de datos.

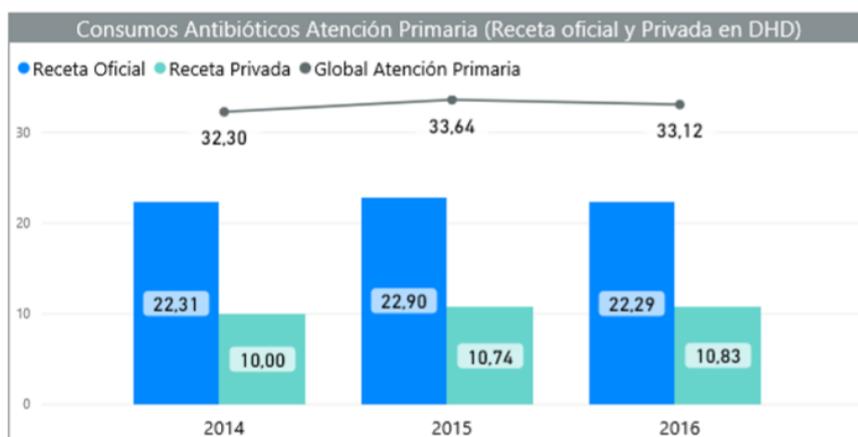


FIGURA 7 (35)
Informe JIACRA-
ES (2018)

*Evolución del
consumo de
antibióticos en
Atención
Primaria 2014-
2016. Global y
estratificado.*

En el ámbito de la Atención Primaria, el consumo de antibióticos se ha visto aumentado con los años de un 32,302 DHD (indicador DHD: DDD x 100 habitantes por día) en 2012 a un 33,12 DHD en 2016 (FIGURA 7), siendo la mayoría de dispensación pública.

Hospitalario:

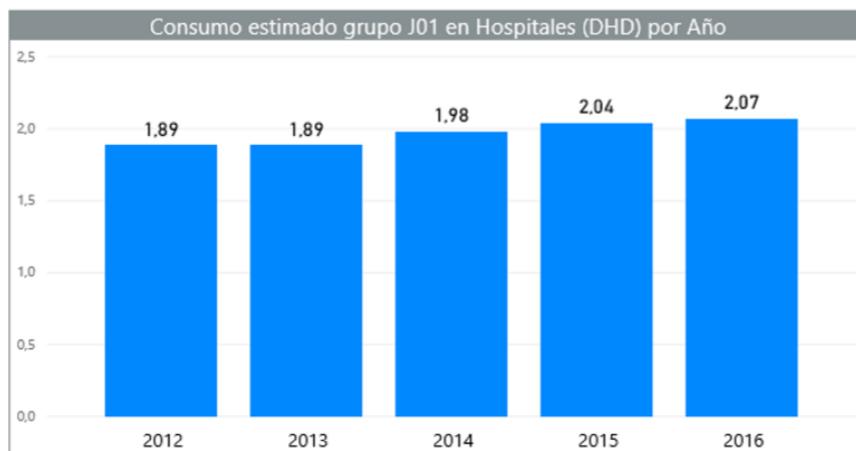


FIGURA 8 (35)
Informe JIACRA-ES
(2018)

*Evolución del
consumo de
antibióticos de uso
sistémico a nivel
hospitalario 2012-
2016*

El consumo de antibiótico a nivel hospitalario supone el 6% del total del consumo de antimicrobianos en España. En este estudio se observa (FIGURA 8) un aumento del consumo de 9,5% entre los años 2012-2016. Este incremento puede deberse, entre otras cosas, al aumento de las multi-resistencias a nivel hospitalario.

Teniendo en cuenta que también se utilizaron datos a nivel veterinario y la limitación que suponía para el estudio el uso de datos correspondientes a un periodo tan corto de tiempo, el informe JIACRA llegó a una serie de conclusiones entre las que se encuentran (35): en salud humana se encontró correlación entre el consumo de cefalosporinas de 3ª y 4ª generación a nivel hospitalario y la prevalencia de resistencias a cefotaxima en algunas cepas de *K. pneumoniae*; se encontró una correlación significativa entre el uso de carbapenémicos y el porcentaje de resistencia a algunos antibióticos como imipenem en algunas cepas de *K. pneumoniae* invasivas.

Por lo tanto, está claro que el aumento del uso de antibióticos ejerce un papel fundamental en el incremento del desarrollo de resistencias bacterianas; pero, como ya hemos nombrado, no solo es la frecuencia de consumo sino que también influye la forma de administración.

Los antibióticos mal prescritos también participan en la selección de cepas resistentes; según estudios, entre un 30-50% de los casos de tratamiento antibiótico están mal puestos en cuanto a indicación, tipo de fármaco y duración (36, 37, 38). Además, entre un 30-60% de los antibióticos puestos en UCIs (unidades de cuidados intensivos) son inapropiados, innecesarios o están puestos a niveles infra-terapéuticos (38).

El uso de tratamientos por debajo de sus niveles adecuados se ha relacionado directamente con el aumento de las resistencias, tanto al fármaco utilizado como a otras familias; esto se debe a que la bacteria, ante el estado de estrés que le genera el tratamiento antibiótico, genera radicales libres que inducen mutaciones que producen resistencia a otros antibióticos, en condiciones que ni siquiera están siendo letales para ella (39, 40).

La duración del tratamiento también afecta de forma directa: los tratamientos de duración menor son más seguros, más económicos, presentan menos efectos indeseables y además, disminuye el riesgo de selección de resistencias (41). Cada vez hay más estudios que apoyan una duración corta de tratamiento antibiótico; en muchas circunstancias, las bacterias mueren de forma temprana durante los primeros días de tratamiento, de manera que a partir del 3^{er} o 4^o día se empiezan a seleccionar las mutaciones (42, 43).

Los tratamientos más largos se relacionan con un aumento de bacterias multirresistentes, aumento de infecciones por *Clostridium difficile* y alteración de la microbiota del hospedador (42).

2. Falta de higiene y saneamiento deficiente:

El hecho de una higiene o un saneamiento deficiente participa expresamente en la diseminación de las resistencias más que en su desarrollo, por un hecho obvio, si las personas, especialmente personal sanitario, trata con un paciente portador o infectado por un germen resistente y no tiene una higiene adecuada, este patógeno va a diseminarse por el hospital de forma mucho más sencilla usando al responsable como vector. Lo mismo ocurre cuando el saneamiento de materiales o salas hospitalarias es deficiente. El mayor problema ocurre cuando el receptor es una persona inmunodeprimida y, en vez de colonizarse o enfermar de forma leve, desarrolla una enfermedad grave o intratable que le puede incluso llevar al fallecimiento.

3. Falta de desarrollo de nuevos tratamientos:

Como comentamos en el punto 2.3, dentro de las causas que fomentan el problema antibiótico, no solo se trata de un aumento en las resistencias sino que también afecta la ausencia o insuficiencia de soluciones, en relación con la falta de interés económico por parte de la industria farmacéutica.

En Septiembre de 2017, la OMS publicó un comunicado (*Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis*) advirtiendo de la grave falta de nuevos antibióticos para luchar contra la amenaza a la que nos enfrentamos. De hecho, la mayoría de los pocos fármacos que han salido en los últimos años al mercado son derivados de antibióticos ya existentes que aportan únicamente soluciones a corto plazo. En el informe se nombran 52 nuevos antimicrobianos, de los cuales, tan solo 8 son moléculas innovadoras (44).

El problema principal, se sitúa especialmente en la lista de bacterias que necesitan terapias nuevas de manera urgente (WHO), citada en el punto 2.4, añadiendo además, al *Mycobacterium tuberculosis* multi-resistente y extremadamente resistente. En la lista de la CDC (USA) incluyen también al *Clostridium difficile*.

4. Viajes internacionales:

Los movimientos migratorios y los viajes internacionales también ejercen un papel importante, especialmente en la diseminación de las resistencias; además este hecho

está favoreciendo la aparición de enfermedades que hasta ahora se delimitaban a ciertas zonas, lo que aumenta el consumo de antibióticos.

5. El uso de los antibióticos en otras industrias: ganadería, agricultura...

El problema se incrementa cuando, el uso de antibióticos va más allá de la salud humana alcanzando diversos sectores de la industria (veterinaria, ganadería, agricultura....) generando nuevas resistencias con capacidad de transmitirse al hombre. Trataremos este tema de forma más concisa en apartados más adelante.

Todo esto, trae consigo un efecto y una serie de consecuencias tanto directas, a nivel sanitario como indirectas a nivel de salud pública (45).

- Consecuencias directas:

El aumento de las resistencias antibióticas afecta de forma directa produciendo enfermedades más largas, aumento de la mortalidad, estancias hospitalarias prolongadas, disminución de la protección en los casos de pacientes que se enfrentan a algunos tratamientos médicos o intervenciones quirúrgicas y además, aumento de los costes sanitarios.

- Consecuencias indirectas:

Más allá de la repercusión sobre aspectos sanitarios, este problema supone también numerosas consecuencias indirectas por su repercusión en salud pública; afecta de forma indirecta a la economía mundial por la menor productividad secundaria a lo anteriormente citado (enfermedades más largas, hospitalización....), además de incremento en los costos de los tratamientos.

3.5 EL PAPEL DEL USO DE ANTIBIÓTICOS EN ÁMBITOS NO MÉDICO

La transferencia horizontal de genes puede ocurrir tanto entre cepas de un mismo género como entre aquellas que pertenecen a géneros diferentes. No solo eso, sino que además, esta transferencia genética tiene lugar entre bacterias de origen diferente (animal, humano....). Este hecho relaciona de forma directa la salud pública, la veterinaria y algunas industrias como la agrícola o la ganadera en las que se utilizan los antimicrobianos y las implica en el desarrollo y especialmente diseminación de las resistencias antibióticas.

Vamos a ir analizando brevemente la implicación de algunos de los sectores más responsables fuera del ámbito médico

Industria ganadera y salud animal:

El uso de antibióticos está ampliamente distribuido en el mundo animal, tanto con fines veterinarios como alimenticios (industria de la ganadería). Aunque infravalorada, la utilización de fármacos antibióticos de importancia médica dentro del mundo animal, tanto en sanos como en enfermos, participa muy directamente en la diseminación y

perpetuación del problema de las resistencias antibióticas, convirtiéndose en un factor de riesgo importante para la salud pública mundial. El peligro no se limita exclusivamente a los antibióticos de uso compartido: médico y animal, sino que aquellos que no son directamente necesarios para la salud humana, también generan resistencias transferibles, y por lo tanto, son igual de peligrosos (46).

En el mundo animal, el uso de fármacos antimicrobianos tiene numerosas aplicaciones, tanto prohibidas como permitidas: la utilización como profilaxis infecciosa incluso a dosis infra-terapéutica, el tratamiento directo de enfermedades o la obtención de alimentos que fomenten el crecimiento animal más rápido en la industria pecuaria y más nutritivos en la veterinaria. Todo esto genera residuos que pueden acabar en los alimentos destinados para nuestro consumo aumentando así la cantidad de antibióticos consumidos por las personas y además selecciona bacterias multirresistentes que pueden infectar o colonizar al ser humano (47).

Un estudio realizado en 2014 (48) confirmó la presencia de betalactámicos, tetraciclinas, macrólidos y aminoglucósidos en músculo bovino, haciendo necesaria la implantación de un control estricto de vigilancia de los alimentos destinados a consumo humano.

Por todo esto, muchas asociaciones como la FAO (Food and Agriculture Organization) , la OIE (organización mundial de sanidad animal) o la OMS luchan conjuntamente para controlar el consumo de antibióticos a estos niveles, tratando de reducirlo o buscar alternativas (vacunas, fagoterapia...(46)), además de vigilar la salubridad de los alimentos destinados a consumo humano (47).

Por su parte, la OMS recomienda reducir el uso sistemático de antibióticos en animales sanos en la industria alimentaria, piscicultura y agropecuaria. Además asegura que en algunos países hasta el 80% del consumo de antibiótico con importancia en el sector de la medicina se da en animales para aumentar su crecimiento; por lo tanto ha desarrollado una serie de recomendaciones para frenar y controlar la repercusión de estas industrias en el problema (49):

1. Reducción general del uso de todas las clases de antibióticos de importancia médica en los animales destinados a la producción de alimento.
2. Restricción completa del uso de todas las clases de antibióticos de importancia médica para estimular el crecimiento de los animales destinados a la producción alimentaria.
3. Restricción de antibióticos con el fin de prevenir enfermedades infecciosas que aún no han sido diagnosticadas clínicamente en los animales destinados a la producción de alimento.
4. En presencia de enfermedad se propone que los antimicrobianos considerados críticos para la medicina humana no deben utilizarse para controlar la propagación de enfermedades infecciosas diagnosticadas clínicamente en grupos de animales destinados a la producción de alimentos y que los antimicrobianos considerados de importancia crítica y de máxima prioridad para la medicina humana no deben utilizarse en tratamiento de animales destinados a la producción de alimentos con enfermedades infecciosas diagnosticadas.

Además añade que toda nueva clase de antibiótico o nueva combinación creada para su uso en humanos se considera de importancia crítica y que los fármacos de importancia médica que no se usen ya para la producción de alimentos no deberán utilizarse en el futuro para ese fin.

Industria agrícola

El sector agrario también representa un papel interesante a la hora de analizar el problema que nos ocupa: indirectamente, por la repercusión de la ganadería y sus residuos; y directamente, por la utilización de fertilizantes contaminados o por el uso de antibióticos para prevenir daños producidos por bacterias en los cultivos vegetales.

En este caso ocurre lo mismo que con la industria ganadera, una reducción de la misma llevaría implícito una disminución de la contaminación de la tierra y en consecuencia de los alimentos, además de la necesidad de promoción y regulación del uso de fármacos en el ámbito de la agricultura.



FIGURA 9 (50):

La implicación de agricultura y ganadería en el desarrollo de resistencias están relacionados entre sí: el uso de antibiótico en la industria cárnica genera bacterias multirresistentes en los animales. El ser humano puede ingerir carne de estos animales o bien tomar verduras o frutas contaminadas por aguas o fertilizantes con heces animales en las que hay estas bacterias resistentes.

3.6 PROBLEMA FUTURO: ESTUDIO SOBRE EL AVANCE DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

Los efectos de las acciones actuales tendrán graves repercusiones en el futuro; sin embargo, ya están empezando a mostrarse, en mayor o menor medida, algunas de las manifestaciones perjudiciales. Según la CDC, las infecciones por microorganismos multirresistentes son responsables de más de 50000 muertes al año en Estados Unidos y Europa juntos, muchos más en el resto de países.

Se están empezando a ver en Europa numerosos pacientes en unidades de hematología, cuidados intensivos o en pacientes trasplantados, infecciones sin opción de tratamiento, es decir infección por microorganismos pan-resistentes. En los países subdesarrollados, lo que más preocupa, es el incremento de las resistencias en infecciones como la tuberculosis, malaria o el VIH.

Según la OMS (51) la tuberculosis está entre las 10 causas que más muertes produce en el mundo. En 2017 fue la responsable de entre 1.2-1.4 millones de muertes en pacientes VIH negativos, añadiendo unos 266.000-335.000 pacientes más, entre las personas VIH positivo. Aproximadamente entre 9.0-11.1 millones de personas desarrollaron tuberculosis en este mismo año. De entre todos estos casos 2/3 ocurrieron en 8 países, por orden de frecuencia: India, China, Indonesia, Filipinas, Pakistán, Nigeria, Bangladesh y Sudáfrica; tan solo el 6% de todos los casos pertenecían a Europa y América. La TBC resistente a fármacos sigue siendo un problema público mundial. De todos estos casos comentados anteriormente, entre 483.000-639.000 eran casos de tuberculosis resistente a rifampicina; y de todos estos hasta el 82% eran multi-resistentes (TB-MDR).

En cuanto al VIH, otro informe publicado por la OMS (52), advierte del riesgo de las resistencias en algunos casos producidos por este virus. Data que en 11 países de África, Asia y América Latina más del 10% de los individuos que siguen el tratamiento están infectados por alguna cepa de VIH resistente a los principales fármacos. Estima que de los 36,7 millones de personas VIH positivas en el mundo, aproximadamente 19,5 millones están afectados.

Si la resistencia antibiótica sigue las tendencias de crecimiento que han llevado hasta la fecha y no se toman medidas en el asunto, se estima que para 2050 las muertes por microorganismos multirresistentes podrían ser responsables de hasta 10 millones de muertes anuales, es decir, una persona cada tres segundos y un coste económico global de hasta 100 trillones de dólares (53,54). Las muertes por MDR microorganismos serán la primera causa de muerte, por encima del cáncer, los accidentes de tráfico y las diarreas.

DEATHS ATTRIBUTABLE TO AMR EVERY YEAR

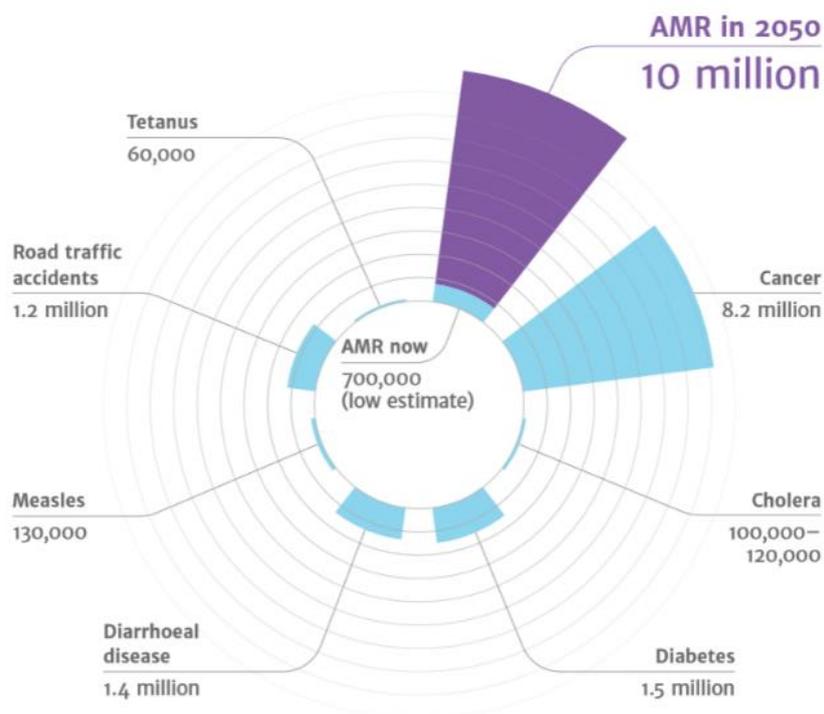


FIGURA 10:

Grafica que muestra el número de muertes atribuibles a microorganismos multirresistentes en la actualidad y en 2050

Sources:
 Diabetes: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs1312/en/ Cancer: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs1397/en/
 Cholera: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/en/ Diarrhoeal disease: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673612617280
 Measles: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673612617280 Road traffic accidents: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs1351/en/
 Tetanus: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673612617280

Review on Antimicrobial Resistance

3.7 PREVENCIÓN DE LA EVOLUCIÓN LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

Salta a la vista la necesidad de tomar cartas en el asunto para frenar dicho problema. La OMS junto con las Naciones Unidas, en colaboración con otras asociaciones como la FAO (Food and Agriculture Organization) y la OIE (organización mundial de salud animal), en la Asamblea Mundial de Salud de 2015 expusieron la magnitud de esta crisis y propusieron la elaboración de un **Plan de acción mundial** (55) cuyo propósito era poner en marcha planes de acción a nivel Nacional con participación multisectorial (salud humana, veterinaria, agricultura, finanzas, medioambientales...).

En este plan de acción mundial se establecieron cinco objetivos principales (56):

- **OBJETIVO 1:** mejorar la concienciación y la comprensión con respecto a la resistencia antibiótica a través de una educación, formación y comunicación adecuada y efectiva.
- **OBJETIVO 2:** a través de la vigilancia y el desarrollo e investigación (I +D) reforzar los conocimientos y la base científica.
- **OBJETIVO 3:** reducir la incidencia de infecciones a través de medidas eficaces de higiene, saneamiento y prevención.
- **OBJETIVO 4:** usar de forma adecuada los antibióticos tanto en salud humana como en animal.
- **OBJETIVO 5:** desarrollo de argumentos económicos a favor de una inversión sostenible en función de las necesidades de todos los países y aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios diagnósticos, vacunas y otras formas de intervención.

Por su parte España, siendo uno de los países de la Unión Europea con un mayor consumo de antimicrobianos en Salud Humana y en Animales, ha desarrollado su propio Plan de Acción Nacional.

El 4 de marzo de 2019, el Consejo Interterritorial aprobó el segundo **Plan de acción Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN)**, cuyas acciones prioritarias dan continuidad a las establecidas en el primer plan de acción (2014-2018) para la reducción del consumo de antibióticos y la disminución de la necesidad de su uso en ámbitos humanos y animales (57). Para ello centra sus esfuerzos en seis líneas estratégicas: vigilancia, control, prevención, investigación, formación y comunicación; y el concepto de “one health” o de “una única salud” que consiste en la cooperación de todos los sectores en esta lucha, haciendo participar a todas las Comunidades Autónomas, 8 ministerios diferentes, 70 sociedades científicas, más de 300 expertos y diferentes organizaciones colegiales, profesionales y universitarias.

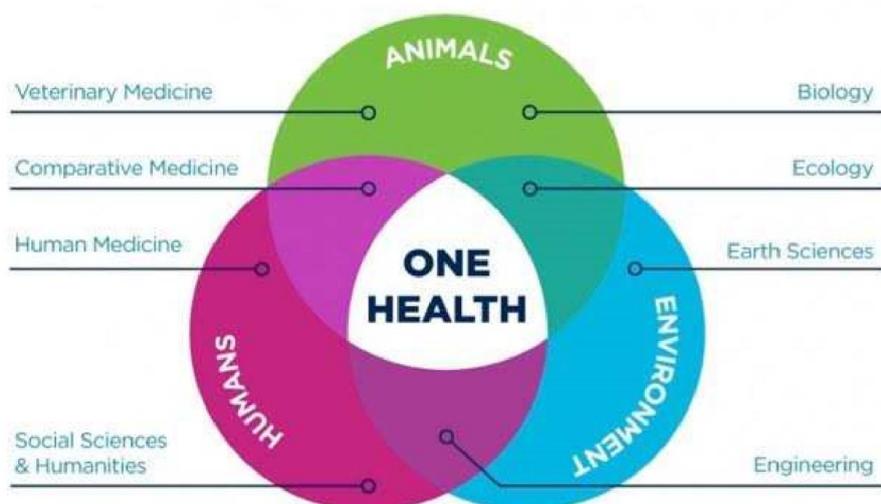


FIGURA 11 (58): ONE HEALTH

Sectores que participan en el plan contra la resistencia como un problema de salud pública multisectorial y común.

Gracias a todas las acciones implementadas por el primer PRAN se ha conseguido una disminución del 4,41% en el consumo de antibióticos en salud humana desde 2015 y una reducción del 21% en las ventas de antibióticos en el ámbito veterinario (58).

Entre las muchas acciones llevadas a cabo por el PRAN podemos destacar algunas como el Programa de Reducción de Colistina, que ha conseguido una reducción del 82% del consumo de ésta en el sector porcino (58) o la implementación **de Programas de Uso optimizado de Antibióticos en Hospitales y Atención Primaria (PROAS)**, que empezó funcionando solamente en algunos centros y en la actualidad se está tratando de implementar de forma generalizada en todos los Hospitales principales.

- **Programas de optimización del uso de antibióticos (PROA)**

Ante la necesidad, tanto a nivel hospitalario como en Atención Primaria, de la correcta utilización de los antibióticos el PRAN propuso establecer los PROA o Programa de Optimización de Antibióticos. Se trata de unos sistemas que tratan de mejorar la calidad asistencial y cuyos objetivos son: mejorar los resultados clínicos en pacientes con infecciones, minimizar los efectos adversos y asegurar la administración de tratamientos costo-eficaces (59).

Los PROA están formados por equipos multidisciplinares formados por médicos (especializados en enfermedades infecciosas, intensivistas, preventivistas, farmacólogos...) junto con farmacéuticos que tratan de dar soporte a los sanitarios prescriptores a la hora de tomar decisiones sobre tratamientos antibióticos, a través de medidas formativas y educativas más que restrictivas y paternalistas (60).

4. NUEVAS TERAPIAS:

La inversión en investigación y desarrollo, como he recalcado durante toda la revisión es, junto con la prevención, el pilar fundamental para frenar el fin de la era antibiótica.

4.1 DESARROLLO DE NUEVOS ANTIMICROBIANOS:

Además de nuevas alternativas de tratamiento, hasta que se consiga una opción potente, gran parte de la fuerza de la industria implicada en resistencias se focaliza en desarrollar nuevos antibióticos, la mayoría derivados de los ya existentes o de familias ya conocidas.

Por razones obvias, la inmensa parte de las moléculas sacadas al mercado durante los últimos años van dirigidas y se reservan para aquellos microorganismos que la OMS declaró como patógenos prioritarios (FIGURA 3; punto 2.4), especialmente aquellos pertenecientes al acrónimo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y grupo *enterobacteriaceae*) (60) Vamos a citar algunos de los fármacos que, por sus características son mucho más prometedores en la lucha contra la resistencias.

Recientemente se han aprobado en España dos fármacos con un espectro de sensibilidad esperanzador: **ceftazidima-avibactam y ceftolozano-tazobactam**(65).

- **Ceftalozano-tazobactam (Zerbaxa):** indicado para infecciones intra-abdominales complicadas e infecciones urinarias complicadas y pielonefritis aguda. Cubre enterobacterias, bacilos Gram negativos no fermentadoras como *Pseudomona aureginosa* (no incluye *Stenotrophomonas maltophila* o *Acinetobacter*), algunas bacterias exigentes en sus necesidades nutricionales y algunos estreptococos y excepcionalmente anaerobios.
- **Ceftazidima-avibactam (Zavicefta):** indicado para lo mismo que el anterior, incluyendo neumonía nosocomial (incluyendo asociada a ventilación mecánica) e infecciones por Gram negativos aerobios en aquellos pacientes con alternativas limitadas. Cubre enterobacterias productoras de BLEE, betalactamasas AmpC o carbapenemasas, además de *Pseudomona aureginosa*.

Los beneficios que aportan estos nuevos fármacos respecto a otros es que gracias a la presencia de Tazobactam y Avibactam tienen la capacidad de inhibir betalactamasas, incluso de espectro extendido (FIGURA 12).

Betalactamasas inhibidas potencialmente por estos antibióticos

Betalactamasas	Ceftalozano/ tazobactam	Ceftazidima avibactam
Clase A, incluyendo BLEE (CTX-M, SHV y TEM)	✓	✓
Clase A, carbapenemasas (KPC)	x	✓ *
Clase B, metalobetalactamasas-carbapenemasas- (VIM, NDM,IMP)	x	x
Clase C cefalosporinas(AmpC)	x	✓
Clase D, carbapenemasas oxacilinasas (OXA-48)	x	✓
Clase D, carbapenemasas oxacilinasas (OXA-23, -24, -58,-143,-235)	x	x

FIGURA 12 (64). Betalactamasas potencialmente inhibidas por estos nuevos antibióticos. *Ya se han descrito resistencias a ceftazidima/avibactam por *K. pneumoniae* productor de carbapenemasas de clase A (66).

Entre otros ejemplos de antibióticos aprobados en los últimos 8 años se encuentran (67):

- **Ceftarolina:** cefalosporina de 4º generación con actividad frente a SARM e incluso frente a cepas con sensibilidad intermedia a vancomicina. Aprobada como tratamiento para infección de piel y partes blandas y neumonía adquirida en comunidad.
- **Oritavancina:** antibiótico del grupo de los glucopéptidos con actividad frente a grampositivas (incluyendo SARM), estafilococos coagulasa negativos y enterococos y aprobado también para infección de piel y partes blandas y neumonía adquirida en comunidad.

- **Dalbavancina**: otro glucopéptido con el mismo espectro que el anterior, aprobado solamente para infección de piel y partes blandas.
- **Fidaxomicina**: antibiótico bactericida aprobado para el tratamiento de la diarrea asociada a la infección por *Clostridium difficile*.

4.2 ALTERNATIVAS AL USO DE ANTIBIÓTICOS:

A pesar del poco esfuerzo de los pasados años, cada vez con mayor interés se está investigando en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas para las enfermedades infecciosas, tanto de forma profiláctica como por ejemplo con el desarrollo de vacunas, como de forma curativa como puede ser el caso de la fagoterapia.

A continuación voy a analizar las múltiples opciones que se están barajando actualmente en la investigación. Algunos, en fase clínica (anticuerpos, probióticos, vacunas, bacteriófagos...) y otros en fase preclínica (péptidos antimicrobianos, péptidos antibiofilm) (62); aunque la mayoría llevan ya más de una década desde que se descubrieron han tardado en llevarse al mercado por razones no muy claras (63).

- **Nuevas terapias moleculares:**
- **Fagoterapia: bacteriófagos**

La fagoterapia es la utilización de bacteriófagos en el tratamiento de enfermedades, en nuestro caso, de etiología infecciosa. Los fagos actúan como otros virus, se unen a la superficie bacteriana y le inyectan el material genético. Este material se replica aprovechando los sistemas de reproducción de la propia bacteria y luego a través del ciclo lítico (tras la duplicación, la bacteria se lisa y permite la salida de virus al exterior) o lisogénico (el genoma viral se integra en al bacteriano y se transmite en la división celular) el virus se perpetúa y se replica (68). La fagoterapia supone el aprovechamiento del ciclo lítico del virus para matar a la bacteria; cada fago es específico de un género o incluso especie bacteriana diferente (69).

La utilización de la fagoterapia se remonta a hace más de 80 años, sin embargo, su evolución se vio frenada por el descubrimiento de los actuales antibióticos. En algunos países del este Europea como Polonia, Unión Soviética y Georgia, debido a su dificultad, principalmente económica, de la obtención de antibióticos, la utilización de esta terapia siguió creciendo (70), lo que supone que la mayoría de estudios europeos en este campo pertenezcan a estos países. Algunos de estos estudios, aunque sin aleatorizar ni constituyendo parte de ensayos clínicos controlados, han demostrado de forma muy prometedora la eficacia de estos tratamientos en pacientes que presentan bacterias que no responden a la terapia antibiótica. Por ejemplo, en un estudio realizado en pacientes con cáncer y bacteriemia en los que el tratamiento antibiótico había fallado, la administración de fagos permitió la curación (71).

- **Péptidos antimicrobianos:**

Los péptidos antimicrobianos son oligopéptidos con un número variable de aminoácidos (desde cinco hasta cientos) y que tienen amplio espectro de acción contra numerosos patógenos (bacterias, virus, parásitos....)(72). Tienen un mecanismo de acción muy variable, algunos son permeabilizadores cuyo mecanismo de acción es alterar la permeabilidad de la membrana plasmática; mientras que, otros son los no permeabilizadores que actúan a otros niveles como por ejemplo en los ácidos nucleicos o en la síntesis, traslocación y plegamiento de proteínas (73). Su gran ventaja con respecto a otros tratamientos es su amplio espectro frente a numerosas bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, su escasa capacidad de generar resistencias y su poca inmunogenicidad. Sin embargo, hay pocos ensayos sobre farmacocinética y farmacodinamia, y además, no hay ninguno que demuestre su efectividad a nivel sistémico (62).

- **Bacterias depredadoras:**

Se ha visto que algunas bacterias como por ejemplo *Bdellovibrio bacteriovorus*, tienen la capacidad de raptar a los microorganismos responsables de una infección y así combatir la misma. Actúan atacando a la bacteria presa, se incrustan en sus membranas, se replica y genera filamentos que envuelven a las bacterias patógenas hasta matarlas (73).

- **Bacteriocinas:**

Las bacteriocinas son sustancias de naturaleza proteica sintetizadas por bacterias y secretadas al medio extracelular que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de otros microorganismos como por ejemplo *E. coli* o *S. aureus*.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS BACTERIOCINAS	
Origen	- Origen ribosomal: péptidos extracelulares producidos por bacterias Gram positivas y Gram negativas. - Se estima que el 99% de las bacterias son capaces de sintetizar cuando menos una bacteriocina.
Efectos	- <i>In vitro</i> : no tóxica para líneas celulares normales; tóxica para células cancerosas. - <i>In vivo</i> : no estimula el sistema inmune; no tóxico en modelos animales y humanos (se inactivan por proteasas digestivas).
Espectro de acción	- Pueden actuar contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. - Algunas bacterias patógenas susceptibles son <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Cl. botulinum</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Ent. fecalis</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Modo de actividad	- Bactericida, bacteriostático y fungicida.
Mecanismo de acción	- Permeabilización de la membrana (pérdida del potencial de membrana, consumo de reservas energéticas celulares, disminución en la síntesis de DNA, RNA y proteínas). - Lisis celular.
Estructura química	- Péptidos; glicoproteínas y lipoproteínas.
Peso molecular	- Gram negativas: son de tamaño muy variable y pueden alcanzar hasta los 80kDa. - Gram positivas: por lo general su tamaño es menor a los 10kDa, aunque se han reportado valores más altos. - Archa: su tamaño puede llegar a alcanzar aproximadamente los 20kDa.
Carácter	- Hidrofóbico. - Anfipático.
pI	- De 8,1 a 10,0
Localización de genes que codifican para las bacteriocinas	- Plásmidos. - Cromosomas. - Transposones; ambos (plásmidos y cromosomas).
Sensibilidad a enzimas	- Todas son sensibles a las enzimas proteolíticas, tales como la pepsina, tripsina y pronasa.
Sensibilidad a temperaturas	- Compuestos termoestables; la mayoría soporta 100-121°C durante 15-30min.
Sensibilidad a pH	- La mayoría de las bacteriocinas son estables en el intervalo de pH de 3,0 a 9,0

BAL: bacterias ácido lácticas, pI: punto isoeléctrico. Adaptado de Vázquez *et al.* (2009), Józefiak y Sip (2013), Bemena *et al.* (2014), Veskošić *et al.* (2014) y Favaro *et al.* (2015).

FIGURA 13 (75): Características generales de las bacteriocinas.

- **Sistemas CRISPR:**

El sistema CRISPR/Cas9 (Clustered Regulatory Intercpaced Short Palindromic Repets/ CRISPR asociated system o lo que es lo mismo Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas/ sistema asociado a CRISPR) es una herramienta que permite editar el código genético. Se trata de aprovechar este sistema para que ataque al genoma de las bacterias patógenas (73).

- **Otros: liposomas o trampas de lípidos** que tratan de usarse como cebo para las toxinas bacterianas o bien el uso de **metales** (cobre, plata...) para atacar a las bacterias, aunque son demasiado tóxicos para ser utilizados, a excepción del galio que es más seguro para el ser humano.

- Inmunoterapia:

- **Vacunas:**

El uso de vacunas como profilaxis es sin duda la opción más exitosa hasta el momento en el control de enfermedades infecciosas (76). El desarrollo de nuevas vacunas permite la reducción del uso de antimicrobianos. Actualmente están en estudio algunas vacunas contra ciertas bacterias, por ejemplo contra el *C. difficile* o la *P. aeruginosa* (62).

- **Anticuerpos:**

La patología infecciosa proporciona una amplitud de dianas para el tratamiento con anticuerpos mononucleares, por lo que se trata de una alternativa con un potencial de explotación muy rentable (77). Su mecanismo de acción se fundamenta en la inactivación del patógeno directamente, de sus toxinas o de sus factores de virulencia. Son tratamientos con una historia larga en su utilización y por lo tanto con un riesgo más bajo. Se están estudiando anticuerpos dirigidos al *C. difficile* (Bezlotoxumab), *P. aureginosa*, *S. aureus*... (62)

- **Probióticos:**

El uso de probióticos consiste la administración enteral de microorganismos vivos para beneficio del hospedador. Los probióticos estimulan la flora bacteriana propia del huésped y además, modulan positivamente la inmunidad de la mucosa intestinal (78).

Los microorganismos más usados en la actualidad como probióticos son los miembros del género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. La enfermedad infecciosa con mayor interés en el desarrollo de probióticos es la diarrea asociada a *C. difficile*.

- **Estimulación inmune:**

Una buena respuesta inmune ayuda al éxito de la respuesta antibiótica, de manera que se plantea la opción de estimular el sistema inmune de forma complementaria al tratamiento antimicrobiano para garantizar una mejor respuesta. La utilización de vitamina D y butirato de fenilo son dos opciones posibles, sin conocerse completamente por el momento los mecanismos por los que estas sustancias ejercen su función (62).

5. CONCLUSIONES:

1. El desarrollo de las resistencias antibióticas supone una preocupación para la medicina moderna hasta el punto de haber sido declarado por la OMS como un problema de salud prioritario a nivel mundial.
2. Para poder entender y evaluar la situación y buscar alternativas al uso de antibióticos es necesario conocerlos mecanismos moleculares de acción y del desarrollo de las resistencias
3. El problema de las resistencias antibióticas tiene una etiología multifactorial y multisectorial. El mal uso y abuso de antimicrobianos encabeza la lista de causas. La falta de higiene y saneamiento deficiente, el escaso desarrollo de nuevos tratamientos y el desinterés fundamentalmente de origen económico de la industria farmacéutica en el tema, el aumento de los viajes internacionales y los movimientos migratorios o la utilización de estos fármacos en sectores extrahospitalarios (ganadería, agricultura, veterinaria...) forman parte de la larga lista de factores que aceleran dicho problema.
4. El aumento de la mortalidad, estancias hospitalarias y enfermedades más largas, el aumento de los costos sanitarios y extra-sanitarios o la afectación económica que supone a nivel estatal por falta de productividad, son algunas de las consecuencias ligadas al problema de la resistencia antibiótica.
5. Si la evolución de las resistencias antibióticas sigue el camino que lleva hasta el momento se estima que para el año 2050 las muertes por microorganismos multirresistentes podrían ser responsables de hasta 10 millones de muertes anuales, siendo, en su caso, la primera causa de muerte por encima de las enfermedades neoplásicas o los accidentes de tráfico.
6. Para solucionar este devenir hay que actuar a múltiples niveles (hospitalario, político, educacional...) para desarrollar campañas educativas a nivel poblacional, además de fortalecer las medidas preventivas en todos los sectores.
7. Además de la prevención es necesario buscar soluciones que incluyan la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos y de otras terapias alternativas como pueden ser las vacunas, la fagoterapia o los anticuerpos monoclonales entre otras.

6. ANEXO 1: ELEMENTOS GENETICOS MOVILES

Los elementos genéticos movilizables a partir de los cuales se pueden transmitir genes de resistencia antibiótica y por lo tanto diseminación de las mismas son:

- **Plásmidos:** moléculas de DNA presentes en las bacterias en número variable, extracromosómico y autorreplicativo. No suelen llevar información básica para el desarrollo y crecimiento bacteriano sino que aportan ventajas adaptativas; entre ellas, genes de resistencia antibiótica o factores de virulencia. Una de las primeras cepas resistentes documentada fue la *Shigella flexneri* portadora de genes contenidos en plásmidos que se denominaron factores R (22,24).
- **Transposones:** elementos genéticos con capacidad para moverse entre el cromosoma bacteriano, plásmidos o fagosomas gracias a una recombinasa específica; frecuentemente llevan genes de resistencia.
- **Integrones:** elementos genéticos dinámicos, que, por mecanismos de recombinación específicos, consiguen acumular una combinación de genes estructurales organizados como un operón; pueden contener genes de resistencia antibiótica (25).

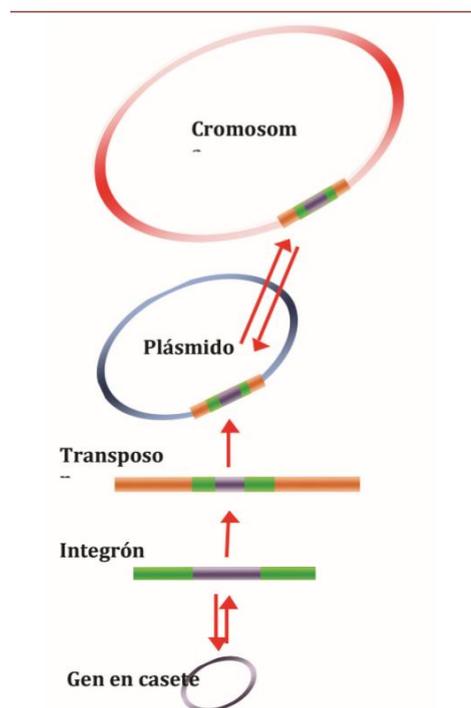


FIGURA 14 (79)

Esquema de los elementos móviles

7. ANEXO 2: BETALACTAMASAS

Las betalactamasas son enzimas (proteínas globulares) producidas por algunas bacterias (especialmente Gram negativas), que actúan hidrolizando el enlace amida del anillo betalactámico presente en los antibióticos del grupo de los betalactámicos (penicilina, carbapenemes, monopenem, cefalosporinas) inactivando su acción antimicrobiana.

La primera que se aisló cuando se descubrieron cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a penicilina, y se comprobó *in vitro*, que era capaz de inactivar la penicilina por medio de una sustancia que denominaron penicilinasa. Hasta el momento, se han descrito más de 300 betalactamasas, que difieren entre ellas en su diana de actuación, en las sustancias que son capaces de inhibirlas y en su estructura molecular; algunas son codificadas por plásmidos, mientras que otras son de origen cromosómico. En este anexo, vamos a ver las diferentes formas de clasificación en función de todas estas características anteriormente citadas y vamos a hacer un breve comentario sobre algunas betalactamasas de interés a día de hoy por su implicación en el desarrollo de multi-resistencias.

Clasificación de las betalactamasas:

En la actualidad, para organizar los diferentes tipos de betalactamasas, se usan principalmente dos clasificaciones distintas; la primera, más estructural, propuesta por Ambler (80), divide a estas enzimas en cuatro clases (A,B,C y D) y la segunda, una clasificación más funcional, propuesta por Bush (81,82) las divide en cuatro grupos (1,2,3 y 4).

1) Clasificación de R. P. Ambler:

Fue propuesta por primera vez en 1980 por R. P. Ambler (80). Entre las diversas propiedades de las betalactamasas, tuvo en cuenta especialmente la estructura molecular de estas enzimas, incluyendo su peso, estructura tridimensional y sobre todo su secuencia de aminoácidos específica.

Con todo esto dividió las diferentes betalactamasas en 4 clases diferentes:

- CLASE A: son serinproteinas. El prototipo es la enzima TEM 1. Están codificadas por plásmidos y su peso molecular ronda los 25-30 kDa.
- CLASE B: son metaloproteasas, porque necesitan un cofactor metálico, normalmente el ion zinc, para hidrolizar el betalactámico. Suelen estar codificadas por plásmidos y su peso molecular es un poco menor que las de clase A.
- CLASE C: son serinproteasas. Codificadas por el cromosoma bacteriano y son inducibles por el tratamiento con betalactámicos. Su peso molecular es mayor que los dos grupos anteriores, rondando los 40 kDa.
- CLASE D: son también serinproteasas. Codificadas por plásmidos y peso molecular entorno s 2530 kDa. Comprende un grupo de enzimas que hidrolizan la oxaciclina (OXA-1, OXA2...)

2) Clasificación de Bush, Jacob y Mendeiros:

En el año 1989 Bush (81) propuso una forma de subdividir las betalactamasas de forma mucho más funcional, teniendo en cuenta, además de las propiedades moleculares, el sustrato sobre el que actúan y la propiedad de ser inhibidas por algunas sustancias como ácido clavulánico o EDTA (ácido dietilaminotetraacético). Años más tarde, en 1995 (81), esta clasificación fue revisada por Bush, Jacob y Mendeiros (82) y 15 años después supervisada y actualizada de nuevo por los dos primeros.

Según esta clasificación, las betalactamasas quedan divididas en 4 grupos, que se relacionan más fenotípicamente con lo que se ve en la clínica. Estos grupos son:

- GRUPO 1: tienen acción cefalosporinasa, no se inhiben ni con ácido clavulánico ni EDTA.
- GRUPO 2: formado por enzimas con acción cefalosporinasa y penicilinasas, posibilidad de ser inhibidas por ácido clavulánico.
- GRUPO 3: se correlacionan con las metaloproteasas (grupo B) y por lo tanto, se inhiben con EDTA pero no con ácido clavulánico.
- GRUPO 4: son las penicilinasas no inhibibles por ácido clavulánico, como algunas producidas alguna *Pseudomonas aureginosa*.

TABLE 1. Classification schemes for bacterial β -lactamases, expanded from Bush et al. (16)

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by		Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
				CA or TZB ^a	EDTA		
1	1	C	Cephalosporins	No	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1c	NI ^b	C	Cephalosporins	No	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxymino- β -lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	No	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PC1
2b	2b	A	Penicillins, early cephalosporins	Yes	No	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	Yes	No	Increased hydrolysis of oxymino- β -lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	No	Resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	No	No	Increased hydrolysis of oxymino- β -lactams combined with resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbenicillin	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbenicillin, cefepime	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin, cefepime, and ceftiofime	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	No	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxymino- β -lactams	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapenems	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	Yes	No	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	No	Increased hydrolysis of carbapenems, oxymino- β -lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapenems	No	Yes	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	3	B (B2)	Carbapenems	No	Yes	Preferential hydrolysis of carbapenems	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1, CphA, Sfh-1
NI	4	Unknown					

^a CA, clavulanic acid; TZB, tazobactam.

^b NI, not included.

FIGURA 15: Bush et al, 1995 (81).

En esta tabla se ve como existe relación entre ambas clasificaciones: grupo 1 corresponde con clase C de Ambler, grupo 2 con clases A y D; y grupo 3 con clase B, es decir las metaloproteasas. Las del grupo 4 no habían sido descritas por Ambler.

Los diferentes sustratos frente a los que actúan los inhibidores, principales características y enzimas que representan cada grupo.

Betalactamasas de interés :

De entre todas estas enzimas nombradas, es de interés clínico destacar un grupo codificado principalmente por plásmidos, que se conoce con el nombre de **betalactamasas de espectro extendido o BLEE**. Estas surgen mediante mutaciones puntuales de betalactamasas de espectro ampliado o BLEAS.

Las BLEAS son enzimas capaces de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas de primera generación, que a través de una serie de mutaciones, han adquirido capacidad también de inactivar cefalosporinas de tercera e incluso de cuarta generación, dando lugar a las betalactamasas de espectro extendido.

La capacidad de una bacteria de producción de BLEE, se asocia frecuentemente a resistencias a otros antibióticos como aminoglucósidos o quinolonas, lo que restringe las posibilidades de tratamiento, convirtiendo los carbapenems en antibióticos de primera elección en este tipo de bacterias (84).

En los últimos años, han llegado a España, principalmente localizadas en Enterobacterias, las carbapenemasas, que son betalactamasas de espectro extendido que han adquirido actividad contra carbapenems, suponiendo un importante problema de salud, especialmente a nivel nosocomial. Las dos carbapenemasas más problemáticas en la actualidad en España son GES (clase A) y OXA-48 (clase D) (83).

Por lo tanto, todos estos avances de las betalactamasas, nos ponen en alerta por varias razones (26): por un lado la facilidad de diseminación tanto *intra*-especie como *inter*-especies por su codificación plasmídica y por otro lado su progresivo aumento de espectro gracias a su gran variabilidad; todo esto facilita la propagación y el desarrollo de resistencias muy difíciles de afrontar.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Aminov, R. (2017, June 1). History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 133, pp. 4–19. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.001>
2. Belloso, W. H., & Histórica, R. (2009). Historia de los antibióticos. *Rev. Hosp. Ital. B.Aires*, 29(2), 104-111. Retrieved from https://www1.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_attachs/47/documentos/7482_102-111-belloso.pdf
3. Betancor, L., Gadea, P., & Flores, K. (2006). *GENETICA BACTERIANA*.
4. Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
5. Kenneth J.Ryan, C.G. (2014). Sherris, MICROBIOLOGIA MEDICA 6ª ed. McGRAW-HILL INTERAMERICANA
6. CDC. (2013). Antibiotic resistance threats. *Centers for Disease Control and Prevention: U.S. Department of Health and Human Services*. <https://doi.org/CS239559-B>
7. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Patrones de mortalidad en España, 2016. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2019.
8. Alós, J.-I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
9. Sharma, A. (2011). Antimicrobial resistance: No action today, no cure tomorrow. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 29(2), 91. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.81774>
10. AMR Industry Alliance. (2016). Declaration by the Pharmaceutical, Biotechnology and Diagnostics Industries on Combating Antimicrobial Resistance. <https://www.amrindustryalliance.org/>, (January), 1–6.
11. Shore, C. K., & Coukell, A. (2016). Roadmap for antibiotic discovery. *Nature Microbiology*, 1(6), 16083. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.83>
12. Harbarth, S., Theuretzbacher, U., & Hackett, J. (2014). Antibiotic research and development: Business as usual? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(6), 1604–1607. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv020>
13. Boucher HW, Talbot GH, Benjamin DK Jr et al. (2013). Development of new drugs active against Gram-negative bacilli: an update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1685–94.
14. Moncayo Medina, Á. (2014). Antibiotic resistance and the lack of interest by the pharmaceutical industry. *Infectio*, 18(2), 35–36. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.02.003>
15. Tacconelli (Infectious Diseases, DZIF Center, Tübingen University, Germany) and N. Magrini (WHO, EMP Department) Coordinating (2017) Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, Discovery and development of new antibiotic. WHO. <https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short-Summary-25Feb-ET-NM-WHO.pdf?ua=1>

16. Fernández Riverón, Fernando, y otros. «Resistencia bacteriana.» *Revista Cubana Medicina Militar* 32.1 (2003): 44-8. Trabajo de revision. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto"
17. Oromí, J. (2014). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina Integral*, 36(10), 367–370. Retrieved from <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-10022180>
18. Pérez, J., & Robles, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica Medigraphic*, 4(3), 187–191. Retrieved from www.revistamedicamd.com
19. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
20. OMS. aparición y propagación de las resistencias a los antimicrobianos. https://www.who.int/drugresistance/AMR_Emergence_Spread/es/
21. López Velandia, D. P., Torres Caycedo, M. I., & Prada Quiroga, C. F. (2016). Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Universidad y Salud*, 18(1), 190. <https://doi.org/10.22267/rus.161801.30>
22. Di Conza, J., Power, P., & Gutkind, G. (2013). Intercambio De Mecanismos De Resistencia Entre Bacterias Gram Negativas. *Revista Argentina de Microbiología*, 155, 57–69.
23. Cardona-, J. A. (2018). Revisión Sistemática sobre Elementos Genéticos Móviles Portadores de Genes de Resistencia a Antibióticos en Aguas Systematic Review about Mobile Genetic Elements Carriers of Genes of Antibiotic Resistance in Waste Water , 2000-2017 Introducción. 1–7. <https://doi.org/10.3823/1387>
24. Levy SB. (1992) The antibiotic paradox. Plenum Press, N.Y. and London.
25. Garcia Lobo, J. M. (2018). Estructura, funcionamiento y significado de los integrones bacterianos. *Boletín Informativo de La Sociedad Española de Microbiología*.
26. Vignoli, R. y Seija, V. (2008). Principales mecanismos de resistencia antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*, 649–662. [https://doi.org/10.1016/0008-8846\(90\)90046-Z](https://doi.org/10.1016/0008-8846(90)90046-Z)
27. Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
28. Gómez, C. A., Leal, A. L., Pérez, M. de J., & Navarrete, M. L. (2005). Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: understanding a dangerous enemy. *Revista de La Facultad de Medicina*, 53(1), 27–34.
29. MI, M. (2011). *REsistEncia bactERiana a Los antiMicRobianos ocasionaDa poR boMbas DE Eflujo . iMpacto En La MulTiRREsistEncia bactERial antibiotic REsistancE by EffLux puMps . MuLtiDRug REsistancE iMPact*. 31(2), 40–53.
30. Lasa, I., Del Pozo, J. L., Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005). COLABORACIÓN ESPECIAL Biofilms bacterianos e infección Bacterial biofilms and infection. In *An. Sist. Sanit. Navar* (Vol. 28).

31. Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
32. McDermott W. "Microbial persistence". *Yale J Biol Med* 1958; 30: 257-291
33. Becerra, G., Plascencia, A., Luévanos, A., Domínguez, M., & Hernández, I. (2009). Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias Antimicrobial resistance mechanism in bacteria. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 29(2), 70–76. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2009/ei092e.pdf>
34. Bell, B. G., Schellevis, F., Stobberingh, E., Goossens, H., & Pringle, M. (2014). A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 1–25. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-13>
35. Plan Nacional de Resistencia a Antibióticos, Informe JIACRA España (2018). Primer análisis integrado del consumo de antibióticos y su relación con la aparición de resistencia, Madrid, 2018, p 14-15. http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/informe_jiacra-espana.pdf?file=1&type=node&id=410&force=0
36. Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic Resistance: part 1: causes and treats. *P & T: A Peer Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–283.
37. CDC Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease (2013) . Antibiotic resistance threats in the United States April 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/ threat-report-2013>.
38. Luyt CE, Brechot N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Crit Care* 2014;18(5):480.
39. Ruiz Contreras, J, Albañil Ballesteros M.A (2018).Consumo de antibióticos y prevencion de las resistencias bacterinas. Mesa de debate. *Rev Pediatr Aten Primaria* 2018 (27), 13–21. ISSN: 1139-7631
40. Kohanski, M. A., DePristo, M. A., & Collins, J. J. (2010). Sublethal Antibiotic Treatment Leads to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. *Molecular Cell*, 37(3), 311–320. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.003>
41. Esposito, S., Esposito, I., & Leone, S. (2012). Considerations of antibiotic therapy duration in community- and hospital-acquired bacterial infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(11), 2570–2575. <https://doi.org/10.1093/jac/dks277>
42. Mosol Deltell, J.M, Alvarez Martins M, Giménez Pérez, M. (2018) Duración del tratamiento antibiótico: se puede acortar con seguridad. *Butlletí d' informació terapèutica*. 29, 37–43.
43. Pasquau J, de Jesus ES, Sadyrbaeva S, Aznarte P et al. (2017). The Reduction in Duration of Antibiotic Therapy as a Key Element of Antibiotic Stewardship Programs. *Journal of Antimicrobial Agents*, 01(01), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2472-1212.1000103>
44. Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO/EMP/IAU/2017.12). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

45. PLAN DE ACCION MUNDIAL SOBRE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, Organización Mundial de la Salud (2016) ISBN 978 92 4 350976 1. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/es/>
46. Kahn, L. H., Bergeron, G., Bourassa, M. W., Vegt, B., Gill, J., Gomes, F., ... Topp, E. (2019). From farm management to bacteriophage therapy: strategies to reduce antibiotic use in animal agriculture. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1441(1), 31–39. <https://doi.org/10.1111/nyas.14034>
47. Hernández-Barrera JC., Angarita-Merchán M., Prada-Quiroga CF. Impacto del uso de antimicrobianos en medicina veterinaria. *Rev. Cien. Agri.* 2017; 14(2): 27-38
48. Vela-Perdomo KL., et al. Evaluación preliminar del bioensayo para la detección de antimicrobianos en músculo bovino. *Vitae.* 2014; 21(3): 178-190.
49. Kahn, L. H., Bergeron, G., Bourassa, M. W., Vegt, B., Gill, J., Gomes, F., ... Topp, E. (2019). From farm management to bacteriophage therapy: strategies to reduce antibiotic use in animal agriculture. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1441(1), 31–39. <https://doi.org/10.1111/nyas.14034>
50. N., Iras, A. E. N., & Itu, E CDC. (2007). *Resistencia a Los antibióticos: de la granja a la mesa.* 1–45. <https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/AR-infographic-es-H.pdf>
51. Organisation, W. H. (2018). Global WHO report on tuberculosis 2018.
52. WHO - World Health Organization. (2017). HIV Drug Resistance Report 2017. In World Health Organization.
53. O'Neill, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. (2016)
54. O'Neill, J. (2014). AMR Review Paper-Tackling a crisis for the health and wealth of nations. AMR Review Paper, (December).
55. Camou, T., Zunino, P., & Hortal, M. (2017). Alarma por la resistencia a antimicrobianos: situación actual y desafíos. *Revista Medica Del Uruguay*, 34(3), 277–284. <https://doi.org/10.29193/rmu.34.3.6>
56. OMS. (2016). PLAN DE ACCIÓN MUNDIAL SOBRE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS.
57. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2019). Nota informativa. Agencia Española de Medicamentos, 038/2011, 1–4. <https://doi.org/10.1503/cmaj.110218>.
58. Mu, N. C., Jornada, M., Abiertas, P., & Madrid, A. (2018). Antonio López Navas Cristina Muñoz Madero Jornada Puertas Abiertas AEMPS Madrid, Mayo 2018.
59. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2017). Programas de optimización de uso de antibióticos (PROA). Plan Nacional Resistencia Antibioóticos.
60. Armíñanzas, C., Fernández-Sampedro, M., Gutiérrez-Cuadra, M., González-Rico, C., Arnaiz de las Revillas, F., Arnaiz, A., & Fariñas, M. C. (2016). Uso racional de los antibióticos y multirresistencia. *Nuevos antimicrobianos. Rev Med Valdecilla*, 1(1), 35–43.

61. US Department of Health and Human Services - CDC. (2013). Antibiotic resistance threats. Centre for Disease Control and Prevention, 22–50. <https://doi.org/CS239559-B>
62. 62. Czaplewski, L., Bax, R., Clokie, M., Dawson, M., Fairhead, H., Fischetti, V. A., ... Rex, J. H. (2016). Alternatives to antibiotics-a pipeline portfolio review. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 239–251. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00466-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00466-1)
63. 63. Fox, J. L. (2013). Antimicrobial peptides stage a comeback. *Nature Biotechnology*, 31(5), 379–382. <https://doi.org/10.1038/nbt.2572>
64. 64. Belén Calabozo Freile. (2018). Portal del Medicamento (Nuevos antibióticos para multirresistentes: fortalezas y debilidades). Retrieved from <https://www.saludcastillayleon.es/portalmedicamento/es/cim-sacyl/ojo-markov/nuevos-antibioticos-multirresistentes-fortalezas-debilidade>
65. 65. EMA. (2014). Anexo I: Ficha técnica o resumen de las características del producto 1. *Agencia Europea de Medicamentos*, 1–33. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.SABCS12-S5-3>
66. 66. Shields, R. K., Chen, L., Cheng, S., Chavda, K. D., & Press, E. G. (2017). crossm Emergence of Ceftazidime-Avibactam Mutations during Treatment of. *Antimicrob Agents Chemother.*, 61(3), 1–11. <https://doi.org/10.1128/AAC.02097-16>
67. 67. Fernandes, P., & Martens, E. (2017). Antibiotics in late clinical development. *Biochemical Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.025>
68. 68. Carminati, A., Kerkour, N., Landry, C., Lourenço, B. L., & Meyer, F. (2016). Phagotherapy: An alternative to antibiotic therapy? *Revue Medicale Suisse*, 12(533), 1676–1677.
69. 69. Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C. (2017). Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 8(3), 162. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
70. 70. Lopardo, H. A. (2017). Fagoterapia: la multirresistencia nos obliga a revisar el pasado. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(1), 1–2. <https://doi.org/10.1016/i.ram.2017.03.002>
71. Kingwell, K. (2015). Bacteriophage therapies re-enter clinical trials. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(8), 515–516. <https://doi.org/10.1038/nrd4695>
72. Park, A. J., Okhovat, J. P., & Kim, J. (2017). Antimicrobial peptides. In *Clinical and Basic Immunodermatology: Second Edition*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29785-9_6
73. Semreen, M. H., El-Gamal, M. I., Abdin, S., Alkhazraji, H., Kamal, L., Hammad, S., ... Kourbaj, L. (2018). Recent updates of marine antimicrobial peptides. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(3), 396–409. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.01.001>
74. Aguiló, I. P. (2017). Las bacterias contraatacan. *Biol. on-Line*, 6(2), 1–27. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat03740a&AN=UdeA.666426&lang=es&site=eds-live>

75. Heredia, P., Hernández, A., González, A., & Vallejo, B. (2017). Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: Mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia*, 42(6), 340–346.
76. Basta, N. E., & Christensen, H. (2016). 4CMenB vaccine effectiveness: reasons for optimism. *Lancet (London, England)*, 388(10061), 2719–2721. doi:10.1016/S0140-6736(16)32061-X
77. Marco, R. H. (2014). De la sueroterapia a los anticuerpos monoclonales: Nuevas perspectivas en el tratamiento de las enfermedades infecciosas del niño. *An. R. Acad. Med. Comunitat Valenciana*, 15.
78. Cutino-Moguel, M. T., Eades, C., Rezvani, K., & Armstrong-James, D. (2017). Immunotherapy for infectious diseases in haematological immunocompromise. *British Journal of Haematology*, 177(3), 348–356. <https://doi.org/10.1111/bjh.14595>
79. Ortega Paredes, D., & Zurita, J. (2017). Integrones: plataformas bacterianas de recombinación genética y su influencia en la resistencia bacteriana. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 34(1–2), 167. <https://doi.org/10.26807/remcb.v34i1-2.242>
80. Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
81. Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 39, pp. 1211–1233. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
82. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
83. Pujol, M., & Peña, C. (2003). El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21(2), 69–71. <https://doi.org/10.1157/13042861>
84. Oteo, J., Calbo, E., Rodríguez-ba, J., Ruiz-garbajosa, P., Horcajada, J. P., Luis, J., ... Salavert, M. (2015). La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas ~ documento de posicionamiento de los grupos de estudio en España : GEIH y GEMARA de la SEIMC. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 32(10), 666–670.