



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**La resistencia a los antibióticos, un problema de salud
global: las infecciones por micobacterias
multirresistentes**

Antibiotic resistance, a global health problem: multi-resistant
mycobacterial infections

Autor/a: Dña Marina Ruiz de Galarreta Beristain

Director/es: D. Jesús Navas y D. Alain Ocampo

Santander, Junio 2021

ÍNDICE

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCIÓN	3
3.	RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS	5
4.	MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA	11
4.1.	Beta-lactámicos	12
4.2.	Macrólidos	13
4.3.	Quinolonas	13
4.4.	Aminoglucósidos	14
4.5.	Tetraciclinas	14
4.6.	Glucopéptidos	14
4.7.	Oxazolidinonas	14
5.	MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA	15
5.1.	Transmisión genética horizontal	15
5.1.1.	Transformación	15
5.1.2.	Transducción	15
5.1.3.	Conjugación	16
5.1.4.	Vesículas de membrana	16
5.2.	Elementos genéticos móviles	18
5.2.1.	Plásmidos	20
5.2.2.	Transposones	21
5.2.3.	Integrones	25
6.	EL PROBLEMA DE LAS MICOBACTERIAS MULTIRRESISTENTES	26
7.	ALTERNATIVAS PARA COMBATIR LA TUBERCULOSIS MULTIRRESISTENTE	30
7.1.	Clofazimina	31
7.2.	Nanopartículas de metal	32
7.3.	Bacterias diseñadas mediante ingeniería genética	33
7.4.	Péptidos antimicrobianos	33
7.5.	Fagoterapia	33
7.6.	Medicina tradicional china	34
7.7.	Terapia dirigida por el huésped	35
7.8.	Prevención y vacunación	36
7.9.	Investigación y desarrollo	38
8.	CONCLUSIÓN	40
9.	BIBLIOGRAFÍA	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Línea temporal en la que se indica cuando se descubrieron las principales clases de antibióticos y cuando surgieron las primeras cepas resistentes ¹³ .	6
Figura 2. Muertes atribuibles a la resistencia de antibióticos cada año ⁴ .	9
Figura 3. Principales mecanismos de resistencia bacteriana ³² .	12
Figura 4. Mecanismos de transmisión genética horizontal ³¹ .	17
Figura 5. Plásmido p11 745 de <i>A. pleuropneumoniae</i> en comparación con plásmidos pHS-Tet de <i>H. parasuis</i> y pPAT2 de <i>P. aerogenes</i> ⁶¹ .	21
Figura 6. Estructura de transposón simple y compuesto ⁶³ .	22
Figura 7. La estructura básica del integrón consiste en el gen codificante de la integrasa (<i>intI</i>), el lugar de recombinación específico (<i>attI</i>) y un promotor (<i>Pc</i>) que permite la expresión de los genes casete insertados en el <i>attI</i> del integrón. El sitio de recombinación del casete genético es el <i>attC</i> ⁷³ .	25
Figura 8. El desarrollo de mejores técnicas de diagnóstico y tratamiento para la tuberculosis salvaría numerosas vidas ⁴ .	30
Figura 9. Estructura química de la clofazimina ⁸⁸ .	31
Figura 10. Pasos necesarios en la lisis de <i>M. tuberculosis</i> mediada por fagos usando <i>M. smegmatis</i> ¹⁰⁰ .	34
Figura 11. Diferencias entre MTBVAC y BCG ¹¹⁰ .	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de patógenos prioritarios de la OMS para investigación y desarrollo de nuevos antibióticos ²² .	8
Tabla 2. Genes asociados con resistencia a medicamentos anti-tuberculosos ⁸⁰ .	29

1. RESUMEN

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas y riesgo para la salud humana a nivel mundial. El uso indiscriminado de los antibióticos en la práctica clínica humana y también en veterinaria y producción animal es la causa del problema. La Organización Mundial de la Salud (OMS) viene alertando del problema en los últimos 10 años y promoviendo iniciativas para concienciar a los gobiernos y a los organismos internacionales de su importancia. La OMS ha establecido varios patógenos humanos como prioritarios, entre ellos *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente. Existe el riesgo de que la tuberculosis vuelva a ser una enfermedad incurable, si no se dispone pronto de nuevas opciones terapéuticas. En este trabajo se presenta una revisión actualizada de los mecanismos de resistencia bacteriana y su transmisión, enfocándolo hacia el problema de las micobacterias multirresistentes, donde se han realizado nuevos avances en la comprensión de los mecanismos de resistencia a los fármacos. Un mejor conocimiento de éstos contribuirá a la identificación de nuevas dianas terapéuticas, que permitirá el desarrollo de nuevos fármacos contra este patógeno. Se presentan también medidas para prevenir las enfermedades infecciosas y, en particular, la tuberculosis multirresistente.

Palabras clave: antibiótico, resistencia, *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente

The emergence of multidrug-resistant bacteria poses a global threat for human health worldwide. The indiscriminate use of antibiotics in human clinical practice and also in veterinary and animal production is the cause of the problem. The World Health Organization (WHO) has been warning of the problem in the last 10 years and promoting initiatives to make governments and international organizations aware of its importance. WHO has prioritized several human pathogens, including multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. There is a risk that tuberculosis will become an incurable disease again, if new treatment options are not available soon. This work presents an updated review of the mechanisms of bacterial resistance and its transmission, focusing it on the problem of multi-resistant mycobacteria, where new advances have been made in the understanding of drug resistance mechanisms. A better knowledge of these mechanisms will contribute to the identification of new therapeutic targets, which will allow the development of new drugs against this pathogen. Measures to prevent infectious diseases and, in particular, multidrug-resistant tuberculosis, are also presented.

Keywords: antibiotics, resistance, multi-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

2. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos supone hoy en día una de las mayores amenazas no solo para la salud mundial, sino también para la seguridad alimentaria y ambiental. Consiste en un fenómeno natural, que se está viendo acelerado por el mal uso de los antibióticos en el ser humano y en los animales. Cualquier persona es susceptible de contraer una infección por una bacteria patógena resistente a los antibióticos, en particular en el entorno hospitalario, que constituye un reservorio para estos microorganismos. Se trata de las denominadas infecciones nosocomiales, que en el caso de las bacterias resistentes repercuten aumentando el coste de los tratamientos, la duración de la estancia hospitalaria y produciendo una mayor tasa de mortalidad. En la Unión Europea se calcula que el problema de la resistencia a los antibióticos supone un gasto anual de al menos 1,5 billones de euros, de los que más de 900 millones corresponden a gastos hospitalarios. También repercute en la productividad laboral, que puede disminuir hasta un 40%, como consecuencia de las bajas o el fallecimiento de los trabajadores¹.

El descubrimiento de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming, Howard Florey, Ernst Chain y Norman Heatley supuso un avance para la medicina moderna, permitiendo el desarrollo posterior de distintas clases de antibióticos. Todo ello ha producido un gran beneficio para la salud de la humanidad, salvando innumerables vidas. Desgraciadamente, debido al aumento progresivo de las resistencias, hoy en día han aparecido cepas bacterianas multirresistentes o panresistentes (resistentes a todos los antibióticos conocidos), dejándonos muy vulnerables frente a infecciones comunes². La neumonía antes tratada con penicilina necesita ahora antibióticos de segunda o tercera línea. Lo mismo ocurre con la cistitis, la infección más frecuente en la mujer, que antes se podía controlar mediante antibioterapia oral con fosfomicina en la mayoría de los casos, mientras que ahora necesitan antibióticos mucho más complejos y caros (ceftazidima/avibactam, ceftolozano/tazobactam y meropenem/vaborbactam)³.

El fenómeno de la resistencia se debe a un proceso natural por el que las bacterias mutan cuando están expuestas a los antibióticos. En la población bacteriana predominan las que han sufrido mutaciones que les permiten sobrevivir, mientras que las que permanecen susceptibles mueren. Además, las bacterias adquieren genes de resistencia mediante transferencia horizontal⁴.

Los desplazamientos de los individuos humanos (y también los animales) por todo el mundo, que se han incrementado en las últimas décadas debido a las facilidades para todo tipo de viajes (turismo, fenómenos migratorios, etc.) han contribuido de manera significativa a propagar los genes de resistencia a escala planetaria. El hecho de que todavía existen países en los que los antibióticos se dispensan sin receta médica contribuye notablemente a aumentar las resistencias y su propagación⁵.

La pandemia COVID-19 ha alterado completamente nuestras vidas y, en consecuencia, ha cambiado nuestra percepción de todos los aspectos relacionados con

el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades infecciosas. De hecho, ahora somos más conscientes de las muchas formas en que las buenas prácticas de diagnóstico pueden ayudar a combatir estas enfermedades. La rápida propagación de las enfermedades infecciosas y sus consecuencias, en términos de vidas humanas y pérdidas económicas, requerirán un cambio de estrategia, tanto a nivel clínico como de investigación. Los sistemas de salud pública deben estar preparados para dar una respuesta sanitaria eficiente a estas enfermedades, tanto endémicas como pandémicas⁶.

Para hacer frente a este problema necesitamos que todos los países se unan e impongan estrictas regulaciones para la administración de antibióticos tanto en humanos como en animales. La implantación social de prácticas de higiene y el desarrollo de nuevas vacunas forman parte de las estrategias preventivas que deben seguirse. También es necesario el desarrollo de técnicas para el diagnóstico rápido de infecciones bacterianas, no solo para una identificación precoz, sino también para adoptar medidas oportunas a la hora de evitar su propagación. Se debe prestar apoyo a los programas de investigación de nuevas moléculas con actividad antibacteriana. En definitiva, es necesario verlo como la amenaza económica y sanitaria que representa, y debería ser en los próximos años objetivo prioritario de jefes de gobierno, ministros de finanzas, de agricultura y de sanidad⁴.

De no ser así, estarían en juego muchos de los logros de la medicina moderna como son el trasplante de órganos, cirugías de reemplazo de prótesis, los cuidados intensivos en los nacidos pre-término o la mayoría de las intervenciones quirúrgicas. Los pacientes sometidos a estas prácticas sufren el riesgo de contraer infecciones causadas por bacterias multirresistentes, que producen una morbi-mortalidad muy alta^{1,4}.

3. RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

El primer signo de resistencia antibiótica apareció poco después del descubrimiento de la penicilina. En 1940 Chain observó que una cepa de *Escherichia coli* era capaz de inactivar la penicilina mediante la producción de penicilinasas ⁷. Dos años más tarde se reportaron cuatro cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina en pacientes hospitalizados ⁸. La resistencia a la penicilina se expandió rápidamente en el medio hospitalario y extra-hospitalario (comunidad), de manera que en 1960 más del 80% de los aislados clínicos de *S. aureus* eran resistentes a la penicilina. Poco después este aumento de las resistencias se detuvo coincidiendo con la introducción de una meticilina semisintética de segunda generación². En 20 años la resistencia a la meticilina se volvió endémica en EE. UU. con resistencias en el 29% de los hospitalizados infectados por *S. aureus*⁹.

En cuanto a *Streptococcus pneumoniae*, en 1967 ya había cepas resistentes a la penicilina, triplicando su cifra para 1999, que llegaba a un 14,4% de los aislados clínicos en Sudáfrica^{2,10}.

En el caso de *Neisseria gonorrhoeae*, en 1976 ya se habían aislado cepas productoras de beta-lactamasas tanto en EE. UU. como en Reino Unido ¹¹. Llegando 10 años después a su pico en Asia. Todo esto llevó a la prohibición de la administración de la penicilina como fármaco de primera línea para el tratamiento del gonococo en muchas partes del mundo ².

En 1945, Fleming ya predijo que la alta demanda de antibióticos determinaría una época de abuso. No fue hasta finales de 1980 cuando se tomó conciencia del problema que suponía que las bacterias desarrollaran resistencias ante los antibióticos, con la aparición de los enterococos resistentes a la vancomicina y el miedo a los *S. aureus* meticilin resistentes (SARM) ². Desde el hallazgo de la penicilina se han descubierto más de 150 antibióticos, y para la mayoría de ellos ya se han desarrollado resistencias ¹² (véase la **Figura 1**).

En un estudio realizado en EE. UU. entre los años 2010-2011 se concluyó que el 30% de las prescripciones de antibióticos eran innecesarias. Además, en 2014 había 19 países europeos donde los antibióticos podían adquirirse legalmente sin receta médica, y en otros 5 países podían obtenerse sin prescripción médica por internet, lo que demuestra que el fácil acceso a los antibióticos ha promovido el aumento de su consumo, incrementando el problema de las resistencias ². De hecho, hoy en día, en algunos países de África el 100% de los antibióticos que se consumen se obtiene sin prescripción médica, y en Asia llega a un 58% ¹⁴.

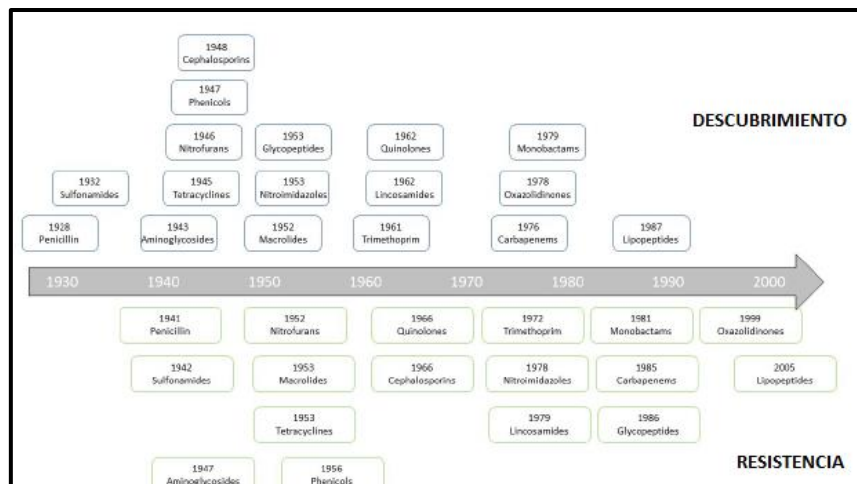


Figura 1. Línea temporal en la que se indica cuando se descubrieron las principales clases de antibióticos y cuando surgieron las primeras cepas resistentes¹³

La automedicación supone un elevado riesgo, ya que el cuadro clínico producido por algunas bacterias y virus es muy similar. En una encuesta realizada en 2009 sobre el uso y el conocimiento de los antibióticos entre los ciudadanos europeos, el 20% de los entrevistados admitieron haber tomado antibióticos para aliviar los síntomas de la gripe, aun conociendo que los antibióticos no actúan frente a los virus. El 14% admitió también haber tomado antimicrobianos para tratar el resfriado común. En Reino Unido, el 38% de los entrevistados no sabían que los antibióticos no tenían efecto alguno frente a la tos o el resfriado ^{1,15}. Por el contrario, en Suecia, el conocimiento sobre la función de los antibióticos, así como sus riesgos, eran más conocidos: solo una de cada cinco personas estaba convencida de que los antibióticos curan el resfriado común más rápidamente ¹⁶. La automedicación llegó al 19% en el sur de Europa, respecto al 3% y 6% en el norte y centro de Europa respectivamente ¹⁴.

En 2012, el 50% de los antibióticos consumidos pertenecía al grupo de los beta-lactámicos, siendo la amoxicilina (asociada o no al ácido clavulánico) el antibiótico más usado en casi todos los países ¹. Así mismo, en Europa durante el año 2011, el 35% de todos los pacientes ingresados recibieron algún antibiótico en sus tratamientos ¹⁷. En EE. UU., las categorías más prescritas fueron las penicilinas (23%) y los macrólidos (22%), de los que la azitromicina y la amoxicilina fueron los más usados ¹. En EE. UU., el 59,3% de todos los pacientes recibieron al menos una dosis de antibiótico durante su estancia hospitalaria ¹⁸. En 2017, se estimó que, en Europa, el número anual de infecciones y muertes debidas a bacterias multirresistentes era aproximadamente de 400.000 y 25.000 respectivamente ¹⁹.

La resistencia a los antimicrobianos no ha sido propiciada únicamente por el sobreuso de antibióticos, también lo han favorecido la falta de cumplimiento del tratamiento prescrito y la inadecuada elección del fármaco y su dosis. Estos factores crean un ambiente ideal para que los microorganismos puedan adaptarse en vez de ser eliminados.

Otro de los factores que ha empeorado el problema es el amplio uso de los antibióticos en la agricultura y en producción animal, principalmente como factor de crecimiento y para la prevención de infecciones. De hecho, la mayoría del consumo de éstos se hace en la producción animal (entre 63.000-240.000 toneladas anuales, de los cuales el 41% corresponde a compuestos del grupo de las tetraciclinas)¹. Un ejemplo de estas prácticas es el uso de la estreptomicina para evitar la infección de los manzanos y los perales por *Erwinia amylovora*, que puede transferirse a humanos por medio de la cadena alimentaria²⁰.

Otra de las consecuencias del incremento en el uso de antibióticos es el daño medioambiental que producen. Se utilizan no solo para la conservación de plantas, sino que llegan a través de la orina y heces provenientes de los animales tratados con ellos. El agua es la forma más frecuente de diseminación. Los antibióticos más frecuentemente hallados en las aguas ambientales son las tetraciclinas. De esta forma, se favorece la aparición de resistencias en las bacterias ambientales, que se produce por mutación o por adquisición de genes de resistencia por transferencia horizontal. Estos procesos convierten a las bacterias ambientales en reservorio de genes de resistencia²¹.

Cabe destacar que la OMS en 2017 publicó una lista de 12 especies bacterianas que suponían una amenaza para nuestra salud, de las cuales la mayoría (9) resultaron ser bacterias Gram negativas. Se dividieron en 3 grupos de acuerdo con la urgencia que suponían (véase **Tabla 1**).

En los últimos años ha habido gran interés por frenar la resistencia a los antimicrobianos, pero sobre todo para las bacterias Gram positivas. Hoy en día, el miedo está en las bacterias Gram negativas, para las que no tenemos nuevas moléculas con mecanismo de acción distinto al conocido con el que protegernos¹³.

Prioridad	Bacterias	Resistencia
CRÍTICA	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenémicos
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carbapenémicos
	<i>Enterobacteriaceae</i>	Carbapenémicos y cefalosporinas de 3ªG
ELEVADA	<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina y vancomicina
	<i>Helicobacter pylori</i>	Claritromicina
	<i>Campylobacter spp.</i>	Fluoroquinolonas
	<i>Salmonella spp.</i>	Fluoroquinolonas
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cefalosporinas 3ª G y fluoroquinolonas
MEDIA	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penicilina
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilina
	<i>Shigella spp.</i>	Fluoroquinolonas

Tabla 1. Lista de patógenos prioritarios de la OMS para investigación y desarrollo de nuevos antibióticos²².

Las bacterias Gram negativas fueron responsables solo en el año 2015 de más de 500.000 infecciones (de un total de 672.000) y de más de 24.600 muertes (de un total de 33.000) en Europa ²³. Ello es debido a la capacidad de las bacterias de resistir nuevos tratamientos y de transmitir el material genético a otra bacteria haciendo que esta segunda bacteria se convierta en resistente también. Los últimos datos son alarmantes, ya que si la situación no mejora se esperan para el año 2050 10 millones de muertes al año. Esto sobrepasaría la cifra de muertes por accidentes de tráfico, diabetes e incluso el cáncer ¹³ (véase **Figura 2**).

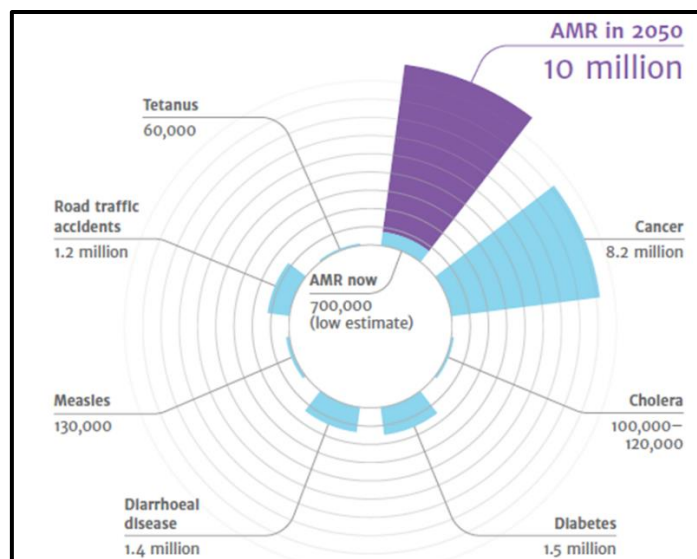


Figura 2. Muertes atribuibles a la resistencia de antibióticos cada año⁴.

Todo ello ha obligado a los sanitarios a rescatar antiguas moléculas como la colistina (empleada como antibiótico de última línea) para tratar infecciones multirresistentes de bacterias Gram negativas. Por desgracia, rápidamente aparecieron las primeras bacterias resistentes a colistina por todo el mundo ¹³. Todo esto puede llevar a la temida “era post-antibiótica”, o no tener armas con las que tratar a pacientes con infecciones bacterianas. Para poder avanzar necesitamos un mayor conocimiento tanto del mecanismo de acción de los antibióticos como de sus mecanismos de resistencias ²⁴.

Entre las distintas familias de antibióticos empleados para los microorganismos Gram negativos en la clínica destacan: aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina), anfenicoles (cloranfenicol), carbapenémicos (imipenem, ertapenem, meropenem y doripenem), cefalosporinas (ceftarolina, ceftazidima, cefepime, ceftriaxona y cefotaxima), fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino), fosfonatos (fosfomicina), gliciliclinas (tigeciclina), inhibidores de la vía del folato (trimetoprim y sulfametoxazol), monobactamas (aztreonam), penicilinas (ampicilina), penicilinas con inhibidores de beta-lactamasas (ampicilina-sulbactam), penicilinas con acción antipseudomonas e inhibidores de beta-lactamasas (piperacilina-tazobactam y ticarcilina-ácido clavulánico), polimixinas (colistina y polimixina B) y las tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina y minociclina) ²⁵.

La situación comenzó a mejorar con la aparición de nuevas opciones terapéuticas para las bacterias Gram negativas, a pesar de no tratarse de nuevas moléculas, sino de asociación de dos compuestos:

- Ceftolozano/tazobactam. Se trata de la asociación de una cefalosporina de 3ª generación a un inhibidor de beta-lactamasas. Tiene un amplio espectro anti bactericida (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, así como las bacterias

productoras de cefalosporinas responsables de infecciones nosocomiales). Por el contrario, son menos eficaces en bacterias productoras de BLEE (beta-lactamasas de espectro extendido) como es *Klebsiella pneumoniae*, así como para cepas de *Enterobacter* resistentes a ceftazidime ²⁶.

- Ceftazidima/avibactam. Consiste en la asociación de una cefalosporina de 3ª generación a un inhibidor no beta-lactámico de beta-lactamasas. Tienen un mayor espectro de inhibición que los inhibidores de beta-lactamasas tradicionales. Inhiben las enzimas tanto de clase A como C, así como BLEE, carbapenemasas de tipo KPC, OXA-48 y enzimas AmpC. No resultando eficaces para las enzimas de clase B y D ²⁷.
- Meropenem/vaborbactam. Se trata de una asociación entre un carbapenem y un inhibidor no beta-lactámico de beta-lactamasa. Efectiva frente a las clases A y C de beta-lactamasa, siendo por tanto eficaz en infecciones debidas a enterobacterias resistentes a carbapenémicos ²⁸.

Desgraciadamente ya han aparecido resistencias a las dos primeras asociaciones de medicamentos. Por lo que si no se descubren nuevas moléculas antibióticas (a poder ser con un nuevo mecanismo de acción y estructura química) la lucha contra las resistencias será ardua y larga ²³.

En agosto de 2019, la FDA aprobó la comercialización de un antibiótico de última generación, la lefamulina, para el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad. Este es el primer antibiótico con un mecanismo de acción nuevo aprobado por la FDA en los últimos 20 años. Pertenecer a la familia de pleuromutilinas, que actúa acoplándose a un sitio de unión de síntesis de proteína diferente al que lo hacen los antibióticos tradicionales. Inhibe la síntesis proteica interaccionando con los sitios A y P del centro de la peptidil transferasa (PTC) en la parte central del dominio V del ARNr 23S de la subunidad ribosómica 50S, lo que impide el posicionamiento correcto del ARNt. Esto supone una nueva esperanza ²⁹.

4. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

Las bacterias pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos debido a su gran capacidad de adaptación. Como resultado, el antibiótico deja de ejercer su mecanismo de acción. Debemos diferenciar entre una resistencia natural o intrínseca (en aquellas bacterias que carecen de diana para un antibiótico), resistencia adquirida (es debida a la modificación de la carga genética de la bacteria) o la resistencia transmisible (está mediada por plásmidos, transposones o integrones que pueden pasar de una bacteria a otra). A pesar de que la resistencia adquirida tiene una gran importancia clínica, es este último mecanismo de resistencia el que más importancia adquiere por su prevalencia. Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a varios antibióticos, de igual modo que un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diferentes especies bacterianas^{30,31}.

A continuación, se detallan los principales mecanismos de resistencia bacteriana (véase **Figura 3**):

- Inactivación enzimática del antibiótico: las bacterias producen enzimas que inactivan al antibiótico. Las más importantes son las beta-lactamasas. También pueden ocurrir en aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y macrólidos, aunque no sea éste su principal mecanismo de resistencia³⁰.
- Disminución de la permeabilidad de la bacteria: modificaciones bacterianas que impidan la llegada del antibiótico al punto diana. Las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de algunos antibióticos, como en el caso de los beta-lactámicos, o alterando los sistemas de transporte, que son más típicos en los aminoglucósidos³⁰.
- Presencia de sistemas de expulsión activa o bombas de eflujo: provocan la salida del antibiótico, impidiendo que este se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente³¹.
- Alteración por parte de la bacteria de su punto diana: alteraciones en su ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos), de las enzimas PBPs que son necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a beta-lactámicos)³⁰.

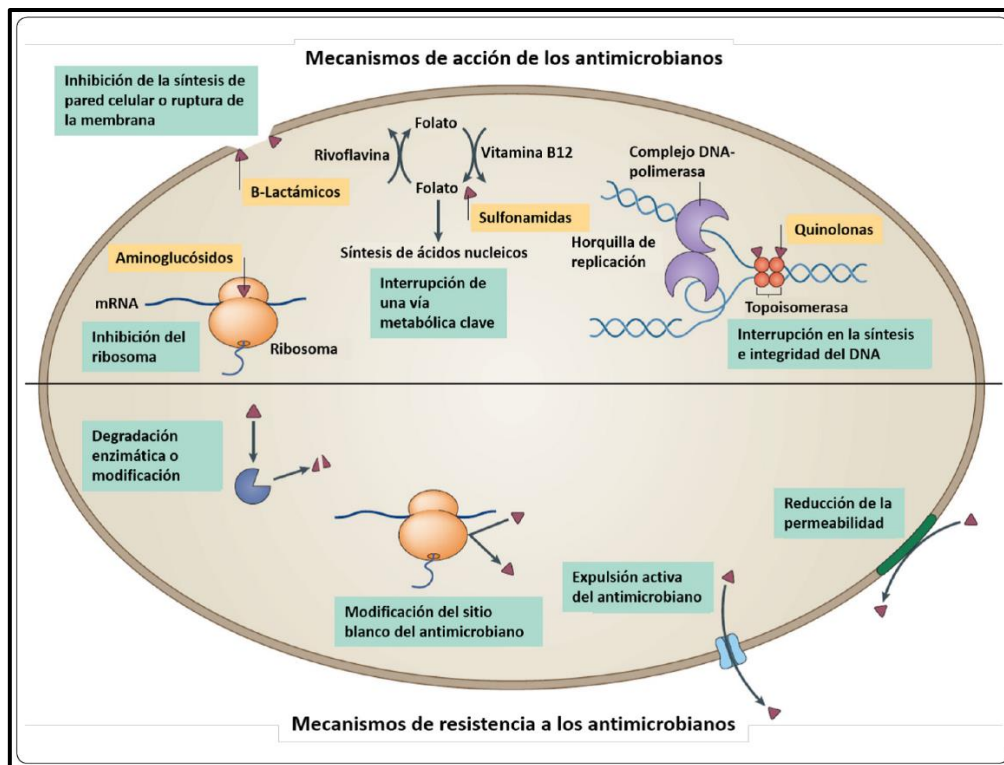


Figura 3. Principales mecanismos de resistencia bacteriana ³².

Las micobacterias muestran un alto grado de resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos. La baja permeabilidad de su pared celular junto con su inusual estructura supone un factor importante en la resistencia. El peptidoglicano contiene ácido N-glicolilmurámico en lugar del ácido N-acetilmurámico habitual, pero una característica mucho más importante es que hasta el 60% de la pared celular está ocupada por ácidos grasos de forma inusualmente larga que contienen de 60 a 90 carbonos, los ácidos micólicos ³³. Además, los agentes hidrófilos atraviesan lentamente la pared celular porque la porina de las micobacterias es ineficiente y existe en baja concentración. Por otro lado, los agentes lipófilos son frenados por la bicapa lipídica, que es de baja densidad y grosor anormal. Sin embargo, la barrera de la pared celular por sí sola no puede producir niveles significativos de resistencia a los medicamentos, lo que requiere la contribución sinérgica de un segundo factor, como la inactivación enzimática de los medicamentos ³⁴.

4.1. Beta-lactámicos

La resistencia que desarrollan las bacterias frente a los beta-lactámicos representa un grave problema, pues es probablemente el grupo de antibióticos más utilizado. El mecanismo más común de resistencia es la inactivación enzimática por beta-lactamasas. Existen beta-lactamasas de espectro reducido producidas por algunos *S. aureus*, *Haemophilus* y *S. pneumoniae*, mientras que otras beta-lactamasas son de espectro ampliado (BLEA), que hidrolizan tanto penicilinas como cefalosporinas. Los

carbapenemes pueden ser utilizados en bacterias productoras de BLEA, pero son hidrolizados por metalobeta-lactamasas y por carbapenemasas³⁰. Actualmente se han encontrado inhibidores de estas enzimas, como son el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Sin embargo, ya se ha encontrado una nueva clase de beta-lactamasas que confiere resistencia a estos inhibidores³⁵.

Otro de los mecanismos de resistencia ocurre con la alteración del transporte hacia el interior, dado que los beta-lactámicos difunden en las bacterias Gram positivas, pero precisan de porinas (OmpC) en las Gram negativas. Su mutación ocasiona resistencia en las bacterias Gram negativas. Este es el caso de las resistencias en *E. coli*, *Pseudomonas*, *Haemophilus* y *gonococo*.

Las PBPs son necesarias para que la bacteria forme su pared, y los antibióticos beta-lactámicos se fijan en estas enzimas impidiéndolo. En el caso de que las bacterias modifiquen sus PBPs, se hacen resistentes a ese antibiótico³⁶. La modificación del sitio de unión a PBP es un mecanismo de resistencia típico de las bacterias Gram positivas como el *S. pneumoniae* y *S. aureus*.

Por último, las bombas de expulsión también constituyen un mecanismo de resistencia a beta-lactámicos³⁰.

4.2. Macrólidos

El principal mecanismo de resistencia de este grupo de antibióticos es la modificación del sitio de unión al ribosoma por una metilasa de ARNr, cuyo gen codificante (*erm*) puede encontrarse en plásmidos o en el cromosoma³¹. Estas enzimas metilan los residuos de adenina, haciendo que adquiera la resistencia a estos fármacos. La adenina metilada impide la unión del fármaco con la subunidad 50S del ribosoma³⁰.

Están presentes otros mecanismos de resistencia como son: la modificación enzimática del antibiótico³¹, las bombas de expulsión (codificado por el gen *msr*) y la inactivación de genes (codificado por el gen *ere*)³⁰.

4.3. Quinolonas

El mecanismo de resistencia más importante es la alteración del sitio de unión (mutaciones en el gen *gyrA*, codificante para la subunidad A de la ADN girasa, y/o en el gen *parC*)³⁷.

No obstante, cada vez están cobrando más importancia otros mecanismos de resistencia, como la alteración de la entrada (modificación LPS), la sobreexpresión de

las bombas de eflujo mediada por plásmido (*gcpA*)³¹ y el gen (*qnr*) resistente a la quinolona mediada por plásmido³⁰.

4.4. Aminoglucósidos

El mecanismo más importante es la modificación enzimática (codificada por plásmidos) del fármaco que consigue dos efectos: por un lado y más importante un antibiótico incapaz de atravesar la membrana y por otro, un antibiótico inactivo. Representa el principal mecanismo de resistencia en enterobacterias, *Pseudomonas*, estafilococos y enterococos. La amikacina uno de los más activos, junto a la netilmicina. Se han publicado varios estudios mostrando la actividad anti-*Pseudomonas* de la amikacina y la baja tasa de resistencias³⁸. Existen otros mecanismos de resistencia, como el bloqueo de la entrada del antibiótico y la modificación del lugar de unión al ribosoma³⁹.

4.5. Tetraciclinas

Aunque existe resistencia por modificación enzimática del antibiótico codificada por transposones, el mecanismo de resistencia más importante en los Gram negativos (y la más importante en enterobacterias) es por bombas de expulsión. En bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas como *Neisseria*, *Haemophilus*, *Campylobacter* y *Bacteroides* el mecanismo de resistencia más importante se produce a nivel de la síntesis de proteínas, limitando el acceso del fármaco al ribosoma³⁰.

4.6. Glucopéptidos

La resistencia es debida a la incapacidad de la molécula de atravesar la membrana externa y por tanto de llegar a la diana. Los enterococos poseen genes que codifican enzimas que alteran el aminoácido terminal del peptidoglucano, lugar de unión del fármaco. Tres genes: *vanA*, *vanB* o *vanC* codifican resistencias solo a vancomicina. Los enterococos portadores del gen *vanA* (plasmídico) son resistentes a vancomicina y teicoplanina, mientras que los que tienen *vanB* o *vanC* son resistentes solo a vancomicina⁴⁰. La resistencia de los estafilococos es menos conocida (superproducción de peptidoglucano, unión funcional a otro lugar de la pared)⁴¹.

4.7. Oxazolidinonas

Algunas cepas de *S. aureus* y *Enterococcus faecalis* son resistentes por mutación del lugar de unión en el ribosoma. No tienen resistencia cruzada con ningún antibiótico⁴².

5. MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA

5.1. Transmisión genética horizontal

Se trata de un evento por el cual una bacteria adquiere material genético de otra que no es su progenitor. Mediante este mecanismo la bacteria puede incorporar genes de resistencia. Algunas bacterias pueden obtener estos genes más rápidamente deshaciéndose de las bacterias vecinas para extraer su ADN ⁴³.

La transmisión genética horizontal puede ocurrir en cualquier ambiente, particularmente cuando las cargas bacterianas son altas, por ejemplo, en el suelo, en las plantas de tratamiento de aguas residuales y en el lumen intestinal de los humanos y animales, donde se encuentra la mayor parte de su microbiota. Los genes de resistencia antibiótica pueden ser transferidos horizontalmente a través de varios mecanismos, los más importantes son la transformación, la transducción y la conjugación. Más recientemente, también se ha reconocido el papel de las vesículas de membrana externa (véase **Figura 4**).

5.1.1. Transformación

El ADN desnudo del entorno extracelular es tomado por las bacterias e insertado en sus genomas. El proceso se produce tanto en las bacterias Gram positivas como en las Gram negativas. Las bacterias capaces de tomar ADN del medio ambiente se denominan "competentes". La inanición de nutrientes y la presencia de péptidos que inducen a la competencia se han identificado como factores desencadenantes. Patógenos importantes, como *N. gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae* y *S. pneumoniae* son patógenos naturalmente competentes y han adquirido resistencia a los antibióticos a través de este proceso ⁴⁴.

5.1.2. Transducción

Describe la transferencia de ADN cromosómico y extra cromosómico entre las bacterias a través de un intermediario viral conocido como bacteriófago. Los principales mecanismos de transducción son la generalizada, especializada y la transducción lateral. En conjunto, pueden causar la movilización de cualquier fragmento del genoma de una bacteria.

La transducción generalizada se produce cuando los bacteriófagos del ciclo lítico incorporan secciones del ADN del huésped bacteriano durante la síntesis de la cápside. En la transducción especializada, las regiones que flanquean el sitio de integración de un fago lisogénico son extirpadas y empaquetadas en la cápside. La transducción lateral, por el contrario, se produce cuando los profagos inician la replicación del ADN

mientras aún están integrados en el huésped. Este proceso genera múltiples copias de ADN antes de que se produzca la escisión del genoma del huésped. Una vez extraído, el ADN (que puede contener tanto fagos como los genes adyacentes de hasta cientos de kilobases de longitud) se empaqueta en nuevas partículas fágicas y se transfiere a otras cepas bacterianas ⁴⁵.

El intestino humano contiene una extensa comunidad de bacteriófagos y un número significativo de fagos portadores de genes de resistencia antibiótica. La mayoría de éstos últimos aumenta con el tratamiento de antibióticos. Los experimentos realizados en modelos de ratones han demostrado que la transducción es una fuerza impulsora de la diversidad genética en las cepas de *E. coli* que colonizan el intestino y puede contribuir a la aparición de resistencia a los fármacos en las bacterias intestinales ⁴⁶.

5.1.3. Conjugación

Es un proceso complejo, multi-etapa y dependiente del contacto, en el que el ADN es transportado por medio de un pilus a bacterias muy próximas entre sí. El intestino, con su alta densidad de células bacterianas y su densa capa de moco, proporciona un ambiente propicio para la conjugación. Se ha observado la propagación de los plásmidos de resistencia antibiótica entre los comensales y los patógenos oportunistas mientras colonizan el intestino humano. En particular, los plásmidos conjugados pueden proporcionar la maquinaria que permite la movilización del ADN que no es auto-transmisible, aumentando así enormemente el potencial de transferencia genética horizontal de los determinantes de resistencia ⁴⁷.

Entre los elementos genéticos móviles, los plásmidos conjugativos son posiblemente los más relevantes para la propagación de los genes de resistencia antibiótica, ya que tienen el potencial de transportar múltiples genes de resistencia, debido a su tamaño sustancial (mediana de 90 kbp) y a la presencia común de uno o más módulos de toxina y antitoxina que aseguran que los plásmidos se retengan dentro de sus huéspedes microbianos.

Además, los plásmidos conjugativos suelen ser portadores de genes distintos de los genes de resistencia antibiótica, que contribuyen a la aptitud microbiana, por ejemplo, mediante la codificación de nuevas rutas metabólicas, la tolerancia a los desinfectantes o a los metales pesados ⁴⁸.

5.1.4. Vesículas de membrana

Son estructuras esféricas de 20-250 nm que son producidas predominantemente por bacterias Gram negativas cuando la membrana exterior se aleja de la célula y se libera a través de la constricción. Éstas se fusionan con sus células objetivo, entregando así su carga. Pueden contener beta-lactamasas y estas vesículas protegen

a las células objetivo contra los antibióticos beta-lactámicos. Del mismo modo, también se ha informado de transferencia de ADN y resistencias antibióticas mediada por vesículas en el caso de *E. coli* y *Acinetobacter* ^{49,50}. Además, también pueden envolver contenidos citoplasmáticos, incluido el ADN. Si bien estas vesículas se producen en el intestino y pueden influir potencialmente en las respuestas inmunitarias del huésped, todavía no está claro si también pueden contribuir a la HGT en el microbioma intestinal ⁵¹.

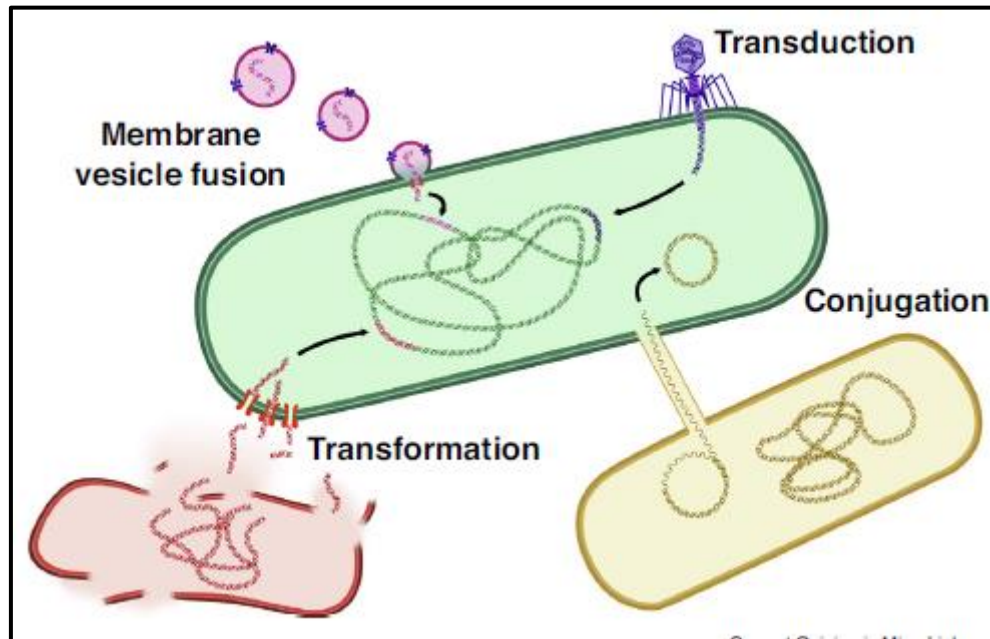


Figura 4. Mecanismos de transmisión genética horizontal ³¹.

Tres científicos estadounidenses han estudiado una especie cercana a *Acinetobacter baumannii* (un patógeno humano clínicamente importante y altamente resistente a los antibióticos) llamado *Acinetobacter baylyi* ⁵², junto con *E. coli* modificada que contiene genes con fluorescencia verde. *A. baylyi* se colocó sobre un medio que permitía crecer a ambas especies. Como los dos tipos de bacterias crecían, *A. baylyi* empezó a matar a *E. coli* y adquirió sus genes, entre otros, los genes de la resistencia antibiótica, haciendo que mientras otras bacterias morían, ella siguiera creciendo y reproduciéndose cuando se le administraba ese antibiótico. Los investigadores desarrollaron un modelo matemático para cuantificar y simular este proceso. El resultado demostró que matar otra bacteria hacía que la transmisión horizontal de genes fuera más eficiente cuando el número de *A. baylyi* era alto mientras que el número de víctimas era bajo, y también cuando ambas permanecían poco tiempo creciendo juntas ⁴².

En otro estudio se ha intentado determinar si la transmisión horizontal de los genes de resistencia a los antibióticos puede ocurrir entre la lechuga y la microbiota del intestino de los mamíferos, usando un modelo de ratón. *A. baylyi*, es un colonizador de lechuga no patógeno que ha demostrado recientemente su capacidad de transferir ADN a diversas bacterias a través de la secreción de vesículas cargadas con ADN

plasmídico en el medio ambiente ⁵³. Para estudiar la transferencia horizontal de genes en hojas de lechuga, han usado un transformante resistente a los antibióticos de *A. baylyi*.

La hipótesis de ese estudio fue que las bacterias ambientales que colonizan los alimentos de origen vegetal pueden servir como plataforma para la persistencia de bacterias resistentes a los antibióticos y para la transferencia horizontal de genes de resistencia a la flora microbiana intestinal de los mamíferos ⁵⁴. Primero se estudió la transferencia de genes de resistencia antibiótica in vitro. Demostraron que el *A. baylyi* ambiental no patógeno es capaz de transferir plásmidos que confieren resistencia a los antibióticos a los aislados clínicos de *E. coli* en los discos de hojas de lechuga. Al concluir el estudio, se confirmó la transformación exitosa de numerosas cepas. Para confirmar que el modelo era aplicable a la transmisión de genes de resistencia a los antibióticos en los productos agrícolas, probaron si la transferencia horizontal de genes podía tener lugar en la superficie de los discos de hojas de lechuga estériles y no estériles. Las menores tasas de transferencia horizontal de genes observadas en las hojas de la lechuga pueden deberse a condiciones de estrés limitadas por los nutrientes que afectan negativamente a la aptitud y la fisiología de las bacterias receptoras. Finalmente estudiaron si el transformante *E. coli* del ensayo en la planta podría entonces colonizar el microbioma del intestino del ratón. El plásmido objetivo de resistencia a los antibióticos, pMU125_zeoR, fue identificado en las heces de ratones hasta 5 días después de la infección, confirmando la sospecha. Además, también se observó la transferencia in vivo del plásmido a la *K. pneumoniae* residente, identificada por cultivo diferencial en medio de CHROMagar y confirmada por la secuenciación del ARN ribosomal 16S ⁵⁴.

Estos hallazgos resaltan el potencial de las bacterias ambientales expuestas a los antibióticos para transmitir genes de resistencia a los patógenos mamíferos durante la ingestión de verduras de hoja.

5.2. Elementos genéticos móviles

Los genes de resistencia antibiótica adquiridos están frecuentemente contenidos dentro del ADN móvil, que puede ser definido como cualquier segmento de ADN que es capaz de translocarse de una parte del genoma a otra o entre genomas.

Los principales protagonistas de la transferencia genética horizontal son los elementos conjugativos y movilizables. Los primeros contienen toda la información genética necesaria para transferirse de una bacteria a otra, mientras que los segundos utilizan las funciones de conjugación de los elementos conjugativos co-residentes (plásmidos o transposones conjugativos) para transferirse a otro huésped ³¹.

Los bacteriófagos también desempeñan un papel en la propagación del ADN entre las bacterias. Son parásitos intracelulares obligados que se multiplican en el interior de las bacterias, haciendo uso de algunas o todas sus maquinarias biosintéticas. Es un

mecanismo por el que los genes bacterianos pueden transferirse de una bacteria a otra y lo hacen mediante un proceso llamado transducción en el que el ADN bacteriano se empaqueta en la cabeza del fago y se inyecta en la bacteria receptora. Están compuestos por un ácido nucleico (puede ser ADN o ARN) y una proteína. A menudo, contienen bases modificadas que protegen al ácido nucleico de las endonucleasas que cortan los ácidos nucleicos del huésped durante la infección. Su estructura está compuesta por una cápside que actúa como una cubierta protectora (formada por muchas copias de una o más proteínas diferentes y en su interior tienen el ácido nucleico) y una cola (es un tubo hueco a través del cual el ácido nucleico pasa durante la infección). Su infección puede tener dos efectos mutuamente excluyentes: lisis de la bacteria o lisogenia, es decir, el mantenimiento del ADN y la supervivencia dependen de la dosis de varios factores reguladores codificados por el genoma del fago en las primeras etapas de la infección ⁵⁵.

Los elementos genéticos móviles a menudo se adquieren por transformación, así como por conjugación. La capacidad de los elementos genéticos móviles que contienen genes de resistencia antibiótica para propagarse está modulada por una serie de factores como las presiones selectivas en el medio ambiente, los factores del huésped y las propiedades de los elementos genéticos ⁵⁶.

Las bacterias tienen un número de sistemas que las protegen de la entrada de ADN extraño, que las permiten identificarlo y destruirlo. Entre ellos encontramos los sistemas de restricción-modificación (cuya función es identificar y digerir determinadas secuencias del ADN entrante que no han sido protegidas por la metilación) y los sistemas de CRISPR-Cas (actúan como memoria de una infección pasada por un elemento móvil y pueden destruir ese elemento si la bacteria lo encuentra de nuevo)⁵⁷. Ambos sistemas pueden ser efectivos para detener la propagación de fagos, elementos conjugados integradores (ICE) y plásmidos ⁵⁸.

Muchos transposones e ICE pueden transponerse insertándose en genes esenciales. Si esto ocurre, el anfitrión morirá. Sin embargo, la transposición es un fenómeno que se produce a muy baja frecuencia ($10^{-6} - 10^{-8}$), ya que está estrictamente regulado por diversos mecanismos (por ejemplo, por inhibición de la expresión de la transposasa). Las condiciones de estrés, entre ellas la exposición a concentraciones sub-inhibitorias de antibióticos, disparan la transposición ⁵⁹. Por ejemplo, los miembros de la familia CTndot de ICE se transfieren con una frecuencia mucho mayor en presencia de tetraciclinas (antibiótico al que codifican la resistencia). Esta es una respuesta ventajosa tanto para el elemento como para la bacteria anfitriona. La transferencia de genes también es más probable en entornos en los que las bacterias están muy próximas entre sí y en gran cantidad (por ejemplo, el intestino y la cavidad oral) ⁶⁰.

5.2.1. Plásmidos

Son elementos extra-cromosómicos que se han encontrado en casi todos los géneros bacterianos ³¹. No son esenciales para el crecimiento de las células normales, de modo que en la mayoría de las condiciones pueden ganarse o perderse sin efecto letal ⁶⁰. Son fragmentos de ADN bacteriano con longitud variable, algunos con capacidad para replicarse independiente de la maquinaria genética que dispone la célula, ya que poseen su propio origen de replicación. Los plásmidos que albergan genes de conjugación se denominan conjugativos y los plásmidos que sólo contienen un origen de transferencia (*oriT*), pero no los genes de conjugación, se denominan movilizables, ya que pueden hacer uso de las funciones de conjugación de los plásmidos conjugativos para transferirse a un nuevo huésped (véase **Figura 5**).

Se han descrito tanto plásmidos circulares como lineales. Los plásmidos circulares en general han sido más investigados que los lineales. Esto probablemente refleja la relativa facilidad con la que se pueden separar del cromosoma bacteriano. Al igual que los plásmidos circulares, los plásmidos lineales son a menudo capaces de conjugarse.

Además de las funciones que intervienen en la replicación y la transferencia, los plásmidos suelen codificar la resistencia a los antibióticos. Si un gen de resistencia está en un plásmido conjugativo o movilizable, entonces tiene el potencial de transferirse a nuevos huéspedes. Algunos plásmidos tienen un amplio rango de hospedador y pueden transferirse entre diferentes especies, mientras que otros tienen un rango de huéspedes mucho más estrecho y son específicos de un género o especie. También hay plásmidos que tienen la capacidad de transferirse a un huésped en particular, pero en el que no pueden replicarse o no se replican bien. En estas circunstancias el plásmido puede perderse. Sin embargo, si contiene un gen de resistencia en un transposón, este elemento genético puede translocarse al cromosoma bacteriano y mantenerse en ausencia del plásmido. Por lo tanto, un plásmido puede contribuir a la propagación de la resistencia sin necesidad de mantenerse en un huésped bacteriano determinado ³¹.

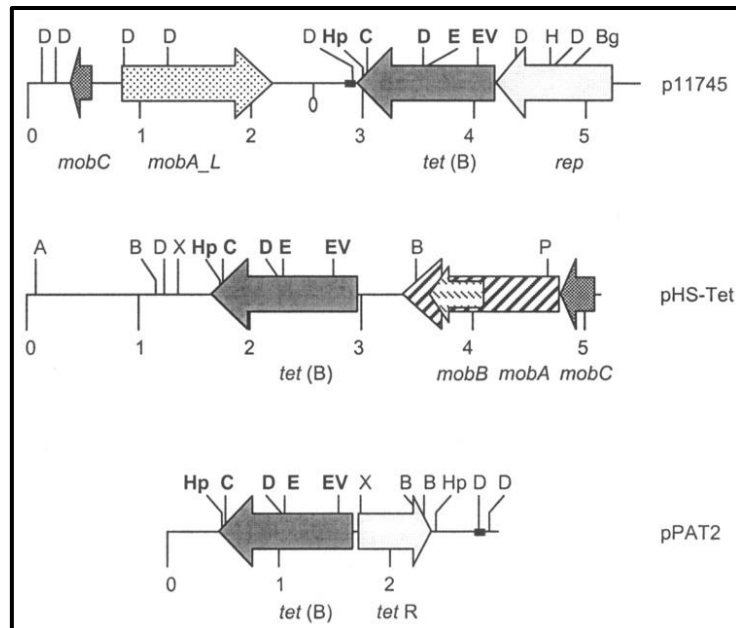


Figura 5. Plásmido p11 745 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en comparación con plásmidos pHS-Tet de *Haemophilus parasuis* y pPAT2 de *Pasteurella aerogenes* ⁶¹.

5.2.2. Transposones

Son secuencias de ADN que pueden ser traslocados entre cromosomas o de un cromosoma a un plásmido o entre plásmidos, gracias a un sistema de recombinación propio. Esto, sumado a la capacidad de los plásmidos de trasladarse de una célula a otra, durante la conjugación, permite la adquisición de genes de resistencia entre bacterias de la misma especie o especies distintas, lo que facilita la expansión de la resistencia ³¹.

Los transposones, también llamados genes saltarines, fueron identificados por primera vez por Barbara McClintock del Laboratorio Cold Spring Harbor de Nueva York hace más de 50 años. Son secuencias de ADN que se mueven de un lugar del genoma a otro. La comunidad científica se mostró inicialmente escéptica ante el descubrimiento de McClintock. Sin embargo, en las décadas siguientes se hizo evidente que no sólo "saltan", sino que también se encuentran en casi todos los organismos (tanto procariotas como eucariotas) y típicamente en grandes cantidades. Por ejemplo, constituyen aproximadamente el 50% del genoma humano y hasta el 90% del genoma del maíz ⁶².

Tipos de transposones:

- Transposón Simple, Secuencia de Inserción o Elemento de Inserción (IS): los transposones simples contienen una secuencia central con información para la transposasa y en los extremos una secuencia repetida en orden inverso. Esta secuencia repetida en orden inverso no es necesariamente idéntica, aunque muy parecida. Cuando un transposón simple se integra en un determinado punto del ADN aparece una repetición directa de la secuencia diana (5-12 pb).
- Transposón Compuesto (Tn): contienen un elemento de inserción (IS) en cada extremo en orden directo o inverso y una región central que además suele contener información de otro tipo, como genes de resistencia a antibióticos (cloranfenicol, kanamicina, tetraciclina, etc.) (véase en **Figura 6**).

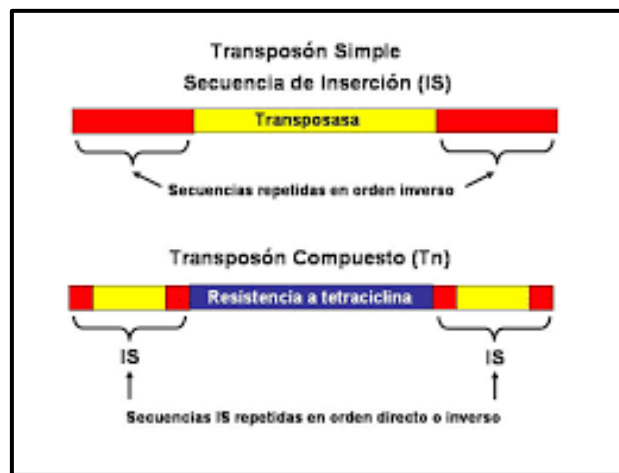


Figura 6. Estructura de un transposón simple y compuesto ⁶³.

Tanto los elementos de inserción como los transposones compuestos tienen que estar integrados en otra molécula de ADN, en el cromosoma bacteriano o en un plásmido, nunca se encuentran libres ⁶⁴.

Hoy en día, los científicos saben que hay muchos tipos diferentes, así como una serie de formas de categorizarlos. Una de las divisiones más comunes es entre las que requieren una transcripción inversa (es decir, la transcripción del ARN en ADN) y las que no. Los primeros elementos se conocen como retrotransposones o TE de clase 1, mientras que los segundos se conocen como transposones de ADN o TE de clase 2. Diferentes clases de elementos transponibles se encuentran en los genomas de diferentes organismos eucariotas.

Además, todos los TE de la clase 1 y la clase 2 contienen repeticiones directas flanqueantes. Éstas, no son parte del elemento transponible, sino que juegan un papel en la inserción del transposón. Además, después de que uno es extirpado, estas repeticiones quedan como "huellas". A veces, estas huellas alteran la expresión del gen

(en el que han quedado), incluso después de que su transposón relacionado se haya desplazado a otro lugar del genoma ⁶². Menos del 2% del genoma humano está compuesto por TE de clase 2. Esto significa que la mayoría de la porción sustancial del genoma humano que es móvil consiste en la otra clase principal de transposones, los retrotransposones ⁶⁵.

Tanto los TE de clase 1 como los de clase 2 pueden ser autónomos o no autónomos. Los TE autónomos pueden moverse por sí mismos, mientras que los elementos no autónomos requieren la presencia de otros TE para poder moverse. Esto se debe a que los elementos no autónomos carecen del gen de la transposasa o transcriptasa inversa que se necesita para su transposición, por lo que deben "tomar prestadas" estas proteínas de otro elemento para poder moverse.

Todos los transposones completos o "autónomos" de clase 2 codifican la proteína transposasa, que requieren para la inserción y la escisión. Algunos de estos transposones también codifican otras proteínas. Los transposones de ADN nunca utilizan intermediarios de ARN, siempre se mueven por sí mismos, insertándose o extirpándose del genoma mediante un mecanismo denominado "cortar y pegar". Los TE de clase 2 se caracterizan por la presencia de repeticiones terminales invertidas, de unos 9 a 40 pares de bases de largo, en ambos extremos. Las repeticiones invertidas son complementarias entre sí.

A diferencia de los elementos de clase 2, los elementos de clase 1 se mueven por la acción de los intermediarios del ARN. En otras palabras, los TE de clase 1 no codifican la transposasa, sino que producen transcripciones de ARN y luego dependen de la actividad transcriptasa inversa para revertir la transcripción de las secuencias de ARN al ADN, que luego se inserta en el sitio diana.

- Retrotransposidores de LTR, que se caracterizan por la presencia de repeticiones terminales largas (LTR) en ambos extremos. Éstos y los transposones de ADN (clase 2) no son capaces de saltar.
- TE no LTR, que carecen de las repeticiones. Ambos genes LINE1, o L1, y Alu representan familias de TE no LTR. En los humanos, estos TE no LTR son la única clase activa de transposones. Aproximadamente la mitad del genoma humano está compuesto por transposones, con una porción significativa de ellos siendo retrotransposones L1 y Alu⁶².

Mucho de lo que hace un transposón depende de dónde se inserta. La inserción de un transposón dentro de un gen puede dar lugar a una mutación, como se descubrió cuando las inserciones de L1 en el gen del factor VIII causaron hemofilia ⁶⁶. De manera similar, unos años más tarde, los investigadores encontraron L1 en los genes APC de las células de cáncer de colon, pero no en los genes APC de las células sanas de los mismos individuos. Esto confirma que la L1 se transpone en las células somáticas de los mamíferos, y que este elemento podría jugar un papel causal en el desarrollo de la enfermedad ⁶⁷.

A diferencia de la L1, la mayoría de los transposones parecen ser silenciosos, es decir, estos elementos no producen un efecto fenotípico, ni se mueven activamente por el genoma. Al menos ese ha sido el consenso científico general. Algunos transposones silenciados están inactivos porque tienen mutaciones que afectan a su capacidad de moverse de una ubicación cromosómica a otra; otros están perfectamente intactos y son capaces de moverse, pero se mantienen inactivos por mecanismos de defensa epigenéticos como la metilación del ADN, la remodelación de la cromatina y los miARNs. En la remodelación de la cromatina, por ejemplo, las modificaciones químicas de las proteínas de la cromatina hacen que ésta quede tan constreñida en ciertas áreas del genoma que los genes y los transposones de esas áreas se silencian porque las enzimas de transcripción simplemente no pueden acceder a ellas ⁶².

Otro ejemplo de silenciamiento de transposón se refiere a las plantas del género *Arabidopsis*. Los investigadores que estudian estas plantas han descubierto que contienen más de 20 secuencias diferentes de transposones mutantes (un tipo de transposón identificado en el maíz). En las plantas silvestres, estas secuencias son metiladas o silenciadas. Sin embargo, en las plantas que tienen un defecto de una de las enzimas responsables de la metilación, estos transposones se transcriben. Además, se han explorado varios fenotipos mutantes diferentes en las plantas con deficiencia de metilación, y estos fenotipos se han vinculado a las inserciones de transposones ⁶⁸.

Basándose en estudios como éstos, los científicos saben que algunos transposones están silenciados epigenéticamente. Sin embargo, en los últimos años, los investigadores han comenzado a preguntarse si ciertos transposones podrían tener ellos mismos un papel en el silenciamiento epigenético ⁶⁹.

Los transposones pueden codificar siARNs que median su propio silenciamiento. Debido a que el movimiento de transposones puede ser destructivo, no es sorprendente que la mayoría de las secuencias de transposones en el genoma humano sean silenciosas, permitiendo así que el genoma permanezca relativamente estable, a pesar de la prevalencia de los transposones. De hecho, los investigadores piensan que del 17% del genoma humano que está codificado por secuencias relacionadas con L1, sólo quedan unos 100 elementos L1 activos. Además, estos pocos transposones activos están inhibidos de saltar por una variedad de mecanismos que van más allá del silenciamiento epigenético.

Los transposones no siempre son destructivos ni tienen efectos perjudiciales. De hecho, los transposones pueden impulsar la evolución de los genomas facilitando la translocación de las secuencias genómicas, el barajado de exones (los elementos transponibles no siempre se expresan perfectamente, dando lugar a la yuxtaposición de dos exones previamente no relacionados, generalmente por transposición, creando así nuevos productos genéticos) y la reparación de roturas de doble cadena. Las inserciones y la transposición también pueden alterar las regiones reguladoras de los genes y los fenotipos. La capacidad de los transposones de aumentar la diversidad genética, junto con la capacidad del genoma de inhibir la mayor parte de la actividad de transposones, da lugar a un equilibrio que hace que los elementos transponibles

sean una parte importante de la evolución y la regulación genética en todos los organismos que llevan estas secuencias⁶².

5.2.3. Integrones

Algunos plásmidos y transposones poseen elementos génicos denominados integrones que les permiten capturar varios genes exógenos determinando la aparición de una resistencia a varios antibióticos (resistencia múltiple)⁷⁰. A diferencia de los transposones, los integrones no están rodeados por secuencias repetidas, además no incluyen ningún gen que codifique las proteínas que catalizan su movimiento⁷¹. Los integrones no son móviles por sí mismos, ya que su integrasa no puede extraer su propio gen de un cromosoma. Depende de la vinculación con las transposasas o recombinasas para la movilidad inter cromosómica.

Los integrones son elementos genéticos que permiten la captura y expresión eficiente de genes exógenos. Se dan en todos los entornos, son capaces de moverse entre especies y linajes y tienen acceso a un gran conjunto de nuevos genes cuyas funciones están aún por determinar (Véase **Figura 7**).

El sistema de integrones tiene dos ventajas clave como medio de innovación genómica. En primer lugar, el nuevo material genético se integra en el genoma de la bacteria en un lugar de recombinación específico (*attI*) y no perturba los genes existentes. En segundo lugar, el gen recién integrado se expresa a través del promotor de integrones (*Pc*) y está instantáneamente listo para ser sometido a la selección natural que confiere fenotipos ventajosos.

Los integrones han desempeñado un papel importante en la adquisición, expresión y diseminación de los genes de resistencia a los antibióticos (en particular entre los patógenos bacterianos Gram negativos). Se han identificado unos 130 grupos de genes de resistencia diferentes⁷².

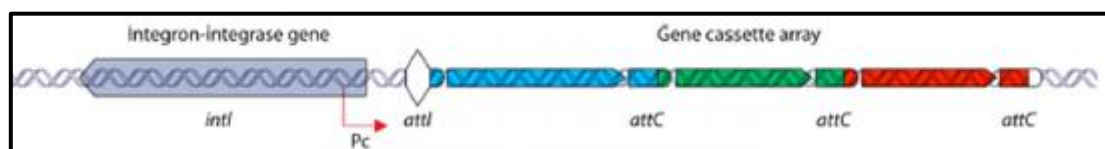


Figura 7. La estructura básica del integrón consiste en el gen codificante de la integrasa (*intI*), el lugar de recombinación específico (*attI*) y un promotor (*Pc*) que permite la expresión de los genes casete insertados en el *attI* del integrón. El sitio de recombinación del casete genético es el *attC*⁷³.

6. EL PROBLEMA DE LAS MICOBACTERIAS MULTIRRESISTENTES

Las micobacterias son agentes de enfermedades infecciosas que han acompañado al hombre a lo largo de su historia. *M. tuberculosis* y *Mycobacterium leprae* son los agentes etiológicos más frecuentes de las dos enfermedades más conocidas de este género. Más adelante fueron identificadas otras micobacterias, constituyendo el grupo de las micobacterias atípicas. El hallazgo de estas últimas estuvo vinculado durante años a la colonización transitoria o contaminación de la muestra clínica, pero fue a partir de 1950 cuando se les asignó un papel en determinadas patologías⁷¹.

Hasta finales del siglo XVIII, la tuberculosis era casi una sentencia de muerte para los pacientes diagnosticados de esta enfermedad. El descubrimiento de *M. tuberculosis* como agente causal por el Dr. Robert Koch en 1882, seguido por el movimiento de los sanatorios en Europa y los Estados Unidos, comenzó a traer mejores tratamientos para la tuberculosis. Sin embargo, fue el posterior descubrimiento de los antibióticos lo que provocó una verdadera revolución, disminuyendo la incidencia de la tuberculosis en todo el mundo.

En la década de 1960, se pensaba que la tuberculosis ya no era un problema de salud pública y que pronto sería erradicada. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró en 1993 la tuberculosis como una emergencia sanitaria mundial y es considerada como la segunda causa de muerte por enfermedad infecciosa, después del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)⁷¹.

La infección por *M. tuberculosis* es tratable y potencialmente curable con una rápida identificación de la resistencia y con una pauta de tratamiento adecuada. Según informes de la OMS, un tercio de la población mundial está infectada con *M. tuberculosis* y aproximadamente el 10% desarrollará la enfermedad a lo largo de su vida. Además, en 2012 se produjeron 1,3 millones de muertes. Una de las principales causas fue el desarrollo de resistencias a los antibióticos. Las mayores cifras de resistencia fueron halladas en Europa del este y Asia central. Las causas de la propagación de las cepas multirresistentes engloban el tratamiento caótico que había en los años 80, donde muchos países no utilizaban protocolos estandarizados y además la adherencia era escasa. También ha supuesto un problema creciente en Sudáfrica, en el que la alta prevalencia del VIH ha propiciado el aumento de la propagación y letalidad de las cepas de *M. tuberculosis* multirresistentes⁷⁴.

Además de su capacidad innata para sobrevivir a los mecanismos de defensa del huésped, la resistencia a la mayoría de los agentes antimicrobianos disponibles actualmente hace que las opciones terapéuticas para el tratamiento de la tuberculosis sean muy limitadas. El uso descuidado de los antibióticos ha creado una presión selectiva que impulsa una rápida evolución de *M. tuberculosis*, a través de la acumulación secuencial de mutaciones de resistencia, pasando de monofármaco resistente a multifármaco resistente (MDR), la cual es definida como aquella que presenta resistencia a los fármacos isoniazida y rifampicina⁷¹. Estos casos son prácticamente incurables por fármacos de primera línea. Para poder tratar estas cepas

es necesario una mayor asociación de fármacos de segunda línea (como las fluoroquinolonas, aminoglicósidos, etionamida, D-cicloserina y ácido p-amino salicílico), que son menos eficaces. Las cepas multirresistentes son uno de los objetivos más difíciles y urgentes para el control global de la tuberculosis. En 2012, el número global de casos por cepas multirresistentes fue de 450.000, de los que el 4% se dan en pacientes nuevos y el 20% en los pacientes conocidos que ya han sido tratados previamente. Europa, sudeste asiático y África son las regiones con el mayor número de multirresistencia, llegando al 50% del número global de casos. El número de muertes ese año 2012 fue de 170.000 personas. Es importantísimo el descubrimiento de nuevos fármacos eficaces para poder hacer frente a las resistencias, y el primer paso para ello llegó con la introducción de la bedaquilina para el tratamiento de *M. tuberculosis* multirresistente⁷⁴.

Una desafortunada consecuencia en el tratamiento de la tuberculosis debido a cepas multirresistentes es que estos medicamentos también han generado resistencia, produciendo la aparición de casos de *M. tuberculosis* con resistencia extrema (TB-XDR), un término definido en el 2006 como aquellos casos de tuberculosis que son resistentes a isoniazida y rifampicina, a una fluoroquinolona y un aminoglucósido inyectable⁷¹. Los primeros casos de esta bacteria fueron descubiertos en 2006, y para 2012, 96 países habían notificado resistencias⁷⁰. Entre los grupos más afectados por las cepas de TB-MDR están los coinfectados con VIH y los privados de libertad, en los que la incidencia llega al 5,6%⁷¹. La única forma de disminuir el número de pacientes de resistencia extrema es el tratamiento adecuado para los pacientes infectados por la bacteria multirresistente⁷⁴.

Esto se convierte en una situación preocupante, debido a la complejidad para hacer los diagnósticos oportunos, por los riesgos de transmisión, lo complejo y prolongado del tratamiento y el impacto económico que puede tener esta enfermedad en el sistema de salud de un país. Las infecciones con cepas de tuberculosis XDR son incurables por los actuales fármacos antituberculosos, lo que amenaza con hacer que la tuberculosis vuelva a ser una enfermedad intratable si no se dispone pronto de nuevas opciones terapéuticas⁷¹.

En cuanto a los mecanismos de resistencia, no se ha observado la existencia de transferencia horizontal de genes. La resistencia clínica a los medicamentos antituberculosos ocurre en gran parte como resultado de la selección de mutantes resistentes durante la falta de adherencia del paciente al tratamiento, inapropiados seguimientos y prescripción médica, dosis subóptimas de fármacos y dificultad de acceso a los servicios de salud y al tratamiento. La transmisión comunitaria también ha ayudado a la propagación de las resistencias. Por último, las infecciones nosocomiales en hospitales grandes y concurridos constituyen un mecanismo transmisor importante de la epidemia, sobre todo en los coinfectados con el VIH. Dentro de las propiedades de las micobacterias, se incluyen factores que se han relacionado con resistencia constitutiva y resistencia adquirida a medicamentos antituberculosos.

Resistencia constitutiva

- Permeabilidad reducida de la pared celular micobacteriana: La pared contiene gran cantidad de lípidos, proteínas y polisacáridos que le confieren una característica hidrófoba con permeabilidad restringida para un gran número de compuestos antibacterianos. Los antibióticos hidrofóbicos pueden ingresar en la célula por difusión a través de la bicapa, mientras que los antibióticos hidrofílicos que no pueden difundir a través de la pared celular utilizan canales como las porinas (OmpATb)⁷⁵.
- Modificación y degradación enzimática de medicamentos: utilizan una serie de estrategias para superar las propiedades tóxicas de los antibióticos (modificación de medicamentos a través de kinasas, acetiltransferasas, adeniltransferasas, glicosiltransferasas y ADP-ribosiltransferasas) ⁷⁶. La modificación enzimática se debe principalmente al ARNr. Este es el caso de los macrólidos, lincosamidas, capreomicina, viomicina y beta-lactámicos ⁷⁷.
- Bombas de expulsión: son proteínas transportadoras localizadas en la membrana citoplasmática de todos los tipos de células y actúan como transportadores activos. Probablemente su papel fisiológico, es proteger a la célula contra moléculas tóxicas, incluyendo antibióticos clínicamente importantes. Esta característica reduce la concentración intracelular de los antibióticos a niveles sub inhibitorios y se piensa que de esa manera promueven la emergencia de fármaco resistencia. Se ha sugerido que dichos sistemas confieren resistencia de bajo nivel a múltiples medicamentos, mejoran su tolerancia y potencian la adquisición y acumulación de mutaciones cromosómicas que confieren altos niveles de resistencia ⁷⁸.

Resistencia adquirida

A través de la adquisición de genes exógenos, plásmidos, transposones, integrones y bacteriófagos. Por lo tanto, la resistencia a medicamentos antituberculosos se debe principalmente a alteraciones en genes que codifican blanco de antibióticos, en productos genéticos involucrados en la activación de profármacos o regiones reguladoras ⁷⁹.

Sin embargo, se han realizado numerosos estudios para describir los mecanismos genéticos de resistencia en *M. tuberculosis*, en los cuales se ha observado que la acumulación de mutaciones en diferentes loci de genes específicos da origen a los fenotipos resistentes MDR y XDR (véase **Tabla 2**).

Antibiótico	Gen	Mecanismo de acción	Mecanismo de resistencia	Frecuencia mutaciones
isoniazida	katG	Codifica para la enzima catalasa-peroxidasa: transforma la INH en el principio activo, inhibiendo la síntesis del ácido micólico	Mutaciones en este gen impiden la activación de la isoniácida	30–60%
	inhA	Codifica la síntesis de la proteína enoil ACP reductasa, implicada en la producción de ácidos grasos de la micobacteria	Mutaciones, inducen sobre-expresión del gen sintetizando altos niveles de la enzima enoil reductasa en cantidades que superan el poder inhibitorio de INH	20–35%
rifampicina	rpoB	Codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa, a la cual se une la rifampicina, interfiriendo en la síntesis del ácido nucleico en el proceso de replicación bacteriana	Mutaciones, impiden la interacción de la RIF con la ARN polimerasa.	96-98%
Fluoroquinolonas	gyrA/ gyrB	Inhiben la actividad de la ADN girasa.	Referirse al punto 1.6.2.1	42-85%
kanamicina/ amikacina	rpsL/ rrs	Impiden la síntesis de proteínas en el ribosoma bacteriano (inhiben la traducción del ARNm. El sitio de acción es la subunidad pequeña del ribosoma 30S (rpsL) y el ARNr 16S (rrs)	Mutaciones en estos genes producen una disminución de la unión de los medicamentos a la unidad ribosomal	> 60%

Tabla 2. Genes asociados con resistencia a medicamentos anti-tuberculosos ⁸⁰.

El ensayo de diagnóstico molecular de primera línea para la detección de la resistencia a los fármacos es el Cepheid Xpert MTB/RIF (GeneXpert), que detecta la presencia de bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y su resistencia a la rifampicina ⁸¹. Identifica rápidamente a los pacientes candidatos para el tratamiento de tuberculosis multirresistente. Las versiones actuales detectan colectivamente la resistencia a la isoniazida, la rifampicina, las fluoroquinolonas y los agentes inyectables de segunda línea. Un desafío adicional es el diagnóstico erróneo de la infección por micobacterias no tuberculosas (NTM), diagnosticándolas como tuberculosas, particularmente en pacientes con historial de tuberculosis previa y otras condiciones pulmonares crónicas. Además, los signos y síntomas clínicos de la infección por NTM son clínica y radiológicamente indistinguibles de la infección tuberculosa, lo que subraya la necesidad de un diagnóstico fiable de base molecular que detecte rápidamente la resistencia al fármaco e iniciar un tratamiento personalizado ⁸².

Por otro lado, el Gold Standard actual necesita varias semanas o meses para dar el resultado, debido a la lenta velocidad de crecimiento de la tuberculosis *in vitro*, y por ello, el tratamiento es a menudo empírico. Provoca, además, la prescripción excesiva de medicamentos con efectos adversos (como la pérdida irreversible de la audición, la toxicidad renal y la hepatotoxicidad) ⁸³.

7. ALTERNATIVAS PARA COMBATIR LA TUBERCULOSIS MULTIRRESISTENTE

El tratamiento antibiótico de la tuberculosis activa requiere 6 meses de terapia combinada con los medicamentos de primera línea (isoniazida, rifampicina, etambutol y pirazinamida). El tratamiento inadecuado genera cepas MDR (*M. tuberculosis* resistentes al menos a isoniazida y rifampicina) así como cepas XDR ⁸⁴.

La tuberculosis es una piedra angular en el desafío mundial de la resistencia a los antibióticos. El descubrimiento de un nuevo tratamiento, en solo seis años reduciría las muertes por tuberculosis a 34.000 cada año, mientras que la introducción de sólo una nueva técnica de diagnóstico estaría salvando 52. 000 vidas. Esto representa una disminución de las muertes por tuberculosis debida a cepas multirresistente del 18% y el 29% respectivamente.

Los resultados mostraron que el impacto combinado de la introducción de una nueva técnica diagnóstica y un nuevo régimen de tratamiento salvaría 100. 000 vidas anuales después de seis años, reduciendo las tasas de mortalidad en un 56% con respecto a su tendencia actual.

En una década, se salvarían 770. 000 vidas, lo que subraya lo importante que podría ser un gran avance en la llegada de nuevos tratamientos y diagnósticos para la tuberculosis (véase **Figura 8**).

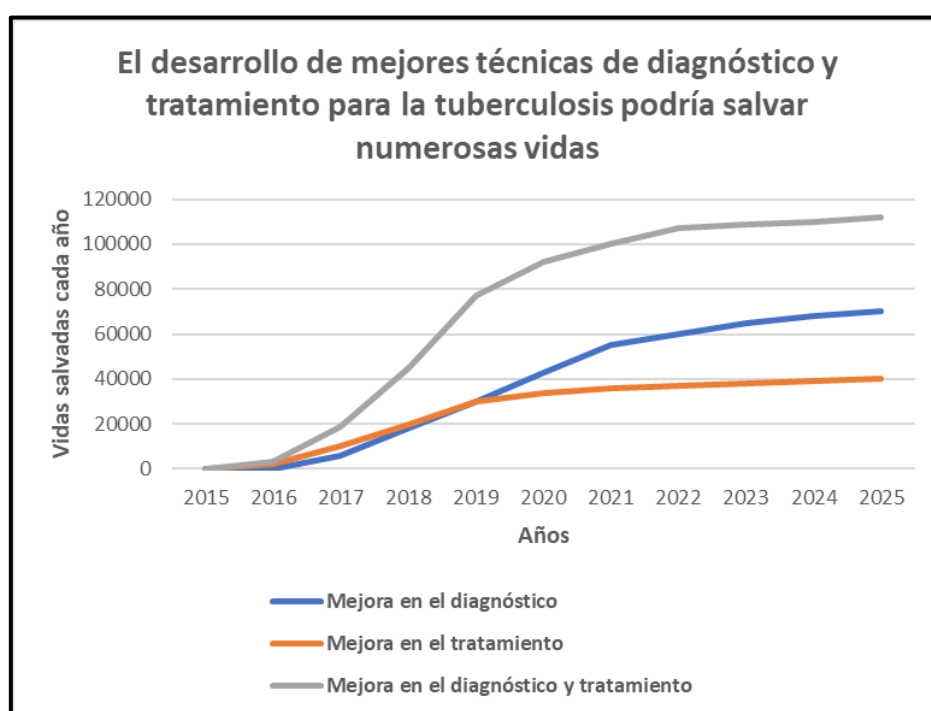


Figura 8. El desarrollo de mejores técnicas de diagnóstico y tratamiento para la tuberculosis salvaría numerosas vidas⁴.

7.1. Clofazimina

Los antibióticos que se utilizan actualmente para el tratamiento de la tuberculosis farmacorresistente suelen ser mal tolerados y no son suficientemente eficaces, con tasas de curación que oscilan entre el 36% y el 50% ⁸⁵. Dado que las opciones terapéuticas son todavía limitadas, la principal estrategia para el tratamiento de la tuberculosis resistente a los medicamentos consiste en reposicionar los agentes antimicrobianos existentes. La clofazimina (CFZ) es uno de esos fármacos que recientemente ha ganado interés. La Organización Mundial de la Salud (OMS), incluyó este fármaco como agente de categoría C en el tratamiento de la tuberculosis multirresistente y de resistencia extendida ⁸⁶.

La CFZ es una riminofenazina hidrofóbica que se sintetizó en 1957 por Barry et al como un antibiótico antituberculoso, pero la monoterapia no tuvo éxito en los primates y los humanos, por lo que el fármaco fue olvidado durante décadas. En 1981 la OMS lo recomendó para el tratamiento de la lepra en combinación con la rifampicina y la dapsona. Su interés en el tratamiento de la tuberculosis ha aumentado recientemente después del estudio realizado por Van Deun y otros, mostrando que un régimen que contenía CFZ y otros medicamentos (incluidas fluoroquinolonas a altas dosis), era muy eficaz contra la tuberculosis multirresistente y podía disminuir la duración del tratamiento en los casos difíciles de tratar ⁸⁴.

El núcleo de fenazina es la estructura principal de la CFZ, con sustitutos de fenilo y un grupo R-imino (véase **Figura 9**). El grupo R-imino tiene características estructurales clave para la actividad antimicrobiana. Aunque los mecanismos de acción todavía no se comprenden del todo, se ha sugerido que la membrana exterior es su principal lugar de acción, y la cadena respiratoria y los transportadores de iones son las posibles dianas. El fármaco CFZ, por tanto, actúa inhibiendo estos objetivos ⁸⁷.

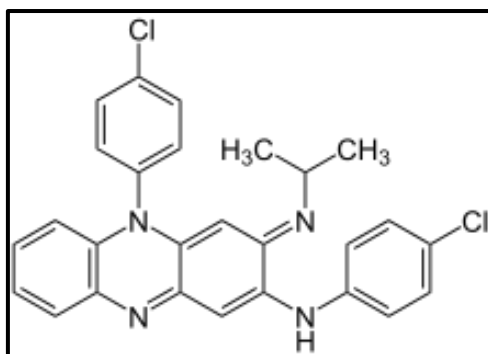


Figura 9. Estructura química de la clofazimina ⁸⁸.

En cuanto a su espectro de actividad se ha visto que es eficaz tanto *in vitro* como *in vivo* contra cepas MDR y XDR, adquiriendo muy baja tasa de resistencia a la CFZ entre los aislados de *M. tuberculosis*. Se ha utilizado en el tratamiento contra la lepra, en el control de la bacteriemia en pacientes coinfectados con VIH-MAC (*Mycobacterium avium complex*) ⁸⁹, para el tratamiento sintomático en la infección por MAC, puede

utilizarse también en las infecciones micobacterianas no tuberculosas y en pacientes que son VIH positivos y ya coinfectados con *Mycobacterium ulcerans* ⁹⁰.

El uso de la CFZ en pacientes con tuberculosis farmacorresistente se asoció con eventos adversos, el más común de los cuales fue la decoloración de la piel y las membranas mucosas. Debido a la falta de regímenes estandarizados de CFZ para el tratamiento de la tuberculosis resistente a los medicamentos, se evaluaron diferentes dosis diarias, que oscilaban entre 50 y 100 mg, y pocas alcanzaban los 300 mg. Se realizaron varios estudios en los que los pacientes fueron asignados al azar a los grupos de terapia y control de la CFZ. La conversión negativa del cultivo de esputo y el cierre de la cavidad se produjo antes en la terapia de la CFZ que en el grupo de control. Además, la tasa de éxito del tratamiento en los pacientes que recibieron CFZ fue mayor (aproximadamente el 75%) que en los controles ⁸⁴.

Chu et al. realizaron otro ensayo clínico aleatorizado y evaluaron el régimen de tratamiento de 189 pacientes infectados con *M. tuberculosis* aislados en 18 hospitales (140 casos de MDR-TB y 49 XDRTB). Los resultados mostraron que las tasas de curación en los regímenes que incluían o excluían la CFZ eran del 67% y 48,5%, respectivamente, por lo que los regímenes que incluían la CFZ tenían un mejor resultado. La mayoría de los pacientes toleraban la CFZ, y el uso a largo plazo tenía una buena seguridad ⁹¹. En otro estudio realizado por Dalcolmo et al. en Brasil sobre la eficacia y la seguridad de la CFZ en la MDR-TB, indicaron que el fármaco es eficaz, seguro y, no aumenta la frecuencia de la resistencia a la CFZ ⁹².

Según los estudios realizados para averiguar si el uso de CFZ era efectivo en aquellos pacientes coinfectados con lepra y tuberculosis, se vio que la CFZ puede utilizarse sola o combinada con otros fármacos antimicrobianos para pacientes de lepra coinfectados con MDR-TB o XDR-TB. También puede emplearse en pacientes que tienen infección por micobacterias no tuberculosas⁸⁴.

El camino para encontrar nuevos antibióticos es largo y costoso. Cuesta entre 800 millones y 1 billón de dólares comercializar un nuevo medicamento, y necesita más de 10 años para aplicarse en clínica. Es por ello necesario buscar otras alternativas ².

7.2. Nanopartículas de metal

Se conocen metales con propiedades antimicrobianas, por lo que una de las alternativas puede ser el desarrollo de nanopartículas de metal como terapia antimicrobiana. Los antimicrobianos que contienen plata producen estrés en las células bacterianas y el galio puede resultar eficaz porque interfiere en la ruta metabólica interrumpiendo el intercambio de iones metálicos, que afectan a la formación del biofilm en la *P. aeruginosa*. Hay ensayos clínicos para probar la eficacia del galio en los pacientes con fibrosis quística. De todas formas, una de las limitaciones de las nanopartículas de metales es su toxicidad y el estrecho margen terapéutico ⁹³.

7.3. Bacterias diseñadas mediante ingeniería genética

Otra de las alternativas es la creación de una bacteria mediante ingeniería genética para la eliminación de la bacteria patológica. Hwang ha diseñado una *E. coli* mediante ingeniería genética capaz de secretar péptidos antimicrobianos como respuesta a las moléculas Quorum Sensing de *P. aeruginosa*, con la capacidad de degradar el biofilm creado por ésta ⁹⁴.

7.4. Péptidos antimicrobianos

El uso de péptidos antimicrobianos es una tercera alternativa. El pexiganan es un péptido natural presente en la piel de *Xenopus laevis* (una rana africana), que es capaz de destruir tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas ⁹⁵. Por ello se encuentra en fase III de ensayo clínico para las úlceras diabéticas.

7.5. Fagoterapia

En algunos países como Georgia, la terapia mediante fagos se ha utilizado durante muchos años. Los bacteriófagos son virus que se aíslan de una muestra ambiental y no ejercen efectos adversos en las personas. Los resultados de los estudios publicados anteriormente revelaron que la fagoterapia podría ser muy eficaz contra diferentes bacterias patógenas como *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus* y *E. coli* ⁹⁶. Sin embargo, hay estudios y datos limitados sobre el papel de la fagoterapia en el tratamiento de las infecciones por micobacterias MDR y XDR.

Entre las principales ventajas de la fagoterapia destaca que los fagos no pueden infectar las células humanas y se replican sólo en la bacteria objetivo. La administración de los fagos es fácil y su concentración aumenta en el lugar de la infección donde lisa el patógeno; por lo tanto, se requieren muy pocas dosis. Para ello, el fago seleccionado debe ser altamente virulento contra *M. tuberculosis* y no debe desencadenar una respuesta inmunológica, limitando sus efectos al lugar de la infección ⁹⁷.

Entre las limitaciones destaca que es muy difícil identificar un fago con características terapéuticas y demostrar que es específico de una cepa bacteriana determinada. La aparición y el desarrollo de la resistencia bacteriana contra los fagos es teóricamente posible, al igual que es posible que los fagos lisogénicos integren su ADN en el genoma de la bacteria y transfieran horizontalmente genes resistentes a la bacteria; por lo tanto, pueden desarrollarse nuevas bacterias resistentes. La formulación y estabilización de los preparados farmacéuticos de los fagos es difícil y presenta varios problemas. Es posible que el sistema inmunológico conduzca a la reducción de la actividad de los fagos en la condición in vivo ⁹⁸.

Normalmente, el transporte de los fagos dentro de los patógenos intracelulares requiere un sistema de entrega como las micobacterias no virulentas (*Mycobacterium smegmatis*) o los liposomas (véase **Figura 10**). *M. smegmatis* desempeña varias funciones: actúa como portador para entregar fagos al patógeno intracelular, puede actuar como huésped y conducir a la alta proliferación del bacteriófago y también es un entorno apropiado para la actividad de los bacteriófagos ⁹⁹.

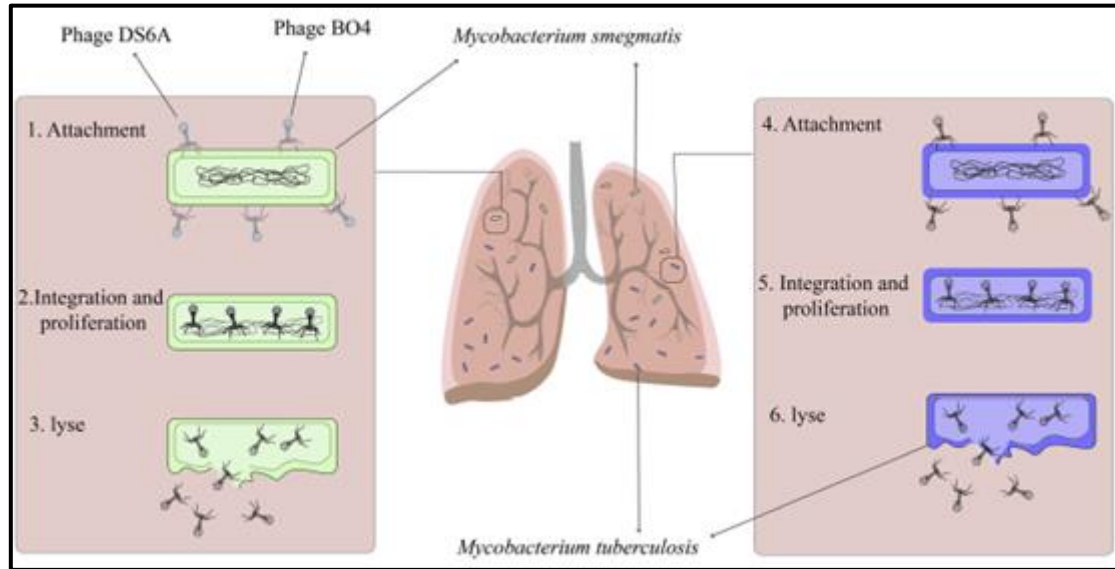


Figura 10. Pasos necesarios en la lisis de *M. tuberculosis* mediada por fagos usando *M. smegmatis* ¹⁰⁰.

7.6. Medicina tradicional china

La regulación de las respuestas inmunitarias del huésped mediante agentes inmunoadyuvantes puede aumentar la eficacia del tratamiento antimicrobiano contra la micobacteriosis. Su uso clínico se sigue asociando a ciertos dilemas graves, como el alto coste y los efectos secundarios. Además, la mayoría de los fármacos inmunoadyuvantes suelen mostrar una eficacia modesta en la potenciación de los mecanismos de defensa del huésped contra las micobacterias, en parte debido a la inducción de citoquinas desactivadoras de los macrófagos y de la prostaglandina E2¹⁰¹. Así pues, para la terapia inmunológica contra las infecciones micobacterianas, puede ser favorable el uso de hierbas medicinales tradicionales chinas que potencian la inmunidad del huésped de manera suave y constante y que pueden ser prescritas a los pacientes a un coste relativamente bajo.

Se cree que las hierbas medicinales ejercen un doble efecto sobre el sistema inmunológico del huésped: por un lado, la elevación de la inmunidad innata y adquirida a través de la expansión de los macrófagos M1 y los linfocitos Th1 y, por otro lado, la inmunorregulación que conduce a la reducción del daño tisular debido al

exceso de manifestación de la inmunidad celular a través de la expansión de los macrófagos M2 y los linfocitos Th2 y Treg¹⁰².

Un estudio reciente de Jiang et al. utilizó un metaanálisis para evaluar la eficacia de un régimen terapéutico basado en hierbas medicinales como terapia concomitante contra la tuberculosis multirresistente (MDR-TB). El estudio, que comprendía 1823 pacientes, mostró que las hierbas medicinales chinas que se administraban a los pacientes de tuberculosis con terapia antimicrobiana daban lugar a un éxito superior del tratamiento (odds ratio = 1,33, $p < 0,001$) y a una mejora radiológica (odds ratio = 1,32, $p < 0,001$) con una baja incidencia de efectos adversos de los fármacos antituberculosos y una tasa de recaída similar a la de los pacientes de control que recibían solo terapia antituberculosa. Observaron el favorable efecto de las hierbas medicinales chinas sobre la tasa de resorción de lesiones pulmonares, la tasa de cierre de cavidades y la tasa de recaída¹⁰³.

7.7. Terapia dirigida por el huésped

Esta alternativa ha cobrado un interés considerable, ya que permitiría optimizar el tratamiento de la tuberculosis acortando la duración del tratamiento, reduciendo el número de agentes antituberculosos necesarios en el tratamiento combinado, evitando la aparición y mejorando el tratamiento de la tuberculosis resistente a los medicamentos, y preservando la función pulmonar al evitar daños extensos en los tejidos¹⁰⁴.

Conferir resistencia es una tarea difícil en este caso, ya que *M. tuberculosis* necesitaría evitar los mecanismos de defensa del huésped, hacerse menos dependiente de los factores del huésped para la replicación y la supervivencia, o hacer extensos cambios mutacionales. Dado que estas moléculas modulan principalmente las funciones de las células huéspedes y pueden administrarse junto con otros agentes antituberculosos, parece ser una estrategia prometedora tanto para evitar la aparición de resistencia a los medicamentos antituberculosos como para, en el caso de las cepas de *M. tuberculosis* MDR y XDR preexistente, abordar estos obstáculos¹⁰⁴.

La neutralización del TNF (juega un papel clave en la formación y mantenimiento de los granulomas) mediante un inhibidor como el etanercept, es de gran interés ya que provoca la alteración de la integridad del granuloma, lo que a su vez aumenta la respuesta a los medicamentos contra la tuberculosis y reduce la patología pulmonar. A su vez, la administración del anticuerpo anti-VEGF, bevacizumab, promueve la normalización vascular y reduce las fracciones hipóxicas facilitando una mejor penetración y eficacia de los actuales fármacos antituberculosos¹⁰⁵.

Debido al hecho de que el equilibrio entre las respuestas pro y antiinflamatorias del huésped es crítico tanto para el control de las micobacterias como para la patología pulmonar, la focalización de la respuesta inflamatoria a través de este método constituye otra estrategia interesante. El equilibrio inflamatorio del huésped está

influido por un lado por el nivel de lipoxina A4 (LXA4), que es clave en el control de la progresión de la tuberculosis y por otro por el leucotrieno B4 (LTB4), que causa hiperinflamación y aumenta la gravedad de la enfermedad. Por consiguiente, atenuar las respuestas inflamatorias excesivas del huésped podría ser beneficioso durante el tratamiento y podría mejorar el resultado de la enfermedad ¹⁰⁶.

7.8. Prevención y vacunación

La prevención de infecciones es muy importante como estrategia. Cuanta menos gente se infecte, menos antibióticos serán necesarios y en consecuencia menos resistencias aparecerán. El acceso a agua limpia y un sistema sanitario efectivo limitan la propagación de infecciones. Los profesionales de la salud deben realizar una correcta higiene de manos, así como del instrumental y entorno. Deben prescribir antibióticos únicamente cuando sean necesarios, así como informar a los pacientes sobre cómo tomarlos y los peligros de su mal uso. También es importante que notifiquen las resistencias a los equipos de vigilancia.

Dentro de las medidas preventivas también se encuentran las vacunas que, entre sus múltiples ventajas, destaca la capacidad de producir inmunidad de rebaño haciendo que disminuya la transmisión del patógeno ². Como ejemplo, destaca la PVC (vacuna neumocócica conjugada) que durante el año 2001 en los EE. UU. se administró a los niños, produciendo un descenso en las infecciones por neumococo, incluidos las infecciones por bacterias resistentes. Los casos de resistencia a penicilina descendieron en un 81%. Esto demuestra la importancia de la inmunidad de rebaño en las infecciones bacterianas, ya que lleva a un descenso del 50% en el número de casos por bacterias resistentes a penicilina. Algo parecido ocurrió en 1990 con la vacuna conjugada del *H. influenzae B* (Hib), que produjo un descenso importante en las cepas resistentes¹⁰⁷. Pero para que las vacunas sean una alternativa a este problema deben mejorarse a medida que vayan apareciendo cepas nuevas. Es decir, la vacuna antineumocócica introducida en 2001 era capaz de proteger ante 7 serotipos, lo que produjo un aumento en el resto de los serotipos. Esto ha hecho que sea necesario la modificación de la PVC, que cubre ahora otros 6 serotipos y ofrece mayor protección ².

La vacuna BCG (basada en una forma viva atenuada de *Mycobacterium bovis* aislada de las vacas) continúa siendo la única vacuna autorizada contra la tuberculosis. En enero de 2021 se publicó un trabajo revolucionario dirigido por el investigador Carlos Martín de la Universidad de Zaragoza, donde se comparó la protección de la vacuna MTBVAC con la actual vacuna BCG en un modelo de tuberculosis respiratoria en macacos Rhesus. MTBVAC es un producto biotecnológico que se construyó a partir de una cepa clínica de *M. tuberculosis* perteneciente al linaje 4 (patrón de distribución mundial) aislada de un paciente tuberculoso. Mediante ingeniería genética se eliminaron los genes responsables de la virulencia de esta cepa, obteniendo así una bacteria viva, incapaz de causar la enfermedad, pero sí de estimular el sistema inmune ¹⁰⁸.

La vacunación con MTBVAC (administrada en una sola dosis por vía intradérmica) demostró mediante TC y anatomía patológica una protección significativamente mejor a la exposición por aerosol de *M. tuberculosis* cuando se comparó con la vacuna BCG (administrada en las mismas condiciones de la anterior). El MTBVAC contiene todos los antígenos presentes en *M. tuberculosis*, incluidos los de la región RD1, que están ausentes de BCG y se han asociado con una mejor protección en modelos animales. MTBVAC construido a partir de una cepa clínica perteneciente al linaje 4, protege también frente a los diferentes linajes de *M. tuberculosis*, lo que permite anticipar una buena protección de MTBVAC frente a las principales cepas de *M. tuberculosis* circulantes a nivel mundial (véase **Figura 11**)¹⁰⁹.

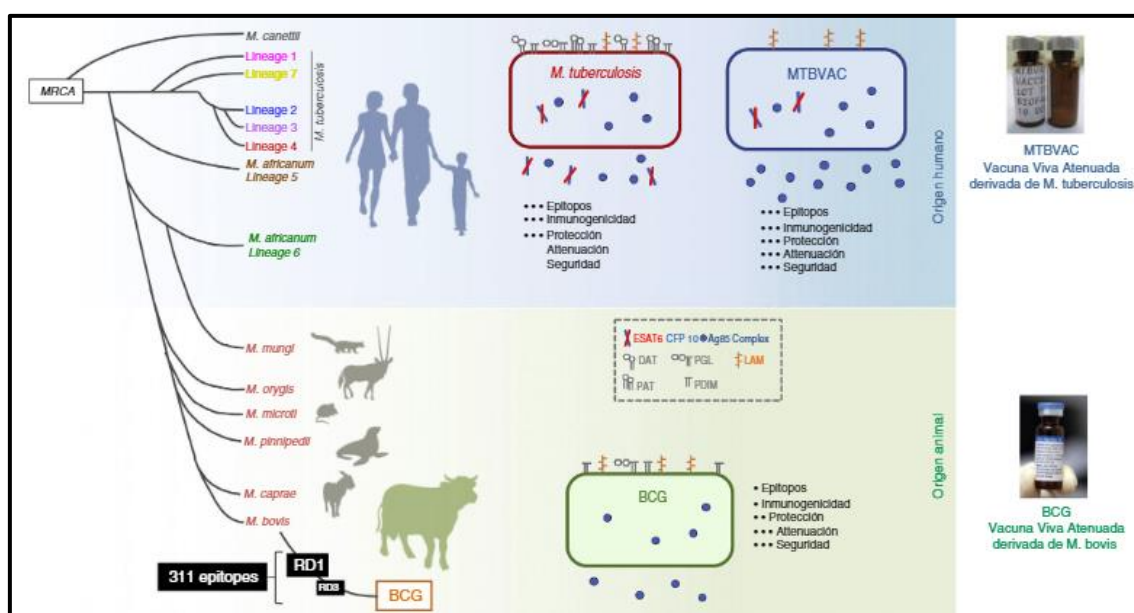


Figura 11. Diferencias entre MTBVAC y BCG¹¹⁰.

La seguridad e inmunogenicidad del MTBVAC se demostró con estudios en fase Ia en adultos en Suiza¹¹¹ y fase Ib en bebés en Sudáfrica¹¹² donde demostró que el MTBVAC es tan seguro como la BCG y más inmunogénico. Actualmente se están desarrollando en Sudáfrica los estudios en fase IIa en adultos infectados y no infectados con tuberculosis y en recién nacidos¹¹³ para seleccionar la dosis a estudiar, su seguridad y e inmunogenicidad en un mayor número de participantes. El macaco Rhesus ofrece un modelo riguroso, en el que sólo una nueva vacuna contra la tuberculosis ha proporcionado una protección significativamente superior en comparación con la BCG administrada por vía intradérmica. En conjunto, estos datos apoyan el desarrollo de MTBVAC como una vacuna profiláctica más eficaz contra la tuberculosis¹⁰⁹.

Dado que también se utilizan antibióticos en pacientes con infecciones virales con el objetivo de evitar una sobreinfección bacteriana, el desarrollo de nuevas vacunas capaces de disminuir muchas infecciones no haría necesaria la administración de tantos antibióticos. Por ejemplo, los escasos datos disponibles hasta la fecha muestran

que algunos pacientes con coronavirus (1% a 10%) contraen infecciones bacterianas secundarias ¹¹⁴.

Hay circunstancias en las que es necesario el uso de antibióticos en agricultura, para mantener el bienestar de los animales o de la comida. Pero es para prevenir infecciones y fomentar la ganancia de peso para lo que la mayoría de los antibióticos se utilizan en este sector. El sector agrícola debe vacunar a los animales y utilizar alternativas a los antibióticos siempre que las haya, así como garantizar la calidad del producto durante toda su producción, sin olvidarse de mejorar la higiene y el bienestar de los animales. En el caso de ser necesario administrar antibióticos a los animales, se realizará únicamente bajo supervisión veterinaria, y siempre que sea posible se deberán evitar antibióticos de última línea para humanos ⁴.

7.9. Investigación y desarrollo

De igual forma es imprescindible el diagnóstico rápido, mediante el estudio de las especies bacterianas que causan la enfermedad, lo que hará que disminuya la administración empírica de antibióticos ².

Existe un problema entre la oferta y la demanda que debe solucionarse. Por un lado, la oferta de medicamentos en los últimos años es insuficiente. Por otro, la demanda de los antimicrobianos está muy mal gestionada, principalmente la de los antibióticos, que son empleados en personas y animales que no los necesitan, dejando a los que verdaderamente los necesitan sin acceso a ellos.

Para fomentar la investigación de nuevos antibióticos, resulta imprescindible el reconocimiento de las personas que se dedican a las enfermedades infecciosas. En EE. UU., éstos son los médicos peor pagados entre 25 especialidades médicas. No solo hay una gran diferencia económica, también es muy diferente el prestigio de las personas que se dedican a éste área. Además, las compañías farmacéuticas tampoco invierten en la investigación de nuevos antibióticos, a pesar de la gran necesidad. La falsa percepción de que las infecciones forman parte del pasado, ha hecho que haya un reajuste de prioridades (excepto para las investigaciones del VIH). Con lo que nadie contaba era con el impacto de las zoonosis y el aumento de la propagación de infecciones en un mundo en el que los desplazamientos forman parte del día a día. Todo esto ha llevado a las empresas farmacéuticas a dejar de lado el estudio sobre nuevos antibióticos, para dedicarse a otras áreas, no por ser más fáciles, sino por un rendimiento comercial más elevado. En la oncología por ejemplo a partir de 2010, el número de fármacos comercializados duplicó el del año 2000. Por el contrario, a partir de 1980 el número de antibióticos comercializados ha ido disminuyendo, hasta que en el periodo entre 2008-2012 solo hubo dos fármacos aprobados por la FDA ⁴.

De los 38 billones de dólares invertidos en I+D farmacéutico entre 2003-2013, solo 1.8 billones de dólares fueron destinados para la investigación de nuevos antibióticos.

El NIH (Instituto Nacional de Salud de EE. UU.) entre 2009-2014, solo destinó el 1,2% de todo su fondo para dicho propósito, comparado con el 18,6% que fue destinado a la investigación del cáncer. Esta pérdida de interés e inversión por compañías y gobiernos ha contribuido a disminuir el prestigio y atractivo de este campo ¹¹⁵.

No obstante, hay dos programas específicos que apoyan la investigación de nuevos antibióticos como son la Agencia Biomédica de Investigación y Desarrollo (BARDA), junto con la Iniciativa Europea para la Innovación en Medicina (IMI), que ofrecen el 20% del apoyo financiero de todos los antibióticos que se están investigando actualmente, y la mitad de ellos destinados específicamente para investigación en bacterias Gram negativas ¹¹⁶. Es importante por tanto el apoyo de distintos fondos para combatir esta amenaza. Para ello en febrero de 2015 se creó el Fondo Fleming que ha contribuido con 375 millones de dólares destinado a mejorar la situación de las bacterias multirresistentes en los países más desfavorecidos. El gobierno chino y el del Reino Unido también han contribuido con 50 millones de dólares para el Fondo de Innovación Global. Invertir en diferentes fondos hoy, puede disminuir el elevado coste que supondrá el crecimiento de las resistencias en el futuro. Al fin y al cabo, los gobiernos deberán antes o después lidiar con el coste que generan las bacterias multirresistentes. La respuesta más eficaz y coste efectiva es sin duda anticiparse a la amenaza. Pero, resulta más fácil actuar frente a amenazas visibles en vez de aquellas a largo plazo ⁴.

En definitiva, es necesario a su vez un cambio de actuación en todos los sectores. Por un lado, la población general debe tomar las medidas de prevención básicas, como la correcta higiene de manos, evitar el contacto cercano con enfermos, adoptar las medidas de protección precisas en las relaciones sexuales, mantener la vacunación al día y garantizar la inocuidad de los alimentos (limpieza, separar los alimentos crudos de los cocinados, cocinar los alimentos completamente, mantener los alimentos a temperaturas seguras). Así mismo se aconseja el consumo de alimentos para los que no se han utilizado antibióticos que estimulen el crecimiento. Los antibióticos se tomarán únicamente cuando los prescriba un profesional sanitario cualificado, y siguiendo siempre las instrucciones dadas para su correcto uso ⁴.

8. CONCLUSIÓN

La resistencia a los antibióticos no es un fenómeno nuevo, las bacterias siempre han sido capaces de adaptarse y desarrollar mecanismos de resistencia a los antibióticos. Pero esta situación se ha vuelto aún más crítica con la disminución de fármacos eficaces y la falta de nuevas moléculas. En consecuencia, las publicaciones de diversos autores previamente citados en este trabajo tratan de alertarnos sobre la necesidad de reaccionar.

Afortunadamente, todavía hay muchas cosas que podemos hacer para remediar el problema. En primer lugar, debemos adquirir un mejor conocimiento tanto de los mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos como de los mecanismos de resistencia de los microorganismos.

En segundo lugar, necesitamos nuevas técnicas para el diagnóstico rápido de la infección bacteriana y mejores esquemas de vigilancia de las resistencias.

En tercer lugar, ésta es una batalla conjunta y es necesario que los países de todo el mundo se unan para implementar regulaciones estrictas en la administración de antibióticos en los sectores médico y agrícola. De igual forma, son necesarios fondos suficientes y el apoyo de las empresas farmacéuticas, gobiernos y el mundo académico para promover la investigación y el desarrollo de nuevos antimicrobianos, porque necesitamos nuevas moléculas con nuevas estructuras químicas. Mientras tanto, es importante explorar estrategias alternativas como la fagoterapia, los péptidos antimicrobianos, las vacunas, el uso de la clofazimina, hierbas medicinales, terapia dirigida por el huésped, bacterias diseñadas por ingeniería genética, nanopartículas de metal, etc. ya que ofrecen otra vía para detener y prevenir la resistencia a los medicamentos.

La continua propagación de la tuberculosis multirresistente es uno de los desafíos más urgentes y difíciles al que nos enfrentamos. *M. tuberculosis* al igual que otros muchos agentes microbianos, ha sobrevivido gracias a una resistencia progresiva a los antituberculosos más utilizados. Las mutaciones adquiridas en los genes que codifican las proteínas han permitido que las bacterias evolucionen rápidamente hacia la resistencia a los antibióticos. Uno de los principales motivos que ha acelerado la adquisición de resistencia, es el incumplimiento de los regímenes de tratamiento, lo que permite la transmisión continua en las comunidades, junto con la debilidad de los sistemas médicos.

Aunque los pacientes que albergan cepas de MDR y XDR presentan un gran desafío para el tratamiento, la identificación temprana de la resistencia y el uso de un régimen diseñado adecuadamente, pueden hacer posible la curación. Pero como ocurre en otros microorganismos, una mejor comprensión de los mecanismos de resistencia a los fármacos en *M. tuberculosis* ayudaría a desarrollar pruebas moleculares más fiables y aumentar la eficacia del tratamiento.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon [Internet]. Vol. 109, Pathogens and Global Health. Maney; 2015 [citado 1 Sep 2020]. p. 309–18. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/2047773215Y.0000000030>
2. Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: Lessons for the future? [Internet]. Vol. 90, Yale Journal of Biology and Medicine; 2017 [citado 1 Sep 2020]. p. 135–45. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5369031/>
3. Durán L. Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario [Internet]. Vol. 29, Revista Médica Clínica Las Condes. Elsevier; 2018 [citado 7 Mar 2021]. p. 213–21. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864018300294>
4. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations [Internet]. 2019 [citado 1 Sep 2020]. p. 1–35. Disponible en: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final paper with cover.pdf
5. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [Internet]. [citado 22 Abr 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
6. Saker L, Lee K, Cannito B, Gilmore A, Campbell-Lendrum D. Globalization and Infectious Diseases: A review of linkages (WHO) [Internet]. Social, Economic and Behavioural (SEB) Research. 2002 [citado 8 Ene 2021]. p. 55. Disponible en: https://www.who.int/tdr/publications/documents/seb_topic3.pdf
7. Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin [Internet]. Vol. 146, Nature. 1940 [citado 3 Ene 2021]. p. 837. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/146837a0>
8. Rammelkamp CH. Observations on resistance of *Staphylococcus aureus* to action of tyrothricin [Internet]. Vol. 49, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. SAGE; 1942 [citado 7 Mar 2021]. p. 346–50. Disponible en: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-49-13559>
9. Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. Hospitals, 1975–1991 [Internet]. Vol. 13, Infection Control & Hospital Epidemiology. Cambridge University Press (CUP); 1992 [citado 10 Ene 2021]. p. 582–6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1469266/>

10. Koornhof HJ, Wasas A, Klugman K. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: a South African perspective [Internet]. Vol. 15, Clinical Infectious Diseases. Oxford Academic; 1992 [citado 3 Ene 2021]. p. 84–94. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/clinids/15.1.84>
11. Phillips I. Beta-lactamase producing penicillin resistant gonococcus [Internet]. Vol. 308, The Lancet. Elsevier; 1976 [citado 3 Ene 2021]. p. 656–7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673676924661>
12. Tanwar J, Das S, Fatima Z, Hameed S. Multidrug resistance: an emerging crisis [Internet]. Vol. 2014, Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. Hindawi Limited; 2014 [citado 3 Ene 2021]. p. 7. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2014/541340>
13. Duval RE, Grare M, Demoré B. Fight against antimicrobial resistance: We always need new antibacterials but for right bacteria [Internet]. Vol. 24, Molecules. MDPI AG; 2019 [citado 1 Sep 2020]. p. 3152. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/17/3152>
14. Morgan DJ, Okeke IN, Laxminarayan R, Perencevich EN, Weisenberg S. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review [Internet]. Vol. 11, The Lancet Infectious Diseases. Elsevier; 2011 [citado 3 Ene 2021]. p. 692–701. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70054-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70054-8)
15. McNulty CAM, Boyle P, Nichols T, Clappison P, Davey P. Don't wear me out - The public's knowledge of and attitudes to antibiotic use [Internet]. Vol. 59, Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Oxford Academic; 2007 [citado 3 Ene 2021]. p. 727–38. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkl558>
16. André M, Vernby Å, Berg J, Lundborg CS. A survey of public knowledge and awareness related to antibiotic use and resistance in Sweden [Internet]. Vol. 65, Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Oxford Academic; 2010 [citado 3 Ene 2021]. p. 1292–6. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkq104>
17. Suetens C, Hopkins S, Kolman J, Högberg LD. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals 2011–2012. [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control; 2013 [citado 10 Ene 2021]. p. 1–216. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-PPS.pdf>
18. MacDougall C, Polk RE. Variability in rates of use of antibacterials among 130 US hospitals and risk-adjustment models for interhospital comparison [Internet]. Vol. 29, Infection Control & Hospital Epidemiology. Cambridge University Press (CUP); 2008 [citado 3 Ene 2021]. p. 203–11. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/infection-control-and-hospital->

epidemiology/article/abs/variability-in-rates-of-use-of-antibacterials-among-130-us-hospitals-and-riskadjustment-models-for-interhospital-comparison/6A3930B065F9480F0AE8450D00AF1DB7

19. The bacterial challenge: time to react [Internet]. ECDC/EMA; 2009 [citado 3 Ene 2021]. p. 1–54. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2009/11/WC500008770.pdf
20. Stockwell VO, Duffy B. Use of antibiotics in plant agriculture [Internet]. Vol. 31, International Office of Epizootics (OIE). 2012 [citado 3 Ene 2021]. p. 199–210. Disponible en: <https://ir.library.oregonstate.edu/concern/articles/5999n851c?locale=en>
21. Novo A, André S, Viana P, Nunes OC, Manaia CM. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater [Internet]. Vol. 47, Water Research. Elsevier; 2013 [citado 3 Ene 2021]. p. 1875–87. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135413000274>
22. Shrivastava SR, Shrivastava PS, Ramasamy J. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics [Internet]. Vol. 32, JMS - Journal of Medical Society. Regional Institute of Medical Sciences; 2018 [citado 4 Ene 2021]. p. 76–7. Disponible en: <http://www.jmedsoc.org/text.asp?2018/32/1/76/211097>
23. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis [Internet]. Vol. 19, The Lancet Infectious Diseases. Lancet Publishing Group; 2019 [citado 8 Ene 2021]. p. 56–66. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
24. Falagas ME, Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? [Internet]. Vol. 29, International Journal of Antimicrobial Agents. Elsevier; 2007 [citado 4 Ene 2021]. p. 630–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.12.012>
25. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance [Internet]. Vol. 18, Clinical Microbiology and Infection. Blackwell; 2012 [citado 4 Ene 2021]. p. 268–81. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
26. Zerbaxa [Internet]. European Medicines Agency. 2021 [citado 23 Abr 2021]. p. 1–30. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zerbaxa-epar-product-information_en.pdf

27. Zavicefta [Internet]. European Medicines Agency. 2020 [citado 4 Ene 2021]. p. 1–3. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zavicefta-epar-medicine-overview_en.pdf
28. Vaborem [Internet]. European Medicines Agency. 2019 [citado 4 Ene 2021]. p. 1–34. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vaborem-epar-product-information_en.pdf
29. Veve MP, Wagner JL. Lefamulin: Review of a promising novel pleuromutilin antibiotic [Internet]. Vol. 38, Pharmacotherapy. Pharmacotherapy Publications Inc.; 2018 [citado 4 Ene 2021]. p. 935–46. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/phar.2166>
30. Pérez RMD. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria [Internet]. Vol. 22, Sistema Nacional de Salud. 1998 [citado 1 Sep 2020]. p. 57–67. Disponible en: <http://www.msc.es/fr/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
31. van Hoek AHAM, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJM. Acquired antibiotic resistance genes: an overview [Internet]. Vol. 2, Frontiers in Microbiology. 2011 [citado 5 Oct 2020]. p. 203. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00203>
32. Chávez-Jacobo VM. La batalla contra las superbacterias: No más antimicrobianos, no hay ESKAPE [Internet]. Vol. 23, TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 2020 [citado 7 Abr 2021]. p. 1–11. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2020000100201&lng=es&nrm=iso&tIng=es
33. McNeil MR, Brennan PJ. Structure, function and biogenesis of the cell envelope of mycobacteria in relation to bacterial physiology, pathogenesis and drug resistance; some thoughts and possibilities arising from recent structural information [Internet]. Vol. 142, Research in Microbiology. Elsevier; 1991 [citado 5 Ene 2021]. p. 451–63. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(91\)90120-Y](https://doi.org/10.1016/0923-2508(91)90120-Y)
34. Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell wall: Structure and role in natural resistance to antibiotics [Internet]. Vol. 123, FEMS Microbiology Letters. Oxford Academic; 1994 [citado 6 Ene 2021]. p. 11–8. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07194.x>
35. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new β -Lactamases [Internet]. Vol. 352, New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society; 2005 [citado 4 Ene 2021]. p. 380–91. Disponible en: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmra041359>

36. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat [Internet]. Vol. 14, Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology Journals; 2001 [citado 4 Ene 2021]. p. 933–51. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/cmr/14/4/933.full.pdf>
37. Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones [Internet]. Vol. 41, Clinical Infectious Diseases. University of Chicago Press; 2005 [citado 4 Ene 2021]. p. S120–6. Disponible en: http://academic.oup.com/cid/article/41/Supplement_2/S120/307501/Mechanisms-of-Resistance-to-Quinolones
38. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes [Internet]. Vol. 57, Microbiological Reviews. 1993 [citado 4 Ene 2021]. p. 138–63. Disponible en: <https://mmb.asm.org/content/mmb/57/1/138.full.pdf>
39. Poehlsgaard J, Douthwaite S. The bacterial ribosome as a target for antibiotics [Internet]. Vol. 3, Nature Reviews Microbiology. 2005 [citado 4 Ene 2021]. p. 870–81. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1265>
40. Depardieu F, Podglajen I, Leclercq R, Collatz E, Courvalin P. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression [Internet]. Vol. 20, Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology Journals; 2007 [citado 4 Ene 2021]. p. 79–114. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/cmr/20/1/79.full.pdf>
41. Woodford N, Johnson AP, Morrison D, Speller DCE. Current perspectives on glycopeptide resistance [Internet]. Vol. 8, Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology; 1995 [citado 4 Ene 2021]. p. 585–615. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/cmr/8/4/585.full.pdf>
42. Cooper RM, Tsimring L, Hasty J. Inter-species population dynamics enhance microbial horizontal gene transfer and spread of antibiotic resistance [Internet]. Vol. 6, eLife. eLife Sciences Publications; 2017 [citado 6 Ene 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.7554/eLife.25950.001>
43. McInnes RS, McCallum GE, Lamberte LE, van Schaik W. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome [Internet]. Vol. 53, Current Opinion in Microbiology. Elsevier; 2020 [citado 28 Sep 2020]. p. 35–43. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.002>
44. Blokesch M. Natural competence for transformation [Internet]. Vol. 26, Current Biology. Cell Press; 2016 [citado 6 Ene 2021]. p. R1126–30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.058>

45. Chen J, Quiles-Puchalt N, Chiang YN, Bacigalupe R, Fillol-Salom A, Chee MSJ, et al. Genome hypermobility by lateral transduction [Internet]. Vol. 362, Science. American Association for the Advancement of Science; 2018 [citado 6 Ene 2021]. p. 207–12. Disponible en: <https://science.sciencemag.org/content/sci/362/6411/207.full.pdf>
46. Modi SR, Lee HH, Spina CS, Collins JJ. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome [Internet]. Vol. 499, Nature. Nature Publishing Group; 2013 [citado 6 Ene 2021]. p. 219–22. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature12212>
47. Ramsay JP, Firth N. Diverse mobilization strategies facilitate transfer of non-conjugative mobile genetic elements [Internet]. Vol. 38, Current Opinion in Microbiology. Elsevier; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 1–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.003>
48. Pal C, Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential [Internet]. Vol. 16, BMC Genomics. BioMed Central; 2015 [citado 6 Ene 2021]. p. 1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2153-5>
49. Yaron S, Kolling GL, Simon L, Matthews KR. Vesicle-mediated transfer of virulence genes from *Escherichia coli* O157:H7 to other enteric bacteria [Internet]. Vol. 66, Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology; 2000 [citado 6 Ene 2021]. p. 4414–20. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/66/10/4414.full.pdf>
50. Rumbo C, Fernández-Moreira E, Merino M, Poza M, Mendez JA, Soares NC, et al. Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: A new mechanism of dissemination of carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii* [Internet]. Vol. 55, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology Journals; 2011 [citado 6 Ene 2021]. p. 3084–90. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/55/7/3084.full.pdf>
51. Shen Y, Torchia MLG, Lawson GW, Karp CL, Ashwell JD, Mazmanian SK. Outer membrane vesicles of a human commensal mediate immune regulation and disease protection [Internet]. Vol. 12, Cell Host and Microbe. Cell Press; 2012 [citado 6 Ene 2021]. p. 509–20. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.004>
52. Carvalheira A, Silva J, Teixeira P. Lettuce and fruits as a source of multidrug resistant *Acinetobacter* spp. [Internet]. Vol. 64, Food Microbiology. Academic Press; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 119–25. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.005>

53. Fulsundar S, Harms K, Flaten GE, Johnsen PJ, Chopade BA, Nielsen KM. Gene transfer potential of outer membrane vesicles of *Acinetobacter baylyi* and effects of stress on vesiculation [Internet]. Vol. 80, Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology; 2014 [citado 10 Ene 2021]. p. 3469–83. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/80/11/3469.full.pdf>
54. Maeusli M, Lee B, Miller S, Reyna Z, Lu P, Yan J, et al. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance from *Acinetobacter baylyi* to *Escherichia coli* on lettuce and subsequent antibiotic resistance transmission to the gut microbiome [Internet]. Vol. 5, mSphere. American Society for Microbiology; 2020 [citado 6 Ene 2021]. Disponible en : <https://msphere.asm.org/content/msph/5/3/e00329-20.full.pdf>
55. Mayer G. Bacteriófagos [Internet]. Microbiología e inmunología. [citado 2020 Oct 3]. Disponible en: <https://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter7.htm>
56. Kovács ÁT, Smits WK, Mirończuk AM, Kuipers OP. Ubiquitous late competence genes in *Bacillus* species indicate the presence of functional ADN uptake machineries [Internet]. Vol. 11, Environmental Microbiology. John Wiley & Sons, Ltd; 2009 [citado 6 Ene 2021]. p. 1911–22. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1462-2920.2009.01937.x>
57. Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, Brouns SJJ, Charpentier E, Horvath P, et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems [Internet]. Vol. 9, Nature Reviews Microbiology. Nature Publishing Group; 2011 [citado 6 Ene 2021]. p. 467–77. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2577>
58. Palmer KL, Kos VN, Gilmore MS. Horizontal gene transfer and the genomics of enterococcal antibiotic resistance [Internet]. Vol. 13, Current Opinion in Microbiology. Elsevier Current Trends; 2010 [citado 6 Ene 2021]. p. 632–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.08.004>
59. Wozniak RAF, Waldor MK. Integrative and conjugative elements: Mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow [Internet]. Vol. 8, Nature Reviews Microbiology. Nature Publishing Group; 2010 [citado 6 Ene 2021]. p. 552–63. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2382>
60. Clowes RC. Molecular structure of bacterial plasmids. [Internet]. Vol. 36, Bacteriological reviews. American Society for Microbiology (ASM); 1972 [citado 5 Oct 2020]. p. 361–405. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC378457/>
61. Blanco M, Gutiérrez-Martin CB, Rodríguez-Ferri EF, Roberts MC, Navas J. Distribution of tetracycline resistance genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from Spain [Internet]. Vol. 50, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology Journals; 2006 [citado 8 Abr 2021]. p. 702–8. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/50/2/702.full.pdf>

62. Pray LA. Transposons: the jumping genes [Internet]. Nature education. 2008 [citado 4 Oct 2020]. p. 204. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/transposons-the-jumping-genes-518/>
63. Mutación y reparación del ADN: elementos genéticos móviles en procariotas. [Internet]. Universidad de Jaen. [citado 7 Abr 2021]. p. 1–19. Disponible en: http://www4.ujaen.es/~tpalome/Tema_23._Transposones_de_procariotas.pdf?fbclid=IwAR2kVU50KhTmUMSDIzskv-8z-J-i4HJG2mkhNAOHAiO1a0wEqoB6Ams1iQ
64. Transposones en bacterias [Internet]. La mutación. [citado 5 Oct 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/lamutacion2/transposones-en-bacterias>
65. Kazazian HH. The impact of L1 retrotransposons on the human genome [Internet]. Nature genetics; 1998 [citado 17 Ene 2021]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/content/The-impact-of-L1-retrotransposons-on-the-29852/>
66. Kazazian HH, Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonarakis SE. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man [Internet]. Vol. 332, Nature. 1988 [citado 17 Ene 2021]. p. 164–6. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/content/Haemophilia-A-resulting-from-de-novo-insertion-57765/>
67. Kinzler KW, Vogelstein B, Horii A, Miyoshi Y, Nakamura Y. Disruption of the APC gene by a retrotransposal insertion of L1 sequence in a colon cancer [Internet]. Vol. 52, Cancer Research. 1992 [citado 17 Ene 2021]. p. 643–5. Disponible en: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/52/3/643.full-text.pdf>
68. Miura A. Mobilization of transposons by a mutation abolishing full ADN methylation in *Arabidopsis*. [Internet]. Macmillan Magazines; 2001 [citado 17 Ene 2021]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/content/Mobilization-of-transposons-by-a-mutation-abolishing-29832/#>
69. Barbara McClintock [Internet]. U.S. National Library of Medicine. [citado 17 Ene 2021]. Disponible en: <https://profiles.nlm.nih.gov/spotlight/ll>
70. Nguyen L. Antibiotic resistance mechanisms in *M. tuberculosis*: an update [Internet]. Vol. 90, Archives of Toxicology. Springer Verlag; 2016 [citado 2 Oct 2020]. p. 1585–604. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-016-1727-6>
71. Gómez-Tangarife VJ, Gómez-Restrepo AJ, Robledo-Restrepo J, Hernández-Sarmiento JM. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: contribution of

- constituent and acquired mechanisms [Internet]. Vol. 20, Revista de Salud Publica. Universidad Nacional de Colombia; 2018 [citado 2 Oct 2020]. p. 491–7. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n4.50575>
72. Dookie N, Rambaran S, Padayatchi N, Mahomed S, Naidoo K. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care [Internet]. Vol. 73, Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Oxford University Press; 2018 [citado 6 Ene 2021]. p. 1138–51. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/73/5/1138/4817621>
 73. Gillings MR. Integrons: past, present, and future [Internet]. Vol. 78, Microbiology and Molecular Biology Reviews. American Society for Microbiology; 2014 [citado 5 Oct 2020]. p. 257–77. Disponible en: <https://mmbbr.asm.org/content/78/2/257.short>
 74. Seung KJ, Keshavjee S, Rich ML. Multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis [Internet]. Vol. 5, Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015 [citado 1 Sep 2020]. p. a017863. Disponible en: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/5/9/a017863.short>
 75. Niederweis M. Mycobacterial porins - new channel proteins in unique outer membranes [Internet]. Vol. 49, Molecular Microbiology. John Wiley & Sons, Ltd; 2003 [citado 6 Ene 2021]. p. 1167–77. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2958.2003.03662.x>
 76. Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification [Internet]. Vol. 57, Advanced Drug Delivery Reviews. Elsevier; 2005 [citado 6 Ene 2021]. p. 1451–70. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>
 77. Fajardo A, Martínez-Martín N, Mercadillo M, Galán JC, Ghysels B, Matthijs S, et al. The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens [Internet]. Falagas M, editor. Vol. 3, PLoS ONE. Public Library of Science; 2008 [citado 6 Ene 2021]. p. e1619. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0001619>
 78. Piddock LJV. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria [Internet]. Vol. 19, Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology Journals; 2006 [citado 6 Ene 2021]. p. 382–402. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/19/2/382.short>
 79. Müller B, Borrell S, Rose G, Gagneux S. The heterogeneous evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* [Internet]. Vol. 29, Trends in Genetics. Elsevier Current Trends; 2013 [citado 6 Ene 2021]. p. 160–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.11.005>

80. Araya P, Velasco M, Tognarelli J, Arias F, Leiva T, Scapatticio A, et al. Detection of genes associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Chile [Internet]. Vol. 139, Revista Médica de Chile. Sociedad Médica de Santiago; 2011 [citado 6 Ene 2021]. p. 467–73. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872011000400008&lng=es&nrm=iso&tlng=en
81. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance [Internet]. Vol. 363, New England Journal of Medicine. New England Journal of Medicine (NEJM/MMS); 2010 [citado 6 Ene 2021]. p. 1005–15. Disponible en: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa0907847>
82. Okoi C, Anderson STB, Antonio M, Mulwa SN, Gehre F, Adetifa IMO. Non-tuberculous Mycobacteria isolated from pulmonary samples in sub-Saharan Africa - a systematic review and meta analyses [Internet]. Vol. 7, Scientific Reports. Nature Publishing Group; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12175-z>
83. Schaberg T, Rebhan K, Lode H. Risk factors for side-effects of isoniazid, rifampin and pyrazinamide in patients hospitalized for pulmonary tuberculosis [Internet]. Vol. 9, European Respiratory Journal. 1996 [citado 6 Ene 2021]. p. 2026–30. Disponible en: <https://erj.ersjournals.com/content/erj/9/10/2026.full.pdf>
84. Mirnejad R, Asadi A, Khoshnood S, Mirzaei H, Heidary M, Fattorini L, et al. Clofazimine: a useful antibiotic for drug-resistant tuberculosis [Internet]. Vol. 105, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson SAS; 2018 [citado 3 Oct 2020]. p. 1353–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.023>
85. Jeon D. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update: applicability in South Korea [Internet]. Vol. 80, Tuberculosis and Respiratory Diseases. Korean National Tuberculosis Association; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 336–43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28905529/>
86. Falzon D, Schünemann HJ, Harausz E, González-Angulo L, Lienhardt C, Jaramillo E, et al. World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update [Internet]. Vol. 49, European Respiratory Journal. European Respiratory Society; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 1602308. Disponible en: <http://ow.ly/Lj5K307XZ7h>
87. Yano T, Kassovska-Bratinova S, Shin Teh J, Winkler J, Sullivan K, Isaacs A, et al. Reduction of clofazimine by mycobacterial type 2 NADH: quinone oxidoreductase: a pathway for the generation of bactericidal levels of reactive oxygen species [Internet]. Vol. 286, Journal of Biological Chemistry. American

- Society for Biochemistry and Molecular Biology; 2011 [citado 6 Ene 2021]. p. 10276–87. Disponible en: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.200501>
88. Clofazimina [Internet]. Wikipedia. 2019 [citado 2021 Apr 7]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Clofazimina>
 89. Coyne KM, Pozniak AL, Lamorde M, Boffito M. Pharmacology of second-line antituberculosis drugs and potential for interactions with antiretroviral agents [Internet]. Vol. 23, Aids. 2009 [citado 6 Ene 2021]. p. 437–46. Disponible en: <http://journals.lww.com/00002030-200902200-00001>
 90. Oluwasanmi JO, Solankee TF, Olurin EO, Itayemi SO, Alabi GO, Lucas AO. *Mycobacterium ulcerans* (Buruli) skin ulceration in Nigeria [Internet]. Vol. 25, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1976 [citado 6 Ene 2021]. p. 122–8. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1976.25.122>
 91. Chu N. Clinical study on treatment regimen with including clofazimine and amoxicillin/clavulanic of treating MDR-TB and XDR-TB [Internet]. Am Respir Crit Care Med; 2017 [citado 6 Ene 2021]. Disponible en: https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2017.195.1_MeetingAbstracts.A1185
 92. Dalcolmo M, Gayoso R, Sotgiu G, D'Ambrosio L, Rocha JL, Borga L, et al. Effectiveness and safety of clofazimine in multidrug-resistant tuberculosis: a nationwide report from Brazil [Internet]. Vol. 49, European Respiratory Journal. European Respiratory Society; 2017 [citado 6 Ene 2021]. p. 1602445. Disponible en: <http://ow.ly/jRab309DNC8>
 93. Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. Antimicrobial activity of metals: Mechanisms, molecular targets and applications [Internet]. Vol. 11, Nature Reviews Microbiology. Nature Publishing Group; 2013 [citado 6 Ene 2021]. p. 371–84. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrmicro3028>
 94. Hwang IY, Tan MH, Koh E, Ho CL, Poh CL, Chang MW. Reprogramming microbes to be pathogen-seeking killers [Internet]. Vol. 3, ACS Synthetic Biology. American Chemical Society; 2014 [citado 6 Ene 2021]. p. 228–37. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/sb400077j>
 95. Flamm RK, Rhomberg PR, Simpson KM, Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. In vitro spectrum of pexiganan activity when tested against pathogens from diabetic foot infections and with selected resistance mechanisms [Internet]. Vol. 59, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology; 2015 [citado 6 Ene 2021]. p. 1751–4. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/59/3/1751.short>
 96. Kaur S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage-aided intracellular killing of engulfed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by murine

- macrophages [Internet]. Vol. 98, Applied Microbiology and Biotechnology. Springer Verlag; 2014 [citado 7 Ene 2021]. p. 4653–61. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-014-5643-5>
97. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris J. Bacteriophage therapy [Internet]. Vol. 45, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology Journals; 2001 [citado 7 Ene 2021]. p. 649–59. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/45/3/649.full.pdf>
 98. D browska K, Miernikiewicz P, Piotrowicz A, Hodyra K, Owczarek B, Lecion D, et al. Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface [Internet]. Vol. 88, Journal of Virology. American Society for Microbiology; 2014 [citado 7 Ene 2021]. p. 12551–7. Disponible en: <https://jvi.asm.org/content/jvi/88/21/12551.full.pdf>
 99. Guo S, Ao Z. Phage in the diagnosis and treatment of tuberculosis [Internet]. Vol. 17, Frontiers in Bioscience. 2011 [citado 7 Ene 2021]. p. 2691–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652807/>
 100. Azimi T, Mosadegh M, Nasiri MJ, Sabour S, Karimaei S, Nasser A. Phage therapy as a renewed therapeutic approach to mycobacterial infections: a comprehensive review [Internet]. Vol. 12, Infection and Drug Resistance. Dove Medical Press Ltd.; 2019 [citado 17 Ene 2021]. p. 2943–59. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756577/>
 101. Shaikh PZ. Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: a review [Internet]. Vol. 2, Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS). 2011 [citado 8 Ene 2021]. p. 1247–63. Disponible en: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39559129/Cytokines___their_physiologic_and_pharmacologic_functions_in_inflammation_a_review.pdf?1446229969=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DCytokines.pdf&Expires=1619262587&Signature=MBwnnb5Snte~XUo1
 102. Lu J, Ye S, Qin R, Deng Y, Li CP. Effect of Chinese herbal medicine extracts on cell-mediated immunity in a rat model of tuberculosis induced by multiple drug-resistant bacilli [Internet]. Vol. 8, Molecular Medicine Reports. Spandidos Publications; 2013 [citado 8 Ene 2021]. p. 227–32. Disponible en: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2013.1491/abstract>
 103. Wang M, Guan X, Chi Y, Robinson N, Liu JP. Chinese herbal medicine as adjuvant treatment to chemotherapy for multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): a systematic review of randomised clinical trials [Internet]. Vol. 95, Tuberculosis. Churchill Livingstone; 2015 [citado 8 Ene 2021]. p. 364–72. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.03.003>
 104. Palucci I, Delogu G. Host directed therapies for tuberculosis: futures strategies for an ancient disease [Internet]. Vol. 63, Chemotherapy. S. Karger AG; 2018

- [citado 8 Ene 2021]. p. 172–80. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/490478>
105. Datta M, Via LE, Kamoun WS, Liu C, Chen W, Seano G, et al. Anti-vascular endothelial growth factor treatment normalizes tuberculosis granuloma vasculature and improves small molecule delivery [Internet]. Vol. 112, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. National Academy of Sciences; 2015 [citado 8 Ene 2021]. p. 1827–32. Disponible en: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1424563112
 106. Torfs E, Piller T, Cos P, Cappoen D. Opportunities for overcoming *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance: emerging mycobacterial targets and host-directed therapy [Internet]. Vol. 20, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2019 [citado 14 Ene 2021]. p. 2868. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/2868>
 107. Lipsitch M, Siber GR. How can vaccines contribute to solving the antimicrobial resistance problem? [Internet]. Vol. 7, American Society for Microbiology. American Society for Microbiology; 2016 [citado 6 Ene 2021]. Disponible en: <https://mbio.asm.org/content/mbio/7/3/e00428-16.full.pdf>
 108. La vacuna contra la tuberculosis MTBVAC creada en Aragón es más eficaz que la actual BCG, según confirman estudios externos [Internet]. Heraldo. 2021 [citado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://www.heraldo.es/noticias/aragon/2021/01/04/la-vacuna-contra-la-tuberculosis-creada-en-aragon-es-mas-eficaz-que-la-actual-bcg-segun-confirman-estudios-externos-1413253.html>
 109. White AD, Sibley L, Sarfas C, Morrison A, Gullick J, Clark S, et al. MTBVAC vaccination protects Rhesus macaques against aerosol challenge with *M. tuberculosis* and induces immune signatures analogous to those observed in clinical studies [Internet]. Vol. 6, npj Vaccines. Nature Research; 2021 [citado 7 Abr 2021]. p. 1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41541-020-00262-8>
 110. Martin C, Aguilo N, Gonzalo-Asensio J. Vaccination against tuberculosis. Vol. 36, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Elsevier Doyma; 2018. [citado 7 Abr 2021] p. 648–56. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2018.07.011>
 111. Spertini F, Audran R, Chakour R, Karoui O, Steiner-Monard V, Thierry AC, et al. Safety of human immunisation with a live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine: a randomised, double-blind, controlled phase I trial [Internet]. Vol. 3, The Lancet Respiratory Medicine. Lancet Publishing Group; 2015 [citado 7 Abr 2021]. p. 953–62. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00435-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00435-X)
 112. Tameris M, Mearns H, Penn-Nicholson A, Gregg Y, Bilek N, Mabwe S, et al. Live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine MTBVAC versus BCG in

- adults and neonates: a randomised controlled, double-blind dose-escalation trial [Internet]. Vol. 7, *The Lancet Respiratory Medicine*. Lancet Publishing Group; 2019 [citado 7 Abr 2021]. p. 757–70. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30251-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30251-6)
113. Okoroafor U. Prospect for vaccination against tuberculosis Multidrug resistant enteric bacteria [Internet]. 2020 [citado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/342572235>
 114. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges [Internet]. Vol. 55, *International Journal of Antimicrobial Agents*. Elsevier B.V.; 2020 [citado 8 Ene 2021]. p. 105924. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>
 115. Zorzet A. Overcoming scientific and structural bottlenecks in antibacterial discovery and development [Internet]. Vol. 119, *Upsala Journal of Medical Sciences*. Informa Healthcare; 2014 [citado 6 Ene 2021]. p. 170–5. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03009734.2014.897277>
 116. Eichberg MJ. Public funding of clinical-stage antibiotic development in the United States and European Union [Internet]. Vol. 13, *Health security*. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2015 [citado 6 Ene 2021]. p. 156–65. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hs.2014.0081>