4° Ciencias de la Salud

Resistencia en bacterias Gram negativas:

mecanismos, impacto clínico y detección

Autora

Ana Carolina González

EDITORIAL ALEMA

ISBN 978-9907-834-02-4

Edición: Primera Edición 2026
ISBN: 978-9907-834-02-4
Editorial: ALEMA Casa Editora-Editorial Internacional S.A.S.D
Ciudad, País: Jipijapa – Ecuador.
URL: https://editorialalema.org/libros/index.php/alema

Diseño y diagramación:
Mgtr. Wilter Leonel Solórzano Álava

Corrección de contenidos:
Dr. C. Omar Mar Cornelio

Diseño, montaje y producción editorial:
ALEMA Casa Editora-Editorial Internacional S.A.S.D, Ecuador

Hecho en Ecuador, Made in Ecuador

Este texto ha sido sometido a un proceso de evaluación por pares externos.

Advertencia: "Quedan todos los derechos reservados. Se prohíbe la reproducción, el registro o la transmisión parcial o total de esta obra por cualquier sistema de recuperación de información existente o por existir, sin el permiso previo por escrito del titular de los derechos correspondientes".

ISBN: 978-9907-834-02-4
9 789907 834024

Resistencia en bacterias Gram negativas: mecanismos, impacto clínico y detección

AUTORA:

Ana Carolina González-Romero

Licenciada en Bioanálisis (Universidad de Los Andes, Venezuela (Cum laude). Magíster en Microbiología Clínica (Universidad de Los Andes, Venezuela). Ph.D. Doctora en Ciencias Médicas Fundamentales. (Universidad de Los Andes, Venezuela). Actualmente es Profesora Agregada de la Universidad de Los Andes (ULA). Mérida- Venezuela y docente contratada tiempo completo de la UNACH. Riobamba- Ecuador.

Universidad Nacional de Chimborazo.

Riobamba, Ecuador.

E-mail: ana.gonzalez@unach.edu.ec

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4899-6076

Resumen

El libro Resistencia en bacterias Gram negativas: mecanismos, impacto clínico y detección ofrece una visión integral y actualizada sobre uno de los principales desafíos de la salud pública mundial: la resistencia antimicrobiana. A lo largo de la obra se analizan los mecanismos genéticos y moleculares que permiten a las bacterias Gram negativas desarrollar resistencia frente a múltiples antibióticos, con especial énfasis en la producción de β-lactamasas, AmpC y carbapenemasas. Asimismo, se aborda cómo factores como el uso inadecuado de antimicrobianos en humanos y animales, la transferencia horizontal de genes y la diseminación global de cepas resistentes han favorecido el incremento de microorganismos multirresistentes.

De igual manera, el texto examina el impacto clínico, epidemiológico y económico de estas infecciones, destacando las limitaciones terapéuticas actuales y la necesidad de fortalecer el enfoque de Una Salud (One Health), que integra la salud humana, animal y ambiental. Además, se revisan estrategias terapéuticas innovadoras, como la terapia con fagos, los sistemas CRISPR-Cas, los péptidos antimicrobianos y el uso de nanomateriales, considerados alternativas prometedoras frente a la creciente resistencia bacteriana.

Por otra parte, la obra resalta el papel fundamental del laboratorio clínico en la detección temprana de los mecanismos de resistencia, describiendo tanto métodos fenotípicos convencionales como tecnologías moleculares y proteómicas avanzadas, entre ellas PCR multiplex, secuenciación genómica, MALDI-TOF MS y herramientas basadas en inteligencia artificial. En conjunto, este libro constituye una fuente de consulta científica orientada a fortalecer el conocimiento microbiológico, promover el uso racional de antibióticos y contribuir al control de infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana; Bacterias Gram negativas; β-lactamasas; Carbapenemasas; One Health; Detección molecular

Abstract

The book resistance in Gram-negative bacteria: mechanisms, clinical impact, and detection provides a comprehensive and up-to-date overview of one of the major global public health challenges: antimicrobial resistance. The work thoroughly analyzes the genetic and molecular mechanisms that enable Gram-negative bacteria to develop resistance against multiple antibiotics, with a particular focus on the production of β-lactamases, AmpC enzymes, and carbapenemases. It also addresses how factors such as the inappropriate use of antimicrobials in humans and animals, horizontal gene transfer, and the global dissemination of resistant strains have contributed to the rise of multidrug-resistant microorganisms.

The text further examines the clinical, epidemiological, and economic impact of these infections, highlighting current therapeutic limitations and the urgent need to strengthen the One Health approach, which integrates human, animal, and environmental health. Innovative therapeutic strategies such as phage therapy, CRISPR-Cas systems, antimicrobial peptides, and nanomaterials are also reviewed, presenting promising alternatives to counteract the increasing bacterial resistance.

Additionally, the book emphasizes the crucial role of the clinical laboratory in the early detection of resistance mechanisms, describing both conventional phenotypic methods and advanced molecular and proteomic technologies, including multiplex PCR, genomic sequencing, MALDI-TOF MS, and artificial intelligence-based tools. Altogether, this book serves as a valuable scientific resource aimed at enhancing microbiological knowledge, promoting rational antibiotic use, and contributing to the control of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria.

Keywords: Antimicrobial resistance; Gram-negative bacteria; β-lactamases; Carbapenemases; One Health; Molecular Detection

Índice general

Resumen ____ IV

Abstract ____ V

Índice general ____ VI

Índice de tablas ____ VIII

Índice de figuras ____ IX

Introducción ____ 1

Capítulo I.- Introducción a la resistencia bacteriana ____ 4

1.1. Concepto ____ 4

1.2. Mecanismos asociados: resistencia, persistencia, tolerancia y diseminación genética ____ 4

1.3. Desafíos terapéuticos y estrategias de control ____ 7

Capítulo II.- Mecanismos de resistencia en bacterias Gram negativas ____ 12

2.1. Bases genéticas y estructurales de la resistencia ____ 12

2.2. Mecanismos Enzimáticos de Resistencia ____ 14

2.2.1. β-Lactamasas de Serina (Clases A, C y D) ____ 16

2.3 Mecanismos de resistencia no enzimáticos ____ 31

2.3.1. Modificación de la Permeabilidad: Porinas ____ 31

2.3.2. Expulsión Activa: Bombas de Eflujo ____ 33

2.4. Mecanismos de resistencia a otras familias de antibióticos ____ 36

2.4.1 Resistencia a aminoglucósidos ____ 36

2.4.1.1 Enzimas Modificadoras de Aminoglucósidos ____ 37

2.4.1.2 Metilación del ARNr 16S (16S-RMTasas) ____ 38

2.4.2 Resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas ____ 39

2.4.2.1 Modificación de la diana ____ 40

2.4.2.2 Resistencia mediada por plásmidos (PMQR) ____ 43

2.4.2.3 Mecanismos cromosómicos de resistencia: alteración de la permeabilidad por pérdida de porinas y sobreexpresión de bombas de eflujo ____ 44

2.4.3 Resistencia a Polimixinas (Colistina) ____ 44

2.4.3.1 Resistencia cromosómica ____ 46

2.3.3. 2 Resistencia plasmídica: genes mcr (mobile colistin resistance) ____ 47

Capítulo III.- Impacto clínico de la resistencia antimicrobiana ____ 51

3.1. Evolución del uso de antibióticos y emergencia de la resistencia ____ 51

3.2. Determinantes y factores impulsores de la resistencia antimicrobiana ____ 53

3.3 Impacto de la resistencia antimicrobiana en el contexto de la pandemia de COVID-19 y su relación con el enfoque de Una Salud (One Health) 58
3.4 Implicaciones clínicas de la RAM 61
3.5 Cómo combatir la resistencia a los antimicrobianos 62
3.6 Estrategias no alternativas para combatir patógenos resistentes a los antibióticos 63
Capítulo IV.- Métodos de detección de la resistencia en bacilos Gram negativos 74
4.1. Panorama general de la resistencia antimicrobiana en bacilos Gram negativos y desafíos diagnósticos 74
4.2. Métodos fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana 75
4.3 Métodos automatizados para la detección de betalactamasas 87
4.4 Agares cromogénicos 90
4.5 Métodos genotípicos de susceptibilidad antimicrobiana para bacterias Gram negativas 92
4.6 Métodos de flujo lateral inmunocromatográficos para la detección de betalactamasa 98
4.7 Métodos proteómicos para la detección de betalactamasas 99
4.8 Perspectivas Futuras y Tecnologías Emergentes 101
Referencias bibliográficas 110

Índice de tablas

Tabla 1 Familias de BLEE..... 18
Tabla 2 Clasificación de las carbapenemasas según los esquemas funcional (clasificación de Bush–Jacoby–Medeiros) y molecular (clasificación de Ambler)..... 24
Tabla 3 Variantes identificadas del gen de resistencia movilizada a colistina (mcr), con sus especies bacterianas y el país donde se detectaron por primera vez, así como su homología de secuencia con mcr-1. 49

Índice de figuras

Figura 1 Envoltura celular de bacterias Gram negativas. 13
Figura 2 Relaciones moleculares y funcionales entre las β-lactamasas. 15
Figura 3 Diagrama de reacción que ilustra las etapas clave en la catálisis de las β-lactamasas de serina. 17
Figura 4 Sitio activo de una metalo-β-lactamasa 27
Figura 5 Arquitectura general de una proteína de barril β 32
Figura 6 Arquitectura de AcrAB−TolC. 36
Figura 7 Sitios de modificación química por enzimas modificadoras de aminoglucósidos representativas en kanamicina A 37
Figura 8 Mecanismos de resistencia a las quinolonas. 40
Figura 9 Mecanismo de unión quinolona-topoisomerasa mediante puente de agua-ión metálico. Un ión Mg^{2+} une la quinolona a la topoisomerasa mediante un puente de agua con serina y ácido. Mutaciones en serina causan resistencia clínica. 42
Figura 10 Ciclo de diseminación de la resistencia antimicrobiana entre humanos, animales, alimentos y ambiente. 61
Figura 11 Prueba de discos combinados realizada en una cepa productora de BLEE. .. 77
Figura 12 Prueba de sinergia de doble disco realizada en una cepa productora de BLEE. 78
Figura 13 Procedimiento para colocar los discos de meropenem para el mCIM. 85
Figura 14 Interpretación de las pruebas mCIM y eCIM: resultados positivos de mCIM y eCIM 86
Figura 15 Detección de productores de β-lactamasas mediante MALDI-TOF MS. 101

Introducción

La introducción de los antibióticos en la práctica clínica durante el siglo XX transformó la medicina moderna al reducir drásticamente la mortalidad asociada a enfermedades infecciosas y permitir el desarrollo de procedimientos complejos, como cirugías de alta especialidad, trasplantes, terapias inmunosupresoras y cuidados intensivos. No obstante, el uso excesivo e inadecuado de estos fármacos en medicina humana, veterinaria y producción agropecuaria ha favorecido la selección y diseminación de microorganismos resistentes, convirtiendo la resistencia antimicrobiana (RAM) en uno de las principales riesgos para la salud pública global (Llor & Bjerrum, 2014; Ma et al., 2021; Katz & Banerjee, 2024).

La RAM se produce cuando los microorganismos adquieren la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en presencia de antimicrobianos previamente eficaces para inhibirlos o eliminarlos. Entre los patógenos de mayor relevancia destacan las bacterias Gram negativas, cuya elevada plasticidad genética y diversidad de mecanismos de resistencia han incrementado la complejidad del tratamiento de las infecciones tanto hospitalarias como comunitarias (Munita & Arias, 2016; Miller & Arias, 2024).

Las bacterias Gram negativas presentan características estructurales que favorecen tanto su resistencia intrínseca como la adquisición de nuevos mecanismos de defensa frente a los antimicrobianos. Entre estos factores destaca la presencia de una membrana externa compleja, que actúa como barrera selectiva y dificulta la entrada de numerosos antibióticos. Además, estos microorganismos poseen una notable capacidad para adquirir y transferir genes de resistencia mediante elementos genéticos móviles, como plásmidos, integrones y transposones. Esta capacidad facilita la propagación de determinantes de resistencia entre distintas especies bacterianas, contribuyendo a la rápida expansión de cepas multirresistentes en entornos clínicos y comunitarios (Poirel et al., 2004; Kamruzzaman & Iredell, 2020; Cross et al., 2025).

Entre los mecanismos de resistencia más importantes en bacterias Gram negativas destaca la producción de enzimas inactivantes, especialmente las β-lactamasas. Dentro de este grupo, las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), las AmpC y las carbapenemasas poseen la capacidad de hidrolizar antibióticos β-lactámicos de amplio espectro, incluyendo en algunos casos fármacos considerados de última línea terapéutica, lo que representa un desafío significativo para el tratamiento de las infecciones. A estos mecanismos enzimáticos se suman otros mecanismos no enzimáticos que también

contribuyen de manera importante a la resistencia bacteriana. Entre ellos se encuentran la pérdida o modificación de porinas, la sobreexpresión de bombas de eflujo, las alteraciones en las proteínas diana y la formación de biopelículas. En conjunto, estos procesos favorecen la supervivencia bacteriana, disminuyen la eficacia de los antimicrobianos y dificultan aún más el manejo terapéutico de las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes (Gauba & Rahman, 2023; Nasrollahian et al., 2024; Almatroudi, 2025).

La RAM representa actualmente uno de los mayores desafíos para la salud pública mundial. En particular, las infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes se asocian con mayores tasas de mortalidad, hospitalizaciones prolongadas y un incremento considerable de los costos sanitarios, además de reducir de manera importante las alternativas terapéuticas disponibles (Macesic et al., 2025).

En este escenario, microorganismos como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* generan especial preocupación debido a su elevada capacidad de adaptación, persistencia y diseminación tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad (Miller & Arias, 2024).

Frente a esta problemática, resulta indispensable abordar la resistencia antimicrobiana desde el enfoque de Una Salud (One Health), reconociendo la estrecha relación entre la salud humana, animal y ambiental. Desde esta perspectiva, la propagación de bacterias resistentes no puede entenderse únicamente a partir del uso de antibióticos en medicina humana, sino también por factores asociados a la producción pecuaria, la contaminación ambiental y la circulación global de microorganismos resistentes. En este contexto, la interacción constante entre personas, animales y medio ambiente favorece la diseminación de bacterias resistentes entre distintos ecosistemas. Factores como la movilidad humana, la contaminación de fuentes hídricas y suelos, así como el uso intensivo de antibióticos en la producción animal, contribuyen significativamente a la expansión global de la resistencia antimicrobiana (Bhatia, 2019; Cella et al., 2023; Ferdinand et al., 2023).

El laboratorio clínico desempeña un papel fundamental en la lucha contra la resistencia antimicrobiana. La detección temprana y la adecuada caracterización de los mecanismos de resistencia permiten orientar el tratamiento antimicrobiano, optimizar las medidas de control de infecciones y fortalecer la vigilancia epidemiológica. Aunque los métodos fenotípicos convencionales continúan siendo ampliamente utilizados en la práctica clínica, el avance de las herramientas moleculares y de las tecnologías

emergentes ha mejorado notablemente la rapidez y precisión diagnóstica. Entre estas destacan técnicas como la PCR multiplex, la secuenciación genómica y la espectrometría de masas MALDI-TOF MS, las cuales han revolucionado el diagnóstico microbiológico moderno (Florio et al., 2020; Miglietta et al., 2021; Ali et al., 2023; Aldea et al., 2025). En este contexto, la obra *Resistencia en Bacterias Gram Negativas: Mecanismos, Impacto Clínico y Métodos de Detección* ofrece una visión integral y actualizada sobre esta problemática de creciente relevancia mundial. El libro se organiza en cuatro capítulos que abarcan desde los fundamentos biológicos de la resistencia antimicrobiana hasta las metodologías diagnósticas más avanzadas empleadas en microbiología clínica.

El Capítulo 1 aborda las bases conceptuales de la resistencia antimicrobiana, incluyendo la resistencia genética, la persistencia bacteriana, la tolerancia a los antimicrobianos y los mecanismos de transferencia horizontal de genes. Además, se analiza el papel de la microbiota como reservorio de genes de resistencia y se discuten estrategias de prevención y control.

Por su parte, el Capítulo 2 se enfoca en los principales mecanismos moleculares de resistencia presentes en bacterias Gram negativas, con especial atención a las β-lactamasas de espectro extendido, AmpC y carbapenemasas, debido a su impacto clínico y epidemiológico.

El Capítulo 3 examina el impacto clínico, terapéutico y social de la resistencia antimicrobiana, revisando tanto las limitaciones actuales en el tratamiento como las estrategias terapéuticas emergentes. Entre ellas se incluyen la terapia con bacteriófagos, los péptidos antimicrobianos y las herramientas basadas en sistemas CRISPR-Cas, consideradas alternativas prometedoras frente a bacterias multirresistentes (Kortright et al., 2019; Greene, 2018; Jacobowski et al., 2025).

Finalmente, el Capítulo 4 presenta una revisión actualizada de los principales métodos utilizados para la detección de mecanismos de resistencia en bacilos Gram negativos, incluyendo técnicas fenotípicas, inmunológicas, moleculares, proteómicas y genómicas aplicadas en el laboratorio clínico.

A través de esta obra se busca fortalecer el conocimiento científico y microbiológico sobre la resistencia antimicrobiana, promover el uso racional de antibióticos y resaltar la importancia del diagnóstico oportuno en el control de infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes.

Capítulo I.- Introducción a la resistencia bacteriana

1.1. Concepto

La RAM se ha convertido en un problema crónico de salud pública a nivel global. La disminución a la sensibilidad de los antibióticos ocurre cuando virus, bacterias, hongos y parásitos no responden a los tratamientos antimicrobianos en humanos y animales, permitiendo así la supervivencia del microorganismo dentro del huésped. La principal causa que contribuye a la crisis actual sigue siendo el uso excesivo y el uso indebido de antimicrobianos, en particular el uso inapropiado de antibióticos, lo que aumenta la carga global de resistencia a los antimicrobianos. Por ello, el consumo y uso de antibióticos a nivel mundial se monitorean constantemente (Tang et al., 2023).

El uso desmedido y poco juicioso de antibióticos en múltiples escenarios, como curas médicas, cría de ganado, cuidado de animales y producción de alimentos, figura entre las raíces primordiales de la problemática actual (Llor, & Bjerrum, 2014). La RAM, apodada la "Pandemia Silenciosa", se perfila como un peligro apremiante que clama por una acción pronta. Esto no debe verse como un asunto del futuro, sino como una emergencia de hoy, necesitando planes de gestión más robustos para su mitigación (Nature Communications, 2024).

1.2. Mecanismos asociados: resistencia, persistencia, tolerancia y diseminación genética

Los procesos que acompanan la resistencia bacteriana, la persistencia, la tolerancia y la propagación genética son complejos y están vinculados. Éstos se relacionan tanto con el fracaso de las terapias con antibióticos como con la expansión de la resistencia a los antimicrobianos. En este escenario, la resistencia bacteriana se basa sobre todo en alteraciones genéticas, por ejemplo, la captación de genes de resistencia a través de transferencia horizontal. Esta es impulsada por elementos genéticos móviles (MGEs) como plásmidos y transposones, que fomentan la dispersión de estos factores determinantes en distintas poblaciones de bacterias (Nasrollahian et al., 2024). En verdad, estos elementos genéticos facilitan una transmisión veloz de genes de resistencia entre bacterias, ensanchando el rango de especies resistentes y estimulando el surgimiento de fenotipos con multirresistencia. La supervisión actual de la resistencia a antimicrobianos

ayuda a detectar bien la herencia vertical de los genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs). Pero, todavía hay impedimentos para seguir la transferencia horizontal de ADN entre bacterias, un evento que es llevado acabo principalmente por MGEs. El análisis comparativo de secuencias genómicas y el uso ampliado de tecnologías de secuenciación de lectura larga, potencian la habilidad de rastrear la diseminación de ARGs y las vías de transmisión en estudios epidemiológicos. Aun así, desafíos existen, concierne a la automatización del análisis y la anotación exacta de los MGEs, ya que estos poseen una arquitectura compleja y movilidad. Dentro de este marco, la integración de tecnologías sofisticadas para identificar y describir MGEs en los protocolos de vigilancia se vuelve crucial para captar mejor el devenir y la expansión de la resistencia antimicrobiana, reforzando las tácticas de control y prevención ante este peligro global (Cross et al., 2025).

A nivel molecular, la resistencia a los antimicrobianos opera mediante diversos mecanismos, entre los que destacan la modificación del sitio blanco del antibiótico, la degradación enzimática como la producida por β-lactamasas y la transferencia horizontal de genes (Contarin et al., 2024). En este sentido, la microbiota humana, particularmente la intestinal, actúa como un reservorio relevante de genes de resistencia que pueden transferirse entre bacterias incluso sin presión antibiótica directa. Sin embargo, el uso de antibióticos altera profundamente este ecosistema: reduce la diversidad microbiana, disminuye poblaciones beneficiosas como *Bifidobacterium* y favorece la proliferación de patógenos, especialmente *Enterobacteriaceae*. A la vez, incrementa la abundancia de genes de resistencia, muchos de los cuales persisten en el intestino incluso después de finalizado el tratamiento. Esta conjunción de disbiosis y acumulación de determinantes de resistencia genera un círculo vicioso: las infecciones se vuelven más difíciles de tratar, lo que exige un mayor uso de antibióticos y, con ello, un deterioro progresivo de la microbiota intestinal (Dabuo et al., 2025).

Del mismo modo, la interacción entre genes de virulencia y determinantes de resistencia puede potenciar la capacidad patogénica y la supervivencia bacteriana, lo que incrementa la complejidad del tratamiento de las infecciones (Sule & Ogundajo, 2025). Añadido a esto el creciente reconocimiento de la resistencia a péptidos antimicrobianos naturales, mediada por mecanismos como la degradación proteolítica, la expulsión activa

y las modificaciones en la membrana bacteriana, lo que representa un desafío emergente en el control de infecciones (Tajer et al., 2024).

En resumen, estos factores genéticos, moleculares y ecológicos determinan la complejidad y dinámica de la resistencia a los antimicrobianos, subrayando la necesidad de enfoques integrales para su vigilancia, control y abordaje terapéutico (Tajer et al., 2024; Sule & Ogundajo, 2025).

Paralelamente, la persistencia y la tolerancia corresponden a adaptaciones fenotípicas que permiten a subpoblaciones bacterianas sobrevivir a la exposición a antibióticos sin poseer resistencia genética estable. Este fenómeno se asocia frecuentemente a estados de latencia o crecimiento lento, en los que las células persistentes pueden recuperar su susceptibilidad una vez que cesa la presión antibiótica, dificultando el tratamiento de infecciones crónicas (Helaine et al., 2024; Singh et al., 2025). En este sentido, la tolerancia antibiótica reviste especial importancia, ya que permite la supervivencia bacteriana incluso cuando los microorganismos se consideran susceptibles en pruebas microbiológicas convencionales. Además, se ha demostrado que la tolerancia puede preceder a la resistencia y acelerar su evolución, favoreciendo la aparición de cepas resistentes bajo presión selectiva (Windels et al., 2019).

La formación de biopelículas constituye una táctica adaptativa clave que potencia estos mecanismos, al generar una matriz protectora que limita la penetración de los antibióticos y favorece la supervivencia de células persistentes, incrementando la resiliencia frente a los agentes antimicrobianos (Almatroudi, 2025). Este evento adquiere especial importancia en el ámbito de la clínica, donde el uso creciente de dispositivos médicos implantados como prótesis articulares, válvulas cardíacas, endoprótesis vasculares y marcapasos ha incrementado la incidencia de infecciones asociadas a biopelículas, favoreciendo estados de tolerancia antibiótica (Gollan et al., 2019).

Por otro lado, los mecanismos de co-selección también influyen en la dinámica de la resistencia, ya que factores ambientales como los metales pesados pueden seleccionar bacterias que portan simultáneamente genes de resistencia a metales y antibióticos, frecuentemente localizados en los mismos elementos genéticos móviles, lo que facilita su persistencia y diseminación en distintos entornos (Gillieatt & Coleman, 2024).

En este panorama, la RAM representa una grave amenaza para la salud pública, en la que los plásmidos desempeñan un papel central en la transferencia horizontal de genes de resistencia. Estudios recientes han demostrado que un alto porcentaje de estos genes posee capacidad de movilización entre distintos plásmidos compatibles dentro de una misma célula bacteriana, destacándose elementos como IS26 en la facilitación de estas transferencias, así como la redistribución de genes de resistencia a β-lactámicos entre diversos patógenos clínicos. Este proceso acelera la diseminación de la resistencia, especialmente en entornos hospitalarios, consolidando la transferencia genética como un mecanismo clave en la evolución de bacterias multirresistentes (Wang et al., 2017).

La comprensión de estos mecanismos es clave, y permite desarrollar estrategias terapéuticas más eficaces, orientadas a contrarrestar la resistencia genética, la tolerancia y la persistencia fenotípica, para enfrentar de manera sostenible la creciente amenaza de las infecciones resistentes en salud pública (Helaine et al., 2024; Contarin et al., 2024).

1.3. Desafíos terapéuticos y estrategias de control

Las estrategias de control de la resistencia antimicrobiana han cobrado especial relevancia ante el aumento sostenido de bacterias multirresistentes y la disminución en el desarrollo de nuevos antimicrobianos, lo que constituye una amenaza emergente para la salud pública. En este contexto, patógenos prioritarios como el grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) representan un desafío terapéutico significativo debido a su elevada capacidad de adaptación, diversidad de mecanismos de resistencia y diseminación global de clones de alto riesgo (Miller & Arias, 2024).

Principalmente, las bacterias Gram negativas multirresistentes, incluyendo Enterobacterales productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y resistentes a carbapenémicos, así como los bacilos no fermentadores, presentan altos niveles de resistencia a los antimicrobianos utilizados en la práctica clínica. Estas características han llevado a su clasificación como patógenos prioritarios por organismos internacionales, debido a su impacto en la mortalidad y la limitada disponibilidad de opciones terapéuticas eficaces (Macesic et al., 2025).

A pesar de los avances en el desarrollo de nuevos antibióticos e inhibidores de β-lactamasas, estas estrategias continúan siendo insuficientes frente al acelerado incremento de la resistencia a los RAM, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas innovadoras, como el diseño de antibióticos de espectro reducido y la aplicación de inteligencia artificial (IA). La rápida aparición y diseminación de la resistencia ha disminuido considerablemente la eficacia de muchos antibióticos tradicionales, generando una necesidad urgente de desarrollar nuevas opciones terapéuticas (Sanapalli et al., 2026).

La IA ha demostrado ser una herramienta prometedora capaz de acelerar y optimizar diversas etapas del descubrimiento de antibióticos, incluyendo la identificación de dianas terapéuticas, el cribado virtual, el diseño de nuevas moléculas y las pruebas iniciales. Entre las metodologías más utilizadas destacan el aprendizaje automático, el aprendizaje profundo, el procesamiento del lenguaje natural y los modelos generativos, aplicados tanto al desarrollo de antibióticos de moléculas pequeñas como de péptidos antimicrobianos (AMPs). Además, la IA ha sido útil en la optimización farmacocinética, la predicción de mecanismos de resistencia y el desarrollo de terapias innovadoras, como el descubrimiento del compuesto Abaucin. Asimismo, la fusión de la IA con la biología sintética, la nanotecnología y los datos multiómicos representa una estrategia prometedora para el desarrollo de terapias personalizadas y enfoques predictivos frente a la RAM. No obstante, aún persisten desafíos relacionados con la disponibilidad y calidad de los datos, los sesgos algorítmicos y la aplicación clínica de los hallazgos, por lo que se requiere un uso ético, colaborativo y responsable de estas tecnologías. En conjunto, la combinación de innovación computacional y validación experimental posiciona a la IA como una herramienta clave para enfrentar la creciente amenaza de la resistencia antimicrobiana (Sanapalli et al., 2026).

Ante el panorama, se han implementado diversas estrategias clínicas orientadas al control de la resistencia antimicrobiana. Entre ellas, los programas de optimización del uso de antimicrobianos han demostrado ser altamente efectivos para mejorar la prescripción antibiótica y reducir su uso inapropiado (Taylor et al., 2024). También, la incorporación de diagnósticos rápidos ha permitido una toma de decisiones más precisa, disminuyendo la utilización innecesaria de antibióticos de amplio espectro (Harrison et al., 2023). Adicionalmente, la implementación de protocolos de prevención de infecciones y el desarrollo de algoritmos terapéuticos personalizados basados en patrones

locales de resistencia han contribuido a mejorar los resultados clínicos (Reynolds et al., 2024). En este mismo sentido, las herramientas digitales han fortalecido la adherencia a las guías clínicas, optimizando la práctica médica y favoreciendo un uso más racional de los antimicrobianos (Yarahuan et al., 2023).

De manera integral, las intervenciones regulatorias han desempeñado un papel fundamental en el control de la RAM. Tanto las políticas internacionales como los planes nacionales han contribuido a fortalecer la regulación del uso de antibióticos mediante estrategias como la restricción de su venta sin prescripción médica y la adopción del enfoque One Health o "Una Salud", el cual integra la salud humana, animal, vegetal y ambiental. Este enfoque multisectorial, respaldado por la Declaración Política de la Asamblea General de las Naciones Unidas sobre la RAM, busca enfrentar de manera coordinada desafíos globales como las enfermedades infecciosas emergentes, la seguridad alimentaria y la degradación ambiental. Su implementación efectiva depende de la colaboración institucional, la planificación conjunta y los sistemas de vigilancia coordinada para la detección y prevención temprana de zoonosis. Asimismo, la toma de decisiones basada en evidencia científica, el fortalecimiento de capacidades multisectoriales, la inclusión de este enfoque en los programas educativos y la capacitación continua de profesionales son elementos esenciales para garantizar su sostenibilidad. De igual manera, la participación activa de la sociedad civil y el impulso a la investigación resultan fundamentales para mejorar la gestión de riesgos, fortalecer la coordinación intersectorial y desarrollar intervenciones costo-efectivas orientadas al control de la RAM y otros problemas de salud global (Bhatia, 2019; Marino et al., 2025).

El enfoque One Health que integra las perspectivas, prioridades y recursos de los sectores de salud humana, salud animal, producción de alimentos y medio ambiente, es esencial para enfrentar la creciente amenaza de la RAM y contribuir al cumplimiento de los objetivos de desarrollo sostenible. El fortalecimiento de este enfoque favorece la creación de alianzas funcionales y promueve un desarrollo más adecuado y coordinado. Sin embargo, debido a las limitaciones actuales en infraestructura dentro de los sectores de salud animal y ambiental, es necesario destinar recursos adicionales que permitan una participación equitativa y efectiva de estos sectores en las iniciativas One Health. Asimismo, la incorporación de sistemas de monitoreo y evaluación contribuiría a fortalecer estas estrategias, mejorar la comprensión de las intervenciones más efectivas y

consolidar la relación entre las acciones dirigidas al control de la RAM y los objetivos generales de desarrollo sostenible (Ferdinand et al., 2023).

Por otra parte, los incentivos económicos han desempeñado un papel importante en el impulso al desarrollo de nuevos antimicrobianos, mientras que las intervenciones educativas dirigidas tanto a profesionales de la salud como a la población general han demostrado ser efectivas para modificar los patrones de prescripción y disminuir el uso inapropiado de antibióticos. Entre las estrategias económicas propuestas destacan los incentivos monetarios, como las recompensas por entrada al mercado, orientadas a estimular la participación de empresas privadas en la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos frente a la creciente amenaza de la resistencia antimicrobiana. Sin embargo, diversos análisis económicos sugieren que el financiamiento público directo podría constituir una alternativa más rentable y sostenible a largo plazo. Estudios basados en simulaciones compararon los costos de los incentivos indirectos aplicados en fases avanzadas del desarrollo farmacéutico con el financiamiento directo desde las etapas preclínicas, evidenciando que los mecanismos indirectos pueden generar costos superiores, incluso considerando distintos niveles de ineficiencia operativa y múltiples indicaciones terapéuticas. En este sentido, aunque los incentivos indirectos continúan siendo necesarios para mantener la actual cartera de antibióticos en desarrollo, el financiamiento público directo se perfila como una estrategia más costo-efectiva para fomentar la innovación futura en antimicrobianos (Okhravi, 2020). Además, las estrategias comunitarias y el uso de redes sociales han contribuido significativamente a fortalecer la concienciación sobre la resistencia antimicrobiana, especialmente en poblaciones jóvenes (Jha et al., 2025).

Conjuntamente, la evidencia científica indica que el control efectivo de la resistencia antimicrobiana requiere un enfoque integral y multidisciplinario que articule estrategias clínicas, regulatorias, educativas y tecnológicas, con el objetivo de enfrentar de manera sostenible esta creciente amenaza mundial (Ferdinand et al., 2023).

No obstante, a pesar de estos avances, persisten limitaciones importantes que dificultan la implementación efectiva de estas estrategias, especialmente en países de ingresos bajos y medianos. La falta de infraestructura de laboratorio, la insuficiente capacitación del personal y la ausencia de estandarización diagnóstica reducen la calidad

de los datos de vigilancia. También, la fragmentación de los sistemas de información limita el monitoreo en tiempo real, mientras que los altos costos restringen la adopción de tecnologías diagnósticas avanzadas. A ello se suma la ausencia de financiamiento sostenible y de políticas a largo plazo, lo que compromete la continuidad y efectividad de las intervenciones. Por ello, resulta fundamental fortalecer la inversión en salud digital, el desarrollo del recurso humano y el acceso equitativo a innovaciones diagnósticas (Marino et al., 2025).

Capítulo II.- Mecanismos de resistencia en bacterias Gram negativas

2.1. Bases genéticas y estructurales de la resistencia

La resistencia bacteriana es compleja, la capacidad de las bacterias Gram negativas para resistir la acción de los antibióticos es el resultado de una interacción de factores genéticos y estructurales. A diferencia de la intrínseca, que constituye una característica natural de ciertas especies, la mayoría de los mecanismos clínicamente relevantes son adquiridos y están codificados en elementos genéticos móviles, como plásmidos, transposones e integrones (Miller, 2016). Estos elementos facilitan la transferencia genética horizontal (TGH) entre bacterias, incluso entre especies distintas, lo que permite una rápida adaptación frente a presiones selectivas como la exposición a antibióticos. Entre los principales mecanismos de TGH se encuentran la transformación, la transducción y, de manera predominante, la conjugación (Tao et al., 2022). En conjunto, este flujo genético continuo favorece la emergencia de cepas multirresistentes o "superbacterias" que albergan múltiples genes de resistencia (Sun et al., 2019).

Los bacilos Gram negativos destacan por desarrollar resistencia mediante mecanismos altamente sofisticados, en los que los plásmidos desempeñan un papel central como vehículos de genes de resistencia y mediadores clave de la TGH. Particularmente, los plásmidos incompatibles, como IncA, IncC e IncF, contribuyen de manera significativa a la diseminación de la resistencia al acumular y transferir múltiples determinantes genéticos entre poblaciones bacterianas, potenciando así la rápida propagación de fenotipos multirresistentes (Fang et al., 2024).

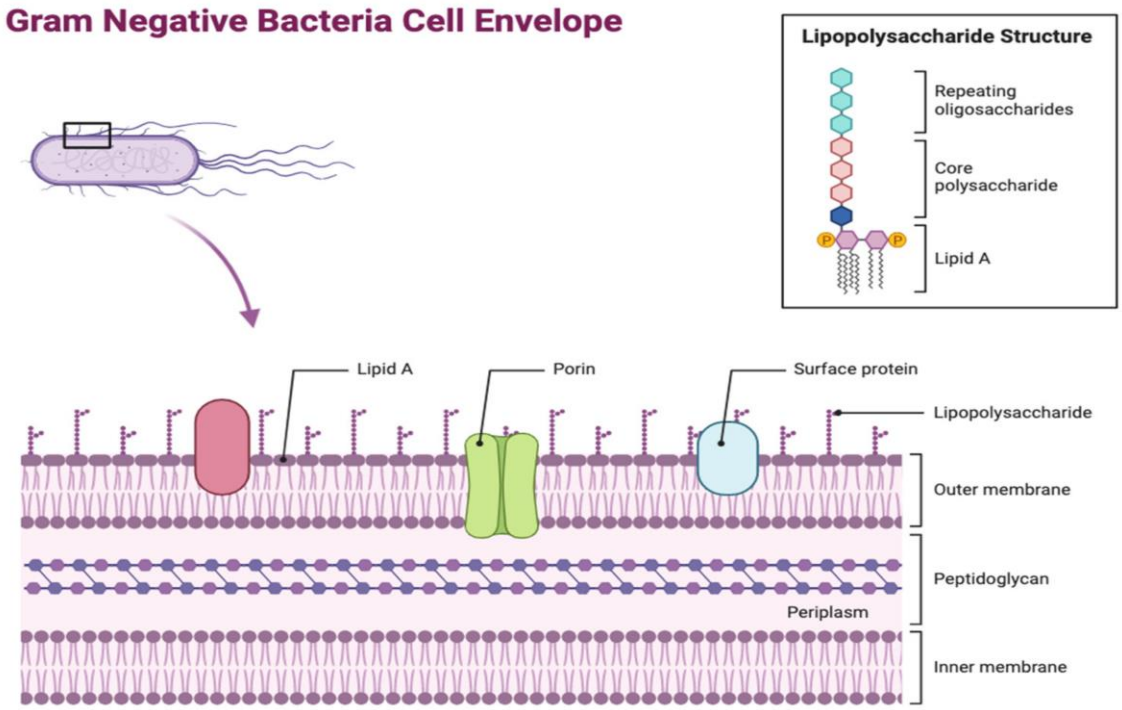
Para comprender cómo actúan estos mecanismos, es básico entender la estructura celular que los alberga. Las bacterias Gram negativas poseen una envoltura compleja compuesta por una membrana externa, una capa de peptidoglicano y una membrana interna o citoplasmática. El espacio periplásmico, situado entre ambas membranas, es un compartimento acuoso crucial para la interacción con muchos antibióticos (Collet et al., 2020).

La membrana externa es la característica diferencial más importante. Actúa como una barrera de permeabilidad selectiva gracias a su estructura asimétrica: la lámina externa está compuesta por lipopolisacáridos (LPS) responsables de la carga negativa

superficial y la virulencia, mientras que la lámina interna está formada por fosfolípidos (figura 1) (Gauba & Rahman, 2023).

En esta membrana se encuentran insertadas proteínas integrales, principalmente las porinas (OMPs) que son proteínas de la membrana externa con estructura de barril β que forman canales que permiten el paso pasivo de nutrientes y de antibióticos hidrofílicos, como los β-lactámicos; entre las más estudiadas se encuentran OmpF y OmpC en *E. coli*, así como OmpK35 y OmpK36 en *K. pneumoniae*. , las lipoproteínas participan en procesos esenciales como la remodelación del peptidoglicano, la división celular y la respuesta al estrés. En conjunto, la alteración de estos componentes estructurales, ya sea por mutaciones que afectan la expresión o funcionalidad de las porinas, o por modificaciones en el lipopolisacárido (LPS), constituye la base de importantes mecanismos de resistencia no enzimáticos que serán abordados más adelante (El Rayes et al., 2021).

Figura 1 Envoltura celular de bacterias Gram negativas.



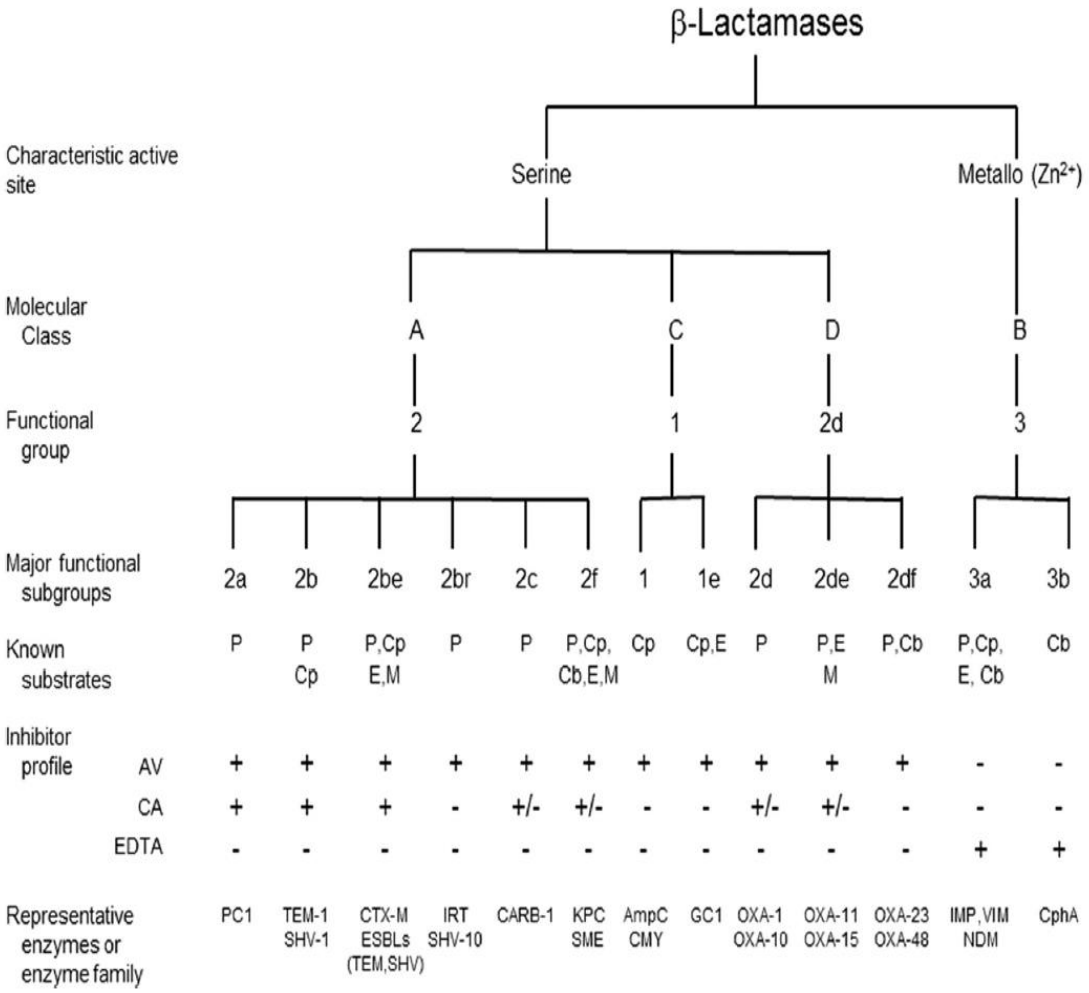
Fuente. Tomado de Gauba & Rahman (2023).

2.2. Mecanismos Enzimáticos de Resistencia

La resistencia a los antibióticos β-lactámicos en enterobacterias se debe principalmente a la producción de β-lactamasas, enzimas que inactivan estos fármacos al hidrolizar el enlace amida de su anillo β-lactámico (Lepea & Martínez-Martínez, 2022). Su clasificación se basa en dos sistemas complementarios: el molecular de Ambler (por homología de secuencia) y el funcional de Bush-Jacoby-Medeiros (por perfil de sustrato e inhibición) (Ambler et al., 1991; Bush & Jacoby, 2010). Este último divide las β-lactamasas en cuatro clases distintas, denominadas A, B, C y D, identificadas sobre la base de motivos de secuencia específicos, pero también distinguidas por diferencias fundamentales en el mecanismo hidrolítico. Otra división fundamental es la que existe entre las tres clases (A, C y D) de enzimas de serina en el sitio activo (serina β-lactamasas; SBL) y la clase B, que comprende un grupo heterogéneo de zin metaloenzimas (metalo-β-lactamasas, o MBL) (Massova & Mobashery, 1998).

Las β-lactamasas son enzimas versátiles con un rango limitado de estructuras moleculares que se encuentran en una diversidad de fuentes bacterianas. Su característica común es la capacidad de hidrolizar compuestos químicos que contienen un anillo β-lactámico. Como se muestra en la figura. 2. Con el avance de la investigación clínica y genómica, la clasificación de las β-lactamasas se ha refinado en múltiples grupos funcionales dentro de las cuatro clases moleculares, diferenciados por su capacidad de hidrolizar distintos antibióticos β-lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos), así como por su perfil de inhibición frente a compuestos como clavulanato, avibactam o EDTA. Desde el punto de vista bioquímico, estas enzimas se dividen en dos grandes categorías: las β-lactamasas de serina, que forman un complejo acil-enzima durante la hidrólisis, y las metalo-β-lactamasas (MBL), que requieren iones de zinc para su actividad catalítica (Bush, 2018).

Figura 2 Relaciones moleculares y funcionales entre las β-lactamasas.



AV para avibactam; CA para ácido clavulánico; Cb para carbapenem; Cp para cefalosporina; E para cefalosporina de espectro extendido; M para monobactámico; y P para penicilina.

Fuente: tomado de Bush. (2018).

Los antibióticos β-lactámicos inhiben el crecimiento bacteriano al acilar el residuo de serina presente en el sitio activo de las proteínas de unión a penicilina (PBPs), lo que bloquea la síntesis de peptidoglicano, componente esencial de la pared celular. En particular, la penicilina actúa sobre la transpeptidasa, enzima responsable de la formación de enlaces cruzados en el peptidoglicano, al imitar estructuralmente a su sustrato natural y unirse de manera irreversible a su sitio activo. Por su parte, las β-lactamasas, enzimas asociadas a la resistencia bacteriana, también contienen una serina catalítica susceptible de ser acilada por estos antibióticos, lo que evidencia una base bioquímica común con las PBPs. Estudios estructurales han demostrado similitudes tridimensionales en sus sitios

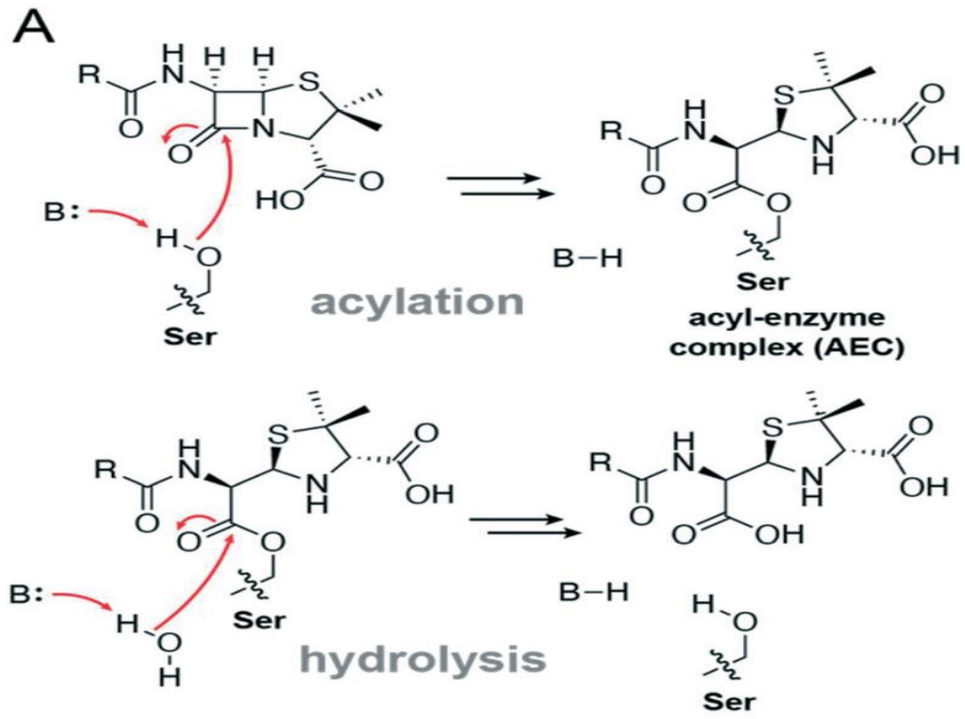
activos, pese a diferencias en la secuencia de aminoácidos. Se considera que las PBPs son evolutivamente ancestrales, mientras que las β-lactamasas se diferenciaron principalmente por una mayor velocidad de desacilación, lo que les permite hidrolizar el antibiótico y conferir resistencia (Fisher & Mobashery, 2009).

2.2.1. β-Lactamasas de Serina (Clases A, C y D)

Las β-lactamasas son enzimas hidrolasas que inactivan los antibióticos β-lactámicos mediante la ruptura del anillo β-lactámico. Aunque se han descrito miles de variantes, estas pueden agruparse en un número reducido de clases según su estructura y mecanismo de acción (Bush et al., 1995). De acuerdo con la clasificación de Ambler, las β-lactamasas de serina (SBL), correspondientes a las clases A, C y D, comparten un mecanismo catalítico caracterizado por el uso de un residuo de serina nucleofílico. Este mecanismo ocurre en dos etapas: inicialmente, la serina ataca el anillo β-lactámico, formando un complejo acil-enzima covalente; posteriormente, una molécula de agua activada hidroliza este enlace, liberando el antibiótico inactivado y regenerando la enzima activa. Este proceso es análogo al de las PBP, pero se diferencia por una desacilación más eficiente, lo que permite a las SBL actuar de manera catalítica (Mora-Ochomogo & Lohans, 2021) (figura 3).

Las BLEE de clase A son fundamentales mecanismos de defensa en enterobacterias ellas degradan penicilinas además de cefalosporinas (salvo las cefamicinas) y también monobactámicos. Frecuentemente, los genes que codifican para estas enzimas se encuentran en plásmidos facilitando esto su rápida propagación (Livermore, 2008).

Figura 3 Diagrama de reacción que ilustra las etapas clave en la catálisis de las β-lactamasas de serina.



Fuente: tomado de Mora-Ochomogo & Lohans. (2021).

Desde su aparición en los años 80, estas enzimas se han propagado globalmente hasta volverse endémicas, tanto en infecciones nosocomiales como comunitarias, representando un problema crítico de salud pública. Inicialmente predominaron las variantes TEM y SHV; sin embargo, en la actualidad las enzimas tipo CTX-M son las más prevalentes, con CTX-M-15 como variante dominante a escala mundial, seguidas por CTX-M-14 y, más recientemente, por CTX-M-27 en algunas regiones. La propagación de estas enzimas está potenciada por su localización en plásmidos, a menudo integradas en transposones o secuencias de inserción. Además, la diseminación de *E. coli* productor de BLEE está liderada por el clon de alto riesgo ST131, altamente virulento y exitoso (Paterson & Bonomo, 2005; Cantón et al., 2012).

Aunque las distintas familias de BLEE comparten propiedades bioquímicas comunes como la hidrólisis de β-lactámicos de espectro extendido y la inhibición por clavulanato, presentan una notable diversidad genética. Familias como TEM y SHV agrupan variantes estrechamente relacionadas, que difieren por pocas sustituciones aminoacídicas. En contraste, familias como CTX-M exhiben una mayor variabilidad

genética, cada una con características particulares que influyen en su epidemiología y perfil de sustrato (tabla 1) (Jacoby, 2006).

Tabla 1 Familias de BLEE

Familia	**Nomenclatura**	**Características**
TEM	Temoneira, el paciente infectado con el primer aislado que expresa TEM-1	Variantes por mutación puntual de TEM-1 o TEM-2
SHV	Reactivo sulfhidrilo variable	Variantes por mutación puntual de SHV-1
IRT	TEM resistente a inhibidores	Variantes de TEM resistentes a la inhibición por clavulanato y sulbactam, pero no tienen fenotipo de ESBL
CMT	Mutante complejo derivado de TEM-1	Variantes de TEM resistentes a la inhibición por clavulanato y sulbactam, y también tienen fenotipo de ESBL
CTX-M	β-lactamasa cefotaxima-hidrolizante aislada en Múnich	Derivada de la β-lactamasa cromosómica de Kluyvera spp. Hidroliza preferentemente cefotaxima
GES	Espectro extendido de Guayana	Más prevalente en P. aeruginosa que en Enterobacterales. Algunas variantes también hidrolizan carbapenems
PER	Espectro extendido resistente de Pseudomonas	Más prevalente en P. aeruginosa y A. baumannii que en Enterobacterales. La inhibición

		por inhibidores más recientes de β-lactamasa es variable
VEB	β-lactamasa de espectro extendido de Vietnam	Hidroliza preferentemente ceftazidima y aztreonam en comparación con cefotaxima. La inhibición por inhibidores más recientes de β-lactamasa es variable
BEL	β-lactamasa de espectro extendido de Bélgica	Hidroliza preferentemente ceftazidima y aztreonam en comparación con cefotaxima
TLA	Nombrada por los indios Tlahuica (México), de donde se obtuvo el primer aislado	Hidroliza preferentemente ceftazidima y aztreonam en comparación con cefotaxima
SFO	De *Serratia fonticola*	Inducible
OXY	De *Klebsiella oxytoca*	Codificada cromosómicamente

Fuente: Adaptado de Jacoby, (2006).

La diseminación de los genes codificantes de βLEE está estrechamente asociada a su movilización mediante elementos genéticos móviles, especialmente plásmidos. Estos pueden albergar secuencias de inserción, transposones e integrones, los cuales facilitan tanto su reordenamiento dentro de una misma bacteria como su transferencia horizontal entre bacterias a través de conjugación, transformación y, en el caso de los bacteriófagos, transducción En algunos casos, las IS localizadas adyacentes al gen bla_{CTX} se integran en integrones, que a su vez pueden formar parte de transposones, favoreciendo así su propagación y estabilidad genética (Brolund y Sandegren., 2016).

La expansión de plásmidos portadores de genes de resistencia entre distintas especies bacterianas responde, en gran medida, a la presión selectiva generada por el uso de antibióticos de amplio espectro. Diversas familias de plásmidos actúan como vehículos de genes BLEE y, frecuentemente, también de determinantes de resistencia a otras clases

de antimicrobianos. En este contexto, se han descrito múltiples incompatibilidades plasmídicas que albergan el gen *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ en *E. coli*, incluyendo IncF, IncN, IncN2, IncI1, IncHI2, IncL/M, IncA/C, IncK, IncX4, IncU y RCR, siendo la familia IncF la más relevante en la diseminación de BLEE en esta especie (Carattoli, 2009a; Carattoli, 2011b).

Las enzimas CTX-M constituyen el grupo más ampliamente distribuido de β-lactamasas de BLEE, cuyos genes se diseminan principalmente entre enterobacterias mediante elementos genéticos móviles, en particular la secuencia de inserción ISEcp1, localizada frecuentemente aguas arriba de *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (Lupo et al., 2018). Estos genes, originalmente cromosómicos en especies del género *Kluyvera*, fueron movilizados a plásmidos, donde la acumulación de mutaciones ha favorecido la aparición de variantes con capacidad de hidrolizar cefotaxima y ceftazidima (Hussain et al., 2021).

Su difusión se relaciona a varias familias de plasmídos, no solo IncF, siendo *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ la variante más prevalente en *E. coli*, frecuentemente vinculada a diversos replicones y a genes de resistencia adicionales, lo que potencia su propagación (Moremi et al., 2016). De igual modo, la diversidad en su ámbito genético influye en los niveles de resistencia, mientras que otras variantes como CTX-M-14 también presentan una amplia distribución mediada por plásmidos específicos (Dhanji et al., 2012). La co-localización de *bla*$_{\text{CTX-M}}$ con otros determinantes de resistencia, incluso a carbapenémicos y colistina, confirma su papel fundamental en la multirresistencia bacteriana, reforzando su impacto clínico y epidemiológico a nivel global (Jayol et al., 2016; Pavez et al., 2019).

Las enzimas de clase AmpC, se caracterizan por la presencia de un residuo de serina en su sitio activo, crucial para su funcionamiento. Los mecanismos de resistencia vinculados a estas enzimas pueden originarse por tres vías principales: la expresión inducible de genes *ampC* cromosómicos en bacterias como *E. cloacae*, *S. marcescens* y *P. aeruginosa*; la resistencia cromosómica no inducible, debida a mutaciones en regiones reguladoras como el promotor o atenuador, reportadas en *E. coli* y *A. baumannii*; y la diseminación mediada por plásmidos en patógenos como *K. pneumoniae* y *Salmonella* spp. (Bush & Jacoby, 2010).

Las beta-lactamasas AmpC se clasifican según su origen genético y patrón de expresión en cromosómicas o plasmídicas, distinción que conlleva importantes

implicaciones clínicas. Dentro de las cromosómicas, las de tipo inducible mantienen una producción basal mínima que se incrementa ante la presencia de antibióticos beta-lactámicos; sin embargo, pueden sufrir mutaciones que las vuelven constitutivas (desreprimidas), aumentando permanentemente la resistencia en patógenos como *Enterobacter* spp., *M. morganii*, *Providencia* spp. y *P. aeruginosa* (Navarro et al., 2002; Vila & Marco, 2002).

Por el contrario, las cromosómicas no inducibles, cuyo principal exponente es *E. coli*, presentan una expresión constitutiva baja que generalmente no confiere resistencia significativa, a menos que ocurra una hiperproducción que afecte a la mayoría de los beta-lactámicos, exceptuando carbapenémicos y cefalosporinas de cuarta generación (Navarro et al., 2002).

Para entender los mecanismos de resistencia, es clave recordar que la expresión del gen ampC se induce en presencia de antibióticos β-lactámicos a través de un sistema regulado por el reciclaje del peptidoglucano. La degradación de la pared celular genera 1,6-anhidromuropéptidos (1,6-AMP), los cuales ingresan al citoplasma a través de la permeasa AmpG. Estas moléculas actúan como señales que se unen al regulador AmpR, promoviendo la transcripción de ampC y la producción de la β-lactamasa AmpC, responsable de la inactivación de los β-lactámicos (Martínez Rojas, 2009).

La proteína AmpD participa en el reciclaje del peptidoglucano al degradar estos intermediarios, limitando su interacción con AmpR. Sin embargo, cuando se acumulan 1,6-AMP y AmpD no logra procesarlos completamente, estos se unen a AmpR, reduciendo su efecto represor y aumentando la expresión de ampC (Guérin et al., 2015). Aunque la producción de AmpC suele disminuir al cesar el estímulo antibiótico, mutaciones en genes reguladores, principalmente en ampD y, en menor medida, en ampR y ampG, pueden generar una desrepresión constitutiva, manteniendo una sobreexpresión de ampC incluso en ausencia de β-lactámicos (Schmidtke & Hanson, 2006).

Por otro lado, las AmpC plasmídicas se originan a partir de genes cromosómicos que han sido movilizados hacia elementos genéticos transferibles, lo que favorece su diseminación entre especies que naturalmente carecen de estos determinantes, como *Salmonella* spp., *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* (Philippon et al., 2002). Estas enzimas se agrupan en diversas familias, entre las que se incluyen ACC, FOX, MOX, CIT (que

comprende CMY), DHA y EBC, algunas de las cuales conservan la capacidad de expresión inducible (Jacoby, 2009). Desde el punto de vista clínico, su relevancia es mayor debido a que el elevado número de copias génicas presentes en los plásmidos incrementa sus niveles de expresión, lo que se traduce en resistencia a penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas de amplio espectro y, de manera variable, a aztreonam (Schmidtke & Hanson, 2006).

Con base en lo anterior, Bindu & Saikumar (2022) evidenciaron mediante PCR la presencia de β-lactamasas AmpC plasmídicas en aislados de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis.* Sin embargo, observaron que una proporción considerable de aislados resistentes a cefoxitina no presentaban genes AmpC detectables, lo que sugiere la participación de mecanismos alternativos de resistencia. El análisis molecular identificó a FOX-CIT como el gen predominante, seguido de EBC. Estos resultados apoyan la idea de que el uso extendido de cefalosporinas en la terapia empírica contra Enterobacteriaceae ha incrementado la presión selectiva, favoreciendo la emergencia y propagación de cepas productoras de AmpC. Por lo tanto, la identificación precisa de estos aislados resulta fundamental para comprender la dinámica epidemiológica de la resistencia bacteriana y orientar estrategias terapéuticas más efectivas (Mansouri et al., 2024).

Debido a su prevalencia tanto en infecciones nosocomiales como en comunitarias, estas enzimas plantean un reto crucial debido a su vinculación con fracasos terapéuticos, sobre todo con cefalosporinas de tercera generación Pai et al 2004. Esto subraya la importancia de una detección precisa y rápida en el laboratorio clínico para orientar el tratamiento antimicrobiano y prevenir la selección de cepas multirresistentes (Pai et al 2004; Martínez Rojas, 2009).

El uso de oximino-cefalosporinas en infecciones causadas por cepas aparentemente susceptibles puede seleccionar mutantes con AmpC desreprimida, favoreciendo el fracaso terapéutico. Debido a esto, EUCAST, no recomienda su uso en monoterapia y su reporte de sensibilidad en especies como *Enterobacter* spp., complejo *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp. y *Morganella morganii*, debido al riesgo de inducción de resistencia (Leclercq et al., 2013). Los estudios realizados apoyan esta recomendación que evidencia una mayor frecuencia de emergencia de resistencia en infecciones por *Enterobacter* (8–19%) en comparación con otros géneros (Kaye et al., 2001).

Considerando esto, Kohlmann et al. (2018) demostraron que las tasas de mutación varían según la especie dentro de Enterobacterales con AmpC inducible, lo que influye en la elección terapéutica. Recomiendan evitar oximino-cefalosporinas y piperacilina/tazobactam en infecciones por *Enterobacter* spp., complejo *C. freundii* y *Hafnia alvei*, mientras que su uso podría considerarse en *Serratia* spp., *Providencia* spp. y *M. morganii*, siempre bajo estricta vigilancia clínica. Sin embargo, es importante recalcar que estos descubrimientos emanan sobre todo de análisis in vitro, por ello su validación clínica se hace indispensable.

En este sentido, Tamma et al. (2019) señalan que los microorganismos con capacidad de producir β-lactamasas AmpC, suponen un reto para la toma de decisiones terapéuticas. Indican que las especies de *Enterobacter* (incluyendo *Klebsiella aerogenes*) presentan el mayor riesgo de inducción de AmpC, por lo que recomiendan evitar cefalosporinas de espectro extendido en infecciones graves, incluso si los resultados in vitro indican susceptibilidad. Para otros microorganismos del grupo "SPACE", el tratamiento puede basarse en los perfiles de sensibilidad, optimizando la administración del antibiótico, junto con una vigilancia clínica continua. Igualmente, indican que cefepime y piperacilina/tazobactam pueden ser opciones terapéuticas, con mayor respaldo para cefepime, mientras que los carbapenémicos se consideran una alternativa en pacientes críticamente enfermos.

Por otro lado, la resistencia a los carbapenémicos constituye un problema independiente y se define como la falta de susceptibilidad *in vitro* a estos antibióticos o la producción de carbapenemasas. Este fenómeno se ha diseminado globalmente en Enterobacteriaceae, especialmente en *Klebsiella* spp., y suele asociarse a resistencia a múltiples familias de antimicrobianos. Las carbapenemasas son β-lactamasas capaces de hidrolizar carbapenémicos (imipenem, meropenem, ertapenem y doripenem) y, con frecuencia, otros β-lactámicos, lo que contribuye al fracaso terapéutico y a una elevada mortalidad (Durante-Mangoni et al., 2019).

La clasificación de β-lactamasas se basa en dos sistemas complementarios: el esquema funcional de Bush–Jacoby–Medeiros (BJM) y el esquema molecular de Ambler. El primero agrupa las enzimas según su perfil de sustratos e inhibidores; así, las carbapenemasas se ubican principalmente en los grupos 2f (como KPC, GES, IMI, NMC

y SME), inhibidas por tazobactam y ácido clavulánico, y en el grupo 3 (metalo-β-lactamasas como NDM, IMP y VIM), inhibidas por quelantes de metales como EDTA. Posteriormente se añadió el subgrupo 2df para las carbapenemasas tipo OXA, frecuentes en *Acinetobacter baumannii* y Enterobacterales (Bush & Jacoby, 2010; Bush et al., 1995; Simner et al., 2024).

Por su parte, el sistema de Ambler clasifica las β-lactamasas en cuatro clases (A, B, C, D) según su secuencia de aminoácidos. Las carbapenemasas pertenecen a las clases A, B y D: las clases A, C y D son serina-β-lactamasas, mientras que la clase B corresponde a metalo-β-lactamasas (MBL), que requieren al menos un ion zinc en su sitio activo. A su vez, las MBL se subdividen en las subclases B1, B2 y B3 según características funcionales y estructurales (Tabla 2) (Frère et al., 2005). Ambos sistemas se complementan para una caracterización integral de estos mecanismos de resistencia.

Tabla 2 Clasificación de las carbapenemasas según los esquemas funcional (clasificación de Bush–Jacoby–Medeiros) y molecular (clasificación de Ambler)

Clasificación funcional	**Clasificación molecular**	**Enzimas representativas**	**Organismos más comunes asociados con la producción**	**Características**
2df	D	OXA-23 OXA-48	*A. baumannii* *Enterobacterales*	• Serina en el sitio activo • Inhibición variable por ácido clavulánico y tazobactam
2f	A	KPC-1, SME-1, GES-2	*Enterobacterales* *Serratia marcescens* *P. aeruginosa*	• Inhibición variable por ácido clavulánico y tazobactam • Serina en el sitio activo

3a	B1 B3	NDM-1, IMP-1, VIM-1 CAU-1	No fermentadores de glucosa / *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *P. aeruginosa* *Caulobacter crescentus*	• Inhibido por EDTA • Zinc en el sitio activo
3b	B2	CphA	*Aeromonas hydrophila*	• Inhibido por EDTA • Zinc en el sitio activo

Fuente: Tomado de Simner et al. (2024).

Las carbapenemasas de clase A, especialmente las KPC, constituyen una de las principales causas de resistencia a carbapenémicos en bacterias Gram negativas. Estas enzimas, distribuidas a nivel mundial predominan en *K. pneumoniae* especificamente en clones de alto riesgo como ST258, ST14, ST15 y ST307, tienen la capacidad de hidrolizar una amplia variedad de β-lactámicos y son inhibidas por compuestos como ácido borónico, avibactam, vaborbactam y relebactam. El gen bla_{KPC}, generalmente hallado en el transposón Tn4401 y transportado por plásmidos, facilita su diseminación y contribuye a la resistencia a múltiples antimicrobianos (Porreca et al., 2018).

En este contexto, la enzima KPC-1 posteriormente reconocida como idéntica a KPC-2 fue descrita por primera vez a finales de la década de 1990 en un aislado de *K. pneumoniae* en Carolina del Norte, Estados Unidos, en el marco del programa Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (Yigit et al., 2001). A partir de este hallazgo, las cepas portadoras de bla_{KPC-2} se diseminaron rápidamente en el noreste del país, especialmente en Nueva York, y posteriormente hacia otras regiones. En 2004 se notificaron los primeros casos asociados a bla_{KPC-3}, con un patrón de propagación similar,

lo que favoreció la expansión internacional de cepas productoras de KPC hacia países como Israel, Grecia, Italia, Colombia y China (Bradford et al., 2004; Van der Bij & Pitout, 2012; Muñoz-Price et al., 2013).

Actualmente, los Enterobacterales portadores de *bla*$_{KPC}$, principalmente *K. pneumoniae*, son endémicos en diversas regiones de América, Europa y Asia. Aunque en el noreste de Estados Unidos e Israel se ha observado una disminución de su incidencia desde inicios de la década de 2010 gracias a la implementación de medidas eficaces de control de infecciones, estos microorganismos continúan causando brotes en hospitales y centros de atención a largo plazo a nivel mundial (Van Duin & Doi, 2017; Bonomo et al., 2018; Bush & Bradford, 2020).

Estudios más recientes señalan que las enzimas siguen mutando. En particular, Vásquez-Ponce et al. (2023), detectaron en Brasil dos nuevas variantes de KPC-2 (KPC-113 y KPC-114) en aislamientos de *K. pneumoniae* pertenecientes a clones de alto riesgo (ST16 y ST11), asociadas a resistencia a ceftazidima-avibactam y a múltiples β-lactámicos.

Estas variantes, relacionadas a mutaciones por inserción de aminoácidos y transportadas en plásmidos transferibles, revelan el surgimiento de nuevos mecanismos de resistencia en América del Sur, lo que limita las opciones terapéuticas y resalta la importancia de mantener una vigilancia continua (Vásquez-Ponce et al., 2023).

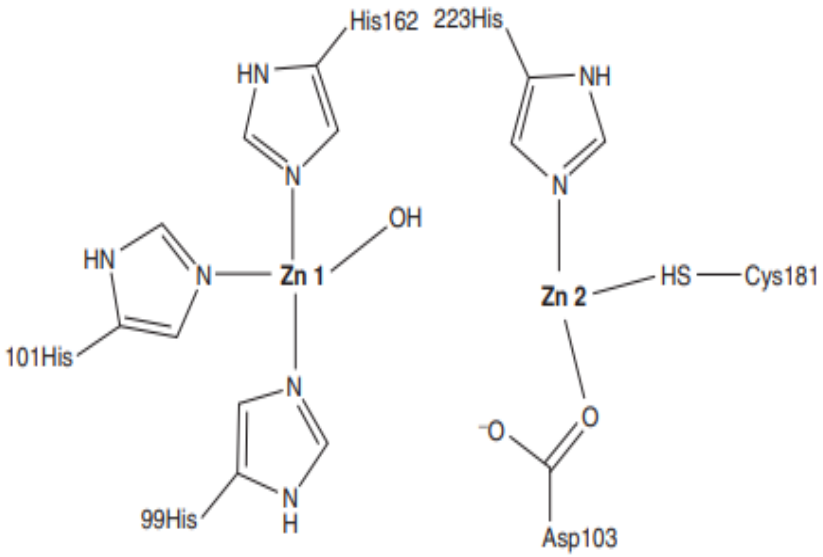
Las carbapenemasas de clase molecular B (metalo-β-lactamasas, MBL) requieren zinc en su sitio activo y no son inhibidas por ácido clavulánico o tazobactam, sino por quelantes como EDTA. Se dividen en tres subclases: B1 y B3 hidrolizan todos los β-lactámicos excepto monobactámicos, mientras que B2 actúa exclusivamente sobre carbapenémicos. Las MBL más importantes (NDM, IMP, VIM) son plasmídicas y predominan en Enterobacterales, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* (Boyd et al., 2020).

Las β-lactamasas de clase B son enzimas dependientes de Zn^{2+} que presentan un mecanismo hidrolítico distinto al de otras clases. Estas MBL inactivan los antibióticos β-lactámicos mediante la hidrólisis de su anillo, utilizando el grupo hidroxilo (OH^-) de una molécula de agua activada por los iones zinc del sitio activo (figura 4). (Bonomo, 2017).

Este grupo actúa como nucleófilo, atacando el carbono del anillo β-lactámico y provocando su ruptura sin la formación de intermediarios covalentes (Bahr et al., 2021).

Durante este proceso, se genera un intermediario aniónico de alta energía, considerado clave en la reacción. Tras la hidrólisis, el sitio activo se regenera, lo que permite a la enzima continuar inactivando nuevas moléculas del antibiótico. Este mecanismo, común a todas las MBL, puede involucrar uno o dos iones zinc según la subclase, y se caracteriza por no formar complejos estables con el sustrato, a diferencia de las β-lactamasas de clase A, C y D (Meini et al., 2015).

Figura 4 Sitio activo de una metalo-β-lactamasa



Fuente: Tomado de Bonomo. (2017).

Estas enzimas de clase molecular B, son transferibles y con frecuencia se localizan como casetes génicos en integrones de clase 1 y, en menor medida, en plásmidos o transposones. Suelen estar asociadas a otros determinantes de resistencia, como genes que codifican enzimas modificadoras de aminoglucósidos, lo que favorece fenotipos de multirresistencia. Su amplio espectro de hidrólisis y su capacidad de diseminación mediante elementos genéticos móviles constituyen un importante problema clínico (Walsh et al., 2005).

Las MBL con mayor distribución geográfica son IMP, VIM y NDM (Bonomo, 2017). IMP fue la primera MBL transferible identificada en *P. aeruginosa* en Japón en 1988 (Watanabe et al., 1991). VIM se reportó inicialmente en *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos en Italia en 1999 (Lauretti et al., 1999) y fue la MBL predominante en Europa y el Mediterráneo hasta 2017 (Mojica et al., 2016). Por su parte, NDM, detectada en *K. pneumoniae* y *E. coli* de un paciente procedente de India en 2008 (Yong et al., 2009), ha mostrado la diseminación geográfica más rápida y extensa entre todas las MBL (Mojica et al., 2022).

A nivel mundial, la prevalencia de enterobacterales portadoras de MBL ha aumentado en todas las regiones, con las proporciones más elevadas en Asia-Pacífico (59,4%) y África/Medio Oriente (49,0%) durante 2018–2019, superando los niveles del período 2012–2017 (Kazmierczak et al., 2021; Estabrook et al., 2023). Además, a escala global, el 7,8% de las enterobacterias resistentes a meropenem portaban dos carbapenemasas, siendo la combinación NDM con OXA-48-like la más frecuente (84,4%), lo que evidencia la creciente complejidad de los mecanismos de resistencia y su impacto en las opciones terapéuticas (Estabrook et al., 2023).

La rápida propagación de NDM a nivel global se ha visto impulsada principalmente por los viajes internacionales. Los primeros casos en Reino Unido estuvieron vinculados al subcontinente indio, y posteriormente la incidencia aumentó de forma pronunciada en la región mediterránea de Europa, donde el 57% de los casos iniciales se asociaron a hospitalizaciones previas en India o los Balcanes (Struelens et al., 2010; Canton et al., 2012). El primer brote en Europa ocurrió en Italia en 2011 a partir de un paciente procedente de India, lo que llevó a que el país alcanzara altas tasas de NDM en 2017; Grecia, por su parte, reportó casos sostenidos desde 2014 asociados a viajes desde los Balcanes (Grundmann et al., 2017; Wu et al., 2019). En Norteamérica, el traslado de pacientes desde India introdujo cepas productoras de NDM en Canadá y Estados Unidos, consolidando la diseminación intercontinental impulsada por la movilidad humana (Peirano et al., 2014; Mataseje et al., 2016).

El abordaje terapéutico de infecciones por cepas productoras de NDM presenta desafíos notables debido a la complejidad de sus mecanismos de resistencia. Aunque el aztreonam es estable frente a las MBL, su uso clínico es limitado debido a que estas cepas suelen co-expresar BLEE o AmpC, que hidrolizan el antibiótico. Para superar esta

barrera, la combinación de aztreonam con avibactam un inhibidor de β-lactamasas de serina protege al aztreonam de dichas enzimas, demostrando potente actividad in vitro contra Enterobacterales NDM-positivas productoras de BLEE (Karlowsky et al., 2017).

Adicionalmente, aunque ceftazidima-avibactam no es activo frente a NDM, su asociación con aztreonam ha mostrado un efecto sinérgico y bactericida (Wenzler et al., 2017). Esta acción conjunta ha mostrado resultados clínicos favorables: varios reportes de caso validan la eficacia de esta combinación en infecciones por CRE NDM-positivas, considerándola una alternativa útil cuando no existen otras opciones terapéuticas (Shaw et al., 2018).

Las β-lactamasas tipo OXA (clase D) se caracterizan por su mayor capacidad hidrolítica frente a oxacilinas en comparación con las clases A y C, y han evolucionado de ser enzimas poco frecuentes, mediadas por plásmidos y con actividad principalmente frente a penicilinas, a constituir un mecanismo relevante de resistencia a los carbapenémicos (Evans & Amyes, 2014). Dentro de las variantes con actividad carbapenemasa se distinguen dos grupos principales: aquellas predominantes en *A. baumannii* (OXA-23, OXA-24, OXA-51 y OXA-58), donde tanto enzimas adquiridas como la sobreexpresión de OXA cromosómicas contribuyen a la resistencia, y las propias de Enterobacterales, representadas por las enzimas tipo OXA-48, identificadas inicialmente en 2004 en *K. pneumoniae* en Turquía. La diseminación de estas enzimas, facilitada por su transferencia entre especies, ha incrementado su impacto clínico, consolidándolas como una amenaza importante para la eficacia de los carbapenémicos (Poirel et al., 2004).

Las β-lactamasas de clase D, como OXA-48, son hidrolasas de serina cuyo mecanismo de acción es similar al de las proteasas de serina. Inicialmente, se forma el complejo enzima–sustrato (ES), tras lo cual la serina del sitio activo ataca al sustrato y genera un intermediario covalente acil-enzima (EAc). Posteriormente, una molécula de agua activada hidroliza este intermediario, liberando el producto (P), que carece de actividad antibiótica. En estas enzimas, la activación del agua de desacilación está mediada por una lisina carboxilada (Golemi et al., 2001).

Las enzimas tipo OXA-48 son capaces de degradar aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas, así como cefalosporinas de espectro reducido (p. ej., cefalotina); son poco activas frente a carbapenémicos y presentan escasa actividad hidrolítica en cefalosporinas de espectro extendido como ceftriaxona, ceftazidima y cefepima (Pitout et al., 2019).

Los Enterobacterales que albergan el gen *bla*$_{\text{OXA-48}}$, especialmente *K. pneumoniae*, son endémicos en el Medio Oriente y el norte de África, donde causan brotes nosocomiales (Pitout et al., 2019). También se han reportado brotes asociados a la atención sanitaria en otras regiones, principalmente vinculados a *K. pneumoniae* y *E. coli*. El gen *bla*$_{\text{OXA-48}}$ se localiza generalmente en plásmidos conjugativos IncL tipo pOXA-48a, asociados a variantes del transposón compuesto Tn1999, presentes en diversos secuenciotipos de *K. pneumoniae* y otras especies. Este elemento genético desempeña un papel importante en la diseminación internacional e interespecie de *bla*$_{\text{OXA-48}}$ (Poirel et al., 2012).

Las carbapenemasas tipo OXA-48 son actualmente las más prevalentes en Enterobacterales a nivel mundial y siguen extendiéndose hacia regiones no endémicas, donde causan brotes hospitalarios. Entre sus variantes más frecuentes se incluyen OXA-48, OXA-181, OXA-232, OXA-204, OXA-162 y OXA-244. La distribución geográfica varía: OXA-48 predomina en el norte de África y el Medio Oriente; OXA-162 y OXA-244 se han descrito principalmente en Europa; mientras que OXA-181 y OXA-232 son más frecuentes en el subcontinente indio y en algunas zonas del África subsahariana. Los resultados de la vigilancia genómica y de estudios clínicos indican que las Enterobacterales productoras de OXA-48 son endémicas en ciertas regiones y se introducen de manera habitual en áreas previamente no afectadas (Brink et al., 2013; Lunha et al., 2016; Pitout et al., 2019).

La diseminación clonal contribuye poco a la propagación de carbapenemasas; sin embargo, algunos clones de alto riesgo, como *K. pneumoniae* ST147 y *E. coli* ST38, han contribuido a su expansión a nivel mundial. Aun así, detectar enzimas OXA-48 sigue siendo un dolor de cabeza, sobre todo en regiones no endémicas. Allí muchos laboratorios clínicos ni siquiera hacen pruebas específicas. Y para colmo, el fenotipo que producen tiene niveles bajos de resistencia a carbapenémicos, lo que complica identificarlas con

métodos convencionales. Esto sugiere que su incidencia podría estar subestimada. Sin duda, es una amenaza creciente para la salud pública (Van Duin & Doi, 2017; Pitout et al., 2019).

En este sentido, identificar Enterobacterales productores de carbapenemasas tipo OXA-48-like es necesario para el manejo clínico, el control de infecciones y la vigilancia epidemiológica. Aunque los métodos fenotípicos han mostrado avances importantes, la baja actividad enzimática continúa limitando su capacidad de detección, incluso en sistemas automatizados. Entre los antibióticos utilizados para el tamizaje, el meropenem mantiene un equilibrio aceptable entre sensibilidad y especificidad; sin embargo, hasta el momento no se dispone de un agente único que garantice una detección óptima. Por otro lado, las técnicas moleculares basadas en PCR ofrecen una elevada precisión diagnóstica, aunque su implementación suele verse limitada por los costos y el tiempo requerido para su procesamiento. Frente a estas limitaciones, los inmunoensayos de flujo lateral han surgido como una alternativa rápida y prometedora para la detección de estos mecanismos de resistencia (Pitout et al., 2019).

2.3 Mecanismos de resistencia no enzimáticos

2.3.1. Modificación de la Permeabilidad: Porinas

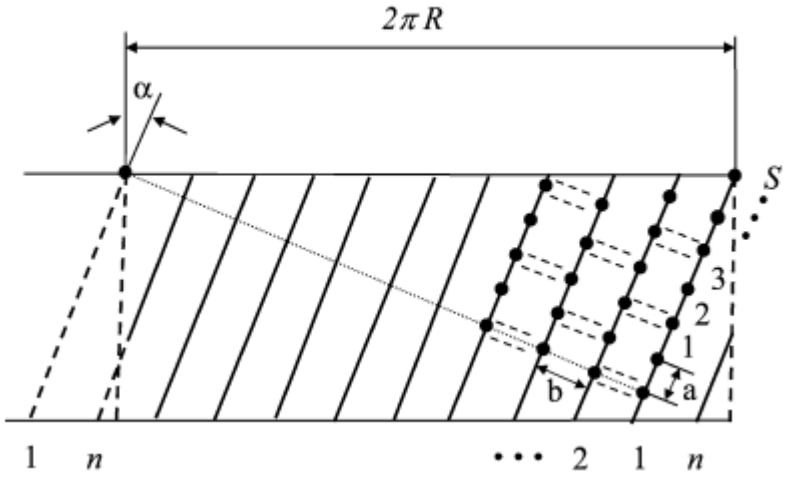
La capacidad de las bacterias Gram negativas para resistir los antibióticos betalactámicos no se limita a la producción de betalactamasas; existen otros procesos involucrados como: la alteración o pérdida de las porinas, proteínas integrales de la membrana externa que facilitan la entrada de nutrientes y antibióticos en la célula bacteriana. La modificación o ausencia de estas porinas puede reducir la permeabilidad de la membrana, limitando la entrada de betalactámicos y contribuyendo así a la resistencia (Kim et al 2020).

La membrana externa de las bacterias Gram negativas facilita la difusión pasiva de solutos pequeños y hidrofílicos, así como de antibióticos clave (como los β-lactámicos), mediante proteínas que forman canales (Achouak et al., 2001). Las porinas constituyen un grupo de estas proteínas y se encuentran en bacterias de la clase gamma-proteobacteria, como *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, entre otras (Ghai & Ghai, 2018). Además de su función en el paso de sustancias, las porinas son responsables de mantener la integridad de la envoltura celular y de actuar como receptores de bacteriocinas y

bacteriófagos. También juegan un papel en la patogénesis bacteriana, participando en procesos como la invasión, la resistencia al suero y la adherencia (Buchanan, 1999).

Las porinas son proteínas integrales de la membrana externa cuya clasificación se basa principalmente en su estructura y función; en general, las proteínas de membrana se dividen en dos tipos: de hélice alfa, predominantes en la membrana citoplasmática, y de barril beta, característicos de la membrana externa. Estas últimas presentan cadenas laterales hidrofóbicas orientadas hacia la membrana y una estructura estabilizada por enlaces de hidrógeno. Las porinas corresponden a proteínas de tipo barril β, formadas por láminas β organizadas en un cilindro que genera un canal, cuya arquitectura se define por el número de hebras (generalmente entre 8 y 22) y su grado de inclinación, relacionado con el número de cizalladura, factores que determinan las propiedades del poro. Como se observa en la Figura 5, la disposición e inclinación de las hebras β influyen en la selectividad y el transporte de moléculas, permitiendo que estos barriles funcionen principalmente como canales para la captación de nutrientes y, en algunos casos, en procesos más especializados, lo que, junto con su estructura relativamente simple, los convierte en modelos útiles para la ingeniería de canales (Schulz, 2002).

Figura 5 Arquitectura general de una proteína de barril β



Fuente: Tomado de Schulz (2002).

En *E. coli* se han identificado tres porinas principales: OmpF, OmpC y PhoE, las cuales se diferencian por la carga y el tamaño de los solutos que permiten atravesar la membrana. En el caso de *K. pneumoniae*, las porinas más relevantes son OmpK35 y

OmpK36, responsables del transporte de solutos hidrofílicos hacia el interior de la célula bacteriana (Tsai et al., 2011).

La reducción de la permeabilidad de la membrana externa puede estar asociada a mutaciones que inactivan estas porinas, a alteraciones en su expresión o incluso a su pérdida completa. Diversos estudios han demostrado que la ausencia de OmpK35 y/o OmpK36 en *K. pneumoniae* se encuentra estrechamente relacionada con la resistencia a cefalosporinas y carbapenémicos (Jacoby et al., 2004). Asimismo, se han descrito mutaciones en los genes *ompC* y *ompF* que conducen a la pérdida de estas porinas, contribuyendo a la resistencia a carbapenémicos en *Enterobacter* spp., *E. coli* y *S. marcescens* (Masi et al., 2017).

Más allá de la pérdida estructural, la expresión diferencial de porinas también modula la permeabilidad antibiótica, como se ha evidenciado en *P. aeruginosa*. Amisano et al. (2025) determinaron los coeficientes de permeabilidad para varios antibióticos en cepas con diferente expresión de porinas, demostrando que OprD y OpdP contribuyen a la internalización de meropenem y biapenem. Mediante qRT-PCR, observaron que la expresión de OpdP es menor en fase exponencial y aumenta en fase latente, de forma inversamente proporcional a OprD. Además, la deleción de OpdP en presencia de meropenem a concentraciones equivalentes a la CIM favorece la selección de cepas resistentes a carbapenémicos. Estos hallazgos refuerzan la importancia clínica de las alteraciones en porinas ya sea por pérdida o por variaciones en su expresión como mecanismo de resistencia a carbapenémicos, particularmente cuando la exposición a antibióticos ocurre en concentraciones subóptimas.

2.3.2. Expulsión Activa: Bombas de Eflujo

Las bombas de eflujo bacterianas son mecanismos activos que expulsan sustancias tóxicas, incluidos antibióticos, desde el interior de la célula hacia el exterior. Este proceso disminuye la concentración del fármaco dentro de la bacteria, impidiendo su acción terapéutica. Representan un importante mecanismo de resistencia antimicrobiana (Pradel & Pagès, 2002).

Hay cinco familias principales de bombas de eflujo en bacterias Gram-negativas: la superfamilia del facilitador mayor (MFS), la familia de resistencia pequeña a múltiples

fármacos (SMR), la familia de extrusión de múltiples fármacos y toxinas (MATE), la superfamilia del casete de unión a ATP (ABC), la superfamilia de resistencia-nodulación-división (RND) y la familia de eflujo de compuestos antimicrobianos proteobacterianos (PACE) (Hassan et al., 2015).

Las bombas de eflujo bacterianas, especialmente las pertenecientes a la superfamilia RND, representan uno de los principales mecanismos de resistencia en bacilos Gram negativos. Estas estructuras tienen la capacidad de expulsar diversos antibióticos y compuestos tóxicos fuera de la célula bacteriana, favoreciendo el desarrollo de resistencia multidrogas en microorganismos como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* (Kavanaugh et al., 2024).

El aumento en su expresión o las modificaciones en su estructura disminuyen la concentración intracelular de antibióticos, incluidos los β-lactámicos y sus combinaciones con inhibidores, lo que reduce considerablemente su eficacia terapéutica (Rouvier et al., 2025). Además, estas bombas participan en procesos relacionados con la virulencia bacteriana y la formación de biopelículas, contribuyendo a una mayor capacidad de infección y persistencia de los patógenos (Xie et al., 2025).

Aunque se han identificado inhibidores con potencial terapéutico, su uso clínico todavía es limitado debido a problemas relacionados con la farmacocinética y la toxicidad (Duffey et al., 2024; Rouvier et al., 2025). En consecuencia, las investigaciones actuales se enfocan en comprender mejor los mecanismos genéticos y estructurales que regulan estas bombas, con el propósito de desarrollar estrategias más eficaces para combatir la resistencia antimicrobiana en bacilos Gram negativos (Novelli & Bolla, 2024).

Dentro de los sistemas de eflujo pertenecientes a la familia RND, la bomba tripartita AcrAB–TolC ha sido ampliamente estudiada debido a su importante participación en la resistencia bacteriana. Este sistema posee la capacidad de expulsar diferentes sustancias tóxicas, entre ellas numerosos antibióticos, lo que le permite actuar frente a una gran diversidad de compuestos y favorecer el desarrollo de resistencia a múltiples fármacos. Además de su implicación en la resistencia antimicrobiana, AcrAB–TolC interviene en otros procesos asociados con la supervivencia y adaptación bacteriana, como la formación de biopelículas, la virulencia durante las infecciones y la respuesta frente a condiciones de estrés ambiental. Estas funciones aumentan su relevancia en la

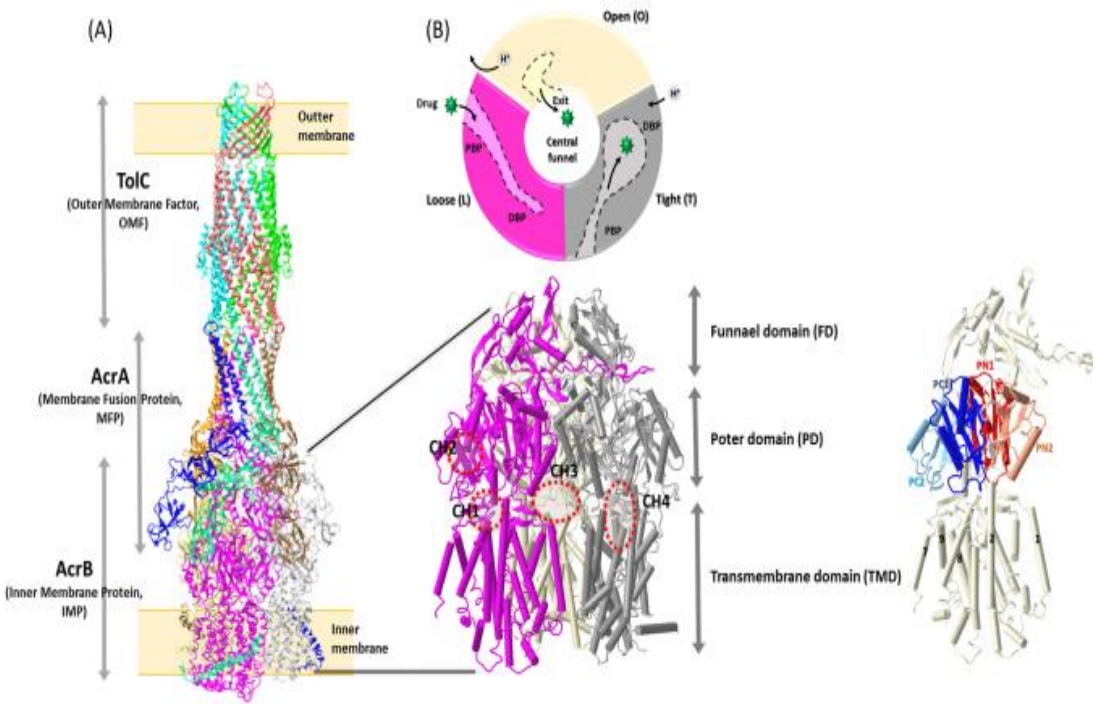
patogenicidad de bacterias Gram negativas y contribuyen a dificultar el tratamiento de las infecciones que producen. Debido a su participación en mecanismos que afectan directamente la eficacia terapéutica, este sistema de eflujo ha despertado un creciente interés como posible objetivo para el desarrollo de nuevas estrategias destinadas al control de infecciones causadas por bacterias Gram negativas (Yamasaki et al., 2015; Jang, 2023).

Especialmente, AdeB cumple una función fundamental en la resistencia frente a distintos antibióticos, tanto en células planctónicas como en biopelículas. La inactivación de este sistema altera procesos relacionados con la movilidad bacteriana, la formación de biopelículas y la expresión de genes asociados con la virulencia, lo que también disminuye la capacidad patogénica de la bacteria. En conjunto, estos resultados resaltan la importancia de las bombas de eflujo RND como mecanismos centrales en la resistencia antimicrobiana y la virulencia bacteriana, además de señalar su potencial como objetivos terapéuticos para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento (Xie et al., 2025).

La estructura del complejo AcrAB–TolC ha sido resuelta mediante técnicas avanzadas como la cristalografía de rayos X y la microscopía crioelectrónica, lo que ha permitido comprender en detalle su organización y mecanismo de acción (Du et al., 2014; Jang, 2023). Este sistema tripartito, característico de la familia RND, está conformado por tres componentes principales: AcrB, una proteína trimérica localizada en la membrana interna; TolC, también trimérica, situada en la membrana externa; y AcrA, una proteína hexamérica que actúa como puente en el espacio periplásmico, asegurando la conexión funcional del complejo (Fig. 1A, B).

Los estudios de microscopía crioelectrónica han permitido visualizar el complejo completamente ensamblado, incluyendo a TolC en su conformación abierta y al trímero de AcrB, donde se identifican hélices transmembrana y subdominios estructurales clave (Wang et al., 2017). Además, cada uno de los tres protómeros de AcrB experimenta un ciclo conformacional dinámico compuesto por tres estados secuenciales: suelto (L), ajustado (T) y abierto (O). Esta rotación funcional es fundamental para el mecanismo de expulsión de sustratos hacia el exterior de la célula (Reading et al., 2020).

Figura 6 Arquitectura de AcrAB−TolC.



Fuente: Tomado de Jang (2023).

2.4. Mecanismos de resistencia a otras familias de antibióticos

2.4.1 Resistencia a aminoglucósidos

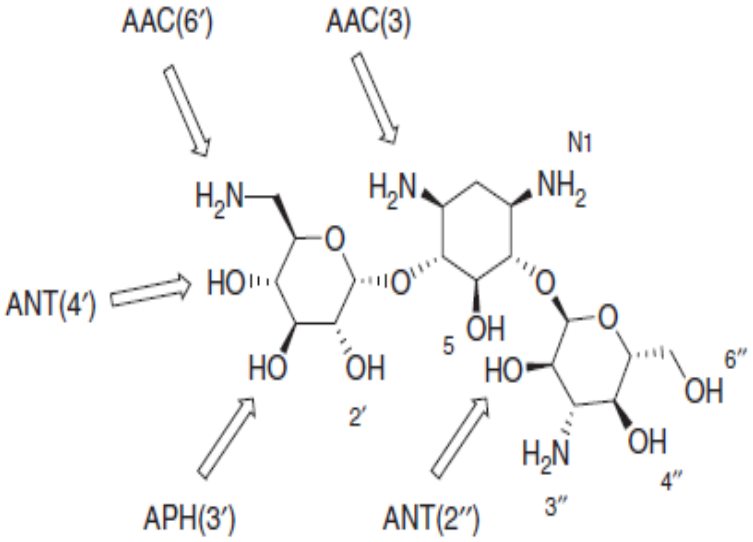
Los aminoglucósidos (AG) atraviesan la envoltura de las bacterias Gram negativas mediante un proceso que involucra ambas membranas. Inicialmente, cruzan la membrana externa, una bicapa asimétrica de fosfolípidos y lipopolisacáridos que actúa como barrera hidrofóbica, a través de poros que funcionan como filtros selectivos (Masi et al., 2019). Posteriormente, alcanzan el espacio periplásmico y deben atravesar la membrana interna, cuya permeabilidad está asociada a la fuerza protón-motriz generada por la cadena respiratoria. A diferencia de otros antibióticos como la vancomicina, que no logran penetrar la membrana externa (Stokes et al., 2016), los AG pueden superar ambas barreras mediante mecanismos de transporte específicos e inespecíficos, lo que explica su eficacia frente a bacterias Gram negativas; sin embargo, la mayoría de los estudios sobre este proceso se han realizado en células en fase de crecimiento exponencial. Una vez en el citoplasma, estos antibióticos ejercen su acción al unirse al sitio A de la

subunidad ribosomal 30S, interfiriendo con el ARNr 16S e inhibiendo la síntesis proteica. No obstante, diversas bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia, siendo el más común la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (Lang et al., 2023).

2.4.1.1 Enzimas Modificadoras de Aminoglucósidos

Las enzimas modificadoras de aminoglucósidos inactivan estos antibióticos mediante acetilación (AAC), fosforilación (APH) o adenilación (ANT), al catalizar modificaciones en los grupos −OH o $-NH_2$ del núcleo de 2-desoxiestreptamina o de los residuos azucarados. En función del tipo de reacción que realizan, se clasifican en N-acetiltransferasas (AAC), O-nucleotidiltransferasas (ANT) y O-fosfotransferasas (APH). Cada una de estas familias se subdivide en subtipos según la posición del aminoglucósido modificada por la enzima, indicada mediante un número romano y, en algunos casos, una letra cuando existen varias enzimas que actúan sobre el mismo sitio (Ramírez & Tolmasky, 2010). Los principales sitios de modificación de los aminoglucósidos por las enzimas modificadoras de aminoglucósidos más comunes se ilustran para kanamicina A en la figura 7.

Figura 7 Sitios de modificación química por enzimas modificadoras de aminoglucósidos representativas en kanamicina A



Fuente: tomado de Krause et al (2016).

Los genes que codifican estas enzimas suelen localizarse en plásmidos, transposones e integrones, lo que favorece su transferencia horizontal y su co-selección con otros determinantes de resistencia, como las carbapenemasas (Lang et al., 2023).

Además, la mutagénesis contribuye a la generación continua de nuevas variantes enzimáticas capaces de modificar un número creciente de antibióticos. La diseminación de estos genes puede ocurrir tanto a nivel molecular mediante integrones, casetes génicos, transposones o elementos conjugativos integrativos como a nivel celular, a través de conjugación (plásmidos movilizables o conjugativos), transformación natural o transducción, lo que facilita su propagación entre diferentes especies bacterianas (Tolmasky, 2007).

Respecto a su distribución, se ha observado que en *A. baumannii* predominan principalmente las enzimas APH y ANT, mientras que en *P. aeruginosa* las más frecuentes corresponden a las AAC. En el caso de las Enterobacterales, la presencia de estos mecanismos de resistencia puede variar de acuerdo con la región geográfica y los patrones locales de uso de antibióticos (Adeniyi et al., 2015).

2.4.1.2 Metilación del ARNr 16S (16S-RMTasas)

La metilación del ARNr 16S mediada por metiltransferasas plasmídicas (RmtA–H, ArmA y NpmA) representa una amenaza creciente, ya que confiere resistencia de alto nivel a la mayoría de los aminoglucósidos y, además, suele asociarse con genes de resistencia a β-lactámicos en elementos genéticos móviles, lo que favorece su diseminación (McGann et al., 2016). En este contexto, aunque los aminoglucósidos continúan siendo opciones terapéuticas importantes, su eficacia se ve cada vez más comprometida por la propagación de estos genes en bacterias Gram negativas. Un análisis genómico en el continente americano identificó 4.877 secuencias de metiltransferasas del ARNr 16S, principalmente en *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *E. coli*, con mayor prevalencia en países como Estados Unidos, Brasil, Canadá y México, y un incremento notable en los últimos años. El gen *armA* fue el más frecuente, aunque otros como *rmtB*, *rmtE* y *rmtF* muestran potencial emergente, lo que resalta la necesidad de fortalecer la vigilancia genómica bajo un enfoque One Health, especialmente en regiones con datos limitados (Sellera et al., 2023).

Por su parte, Jouybari et al (2021) reportan que los altos valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de aminoglucósidos observados en aislados que presentan simultáneamente genes de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y la metilasa

ArmA evidencian el papel de estos determinantes en la resistencia a aminoglucósidos en *A. baumannii*. No obstante, la selección del antibiótico basada en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, junto con el uso de terapias combinadas, podría contribuir a mejorar el manejo de las infecciones causadas por este patógeno. En este sentido, resulta fundamental fortalecer los sistemas de vigilancia, con el fin de generar evidencia que respalde estrategias efectivas de prevención, tratamiento y control de las infecciones asociadas a este microorganismo.

La resistencia a los aminoglucósidos mediada por metiltransferasas adquiridas del ARNr 16S (16S-RMTasas) comenzó a describirse a inicios de la década del 2000 y, desde entonces, ha adquirido gran relevancia clínica. Su presencia se ha relacionado estrechamente con la diseminación de carbapenemasas, favoreciendo la aparición de microorganismos extensamente resistentes (XDR) e incluso panresistentes en algunos casos. Aunque los aminoglucósidos no siempre constituyen la primera opción terapéutica en diferentes escenarios clínicos, continúan siendo antibióticos de gran importancia debido a su elevada actividad bactericida, especialmente frente a patógenos resistentes a otras familias antimicrobianas, como los β-lactámicos y las fluoroquinolonas. En este sentido, la propagación de las 16S-RMTasas en bacterias multirresistentes (MDR) representa una preocupación creciente para la práctica clínica y la salud pública, ya que limita aún más las alternativas terapéuticas disponibles para el tratamiento de infecciones graves (Doi et al., 2016).

2.4.2 Resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas

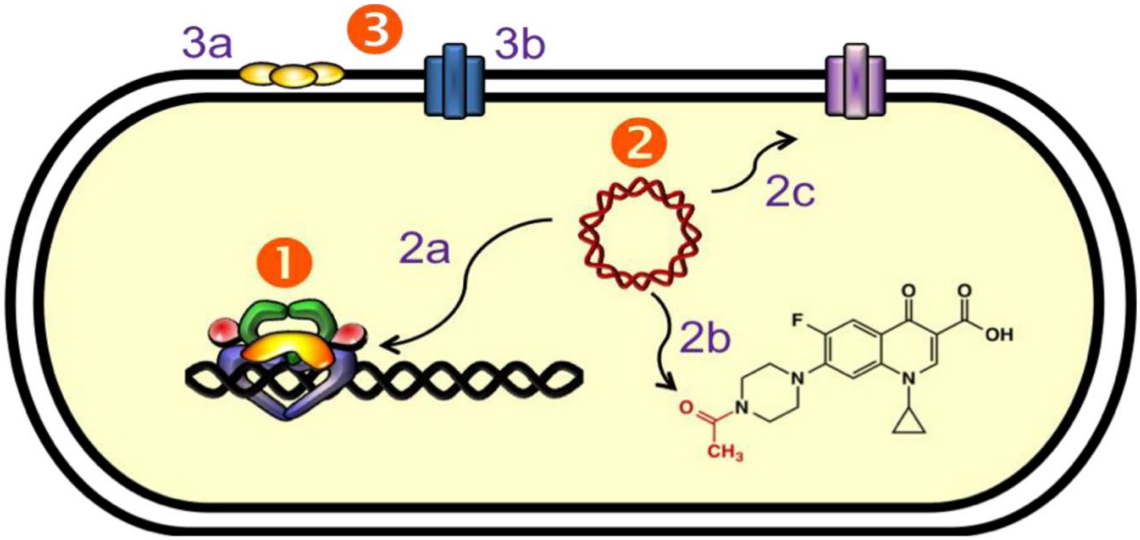
Las quinolonas han evolucionado de ser antimicrobianos de uso limitado, principalmente en infecciones del tracto urinario, a convertirse en una de las clases más prescritas a nivel mundial, utilizadas frente a una amplia variedad de infecciones causadas por bacterias Gram negativas y Gram positivas. Sin embargo, su eficacia se ha visto progresivamente comprometida por el aumento de la resistencia bacteriana, documentada en numerosas especies expuestas a estos fármacos (Aldred et al., 2014).

Estos antibióticos ejercen su acción bactericida mediante la inhibición de las topoisomerasas de tipo II, principalmente la ADN girasa y la topoisomerasa IV, esenciales para la replicación del ADN bacteriano (Drlica et al., 2009). La comprensión de su

mecanismo de acción ha permitido identificar que las alteraciones en estas enzimas, junto con otros factores como cambios en la permeabilidad de la membrana, el aumento de la expulsión activa del fármaco y modificaciones metabólicas, contribuyen al desarrollo de resistencia (Guan et al., 2013).

En este contexto, la resistencia a las quinolonas puede explicarse por tres mecanismos principales que suelen coexistir: (1) la modificación de la diana, mediada por mutaciones en la ADN girasa y la topoisomerasa IV que disminuyen la afinidad del antibiótico; (2) la resistencia mediada por plásmidos, que incluye proteínas Qnr, la enzima Aac(6′)-Ib-cr y bombas de eflujo plasmídicas que reducen la acción del fármaco; y (3) mecanismos cromosómicos, como la disminución de porinas en bacterias Gram negativas y la sobreexpresión de bombas de eflujo, que limitan la entrada y favorecen la expulsión del antibiótico (Kim et al., 2009).

Figura 8 Mecanismos de resistencia a las quinolonas.



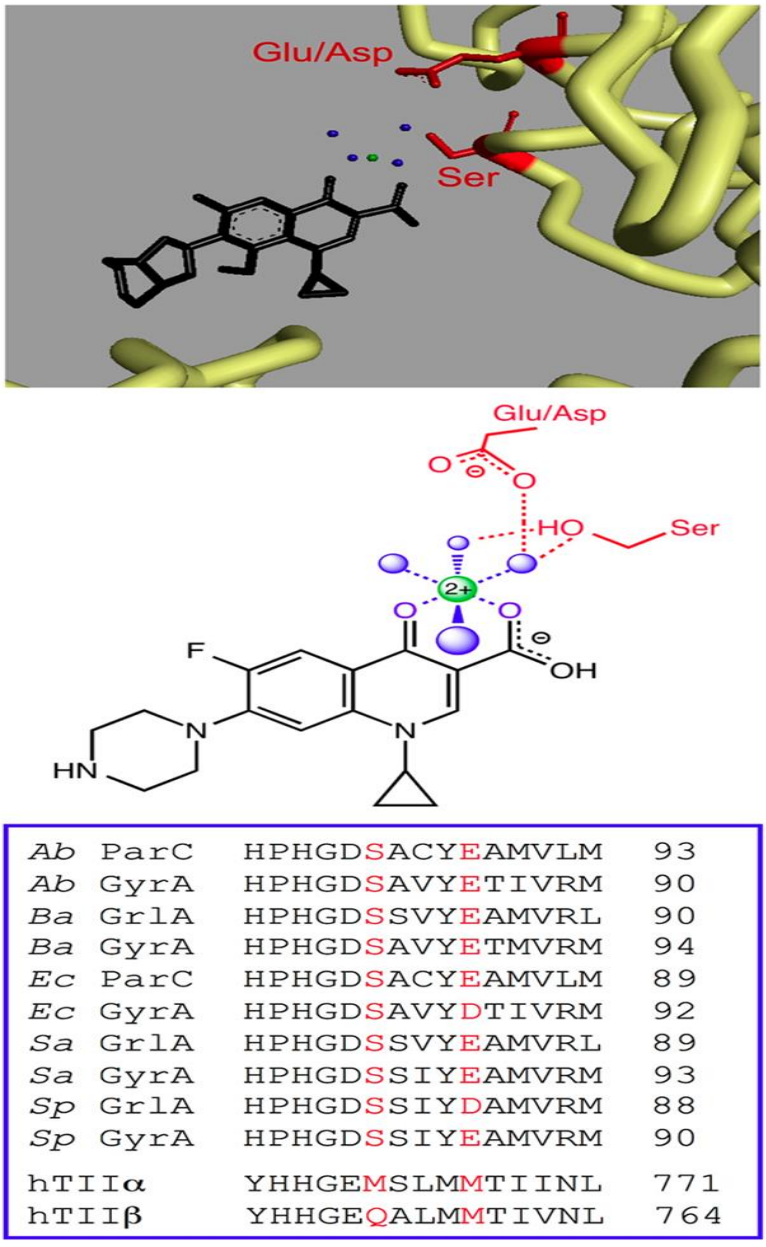
Fuente: Tomado de Aldred et al (2014).

2.4.2.1 Modificación de la diana

La resistencia a las quinolonas constituye un problema clínico creciente que compromete la eficacia de estos antimicrobianos. Este fenómeno puede explicarse por tres mecanismos principales, que no son excluyentes y pueden acumularse, generando altos niveles de resistencia (Aldred et al., 2014). El mecanismo más frecuente es la resistencia mediada por la modificación de la diana, asociada a mutaciones puntuales en

los genes que codifican la ADN girasa y la topoisomerasa IV (Hooper, 1999). Estas mutaciones, comúnmente localizadas en *gyrA* y *parC*, afectan residuos clave como serina y ácido glutámico o aspártico, alterando el sitio de unión del antibiótico mediante la modificación del puente agua–ión metálico (Hooper, 1999; Morgan-Linnell et al., 2009). Mientras que una mutación en una sola enzima suele conferir bajos niveles de resistencia (≤10 veces), la acumulación de mutaciones en ambas puede incrementarla significativamente, alcanzando niveles de 10 a 100 veces. Las mutaciones más frecuentes, responsables de más del 90% de los casos en aislados clínicos y de laboratorio, se localizan en residuos de serina y, con menor frecuencia, en residuos ácidos. Estos aminoácidos son esenciales para anclar el puente agua ión metálico que facilita la unión del fármaco; su modificación interrumpe este puente e impide la acción de la quinolona (Figura 9) (Morgan-Linnell et al., 2009).

Figura 9 Mecanismo de unión quinolona-topoisomerasa mediante puente de agua-ión metálico. Un ión Mg^{2+} une la quinolona a la topoisomerasa mediante un puente de agua con serina y ácido. Mutaciones en serina causan resistencia clínica.



Ab ParC	HPHGDSACYEAMVLM	93
Ab GyrA	HPHGDSAVYETIVRM	90
Ba GrlA	HPHGDSSVYEAMVRL	90
Ba GyrA	HPHGDSAVYETMVRM	94
Ec ParC	HPHGDSACYEAMVLM	89
Ec GyrA	HPHGDSAVYDTIVRM	92
Sa GrlA	HPHGDSSVYEAMVRL	89
Sa GyrA	HPHGDSSIYEAMVRM	93
Sp GrlA	HPHGDSSIYDAMVRM	88
Sp GyrA	HPHGDSSIYEAMVRM	90
hTIIα	YHHGEMSLMMTIINL	771
hTIIβ	YHHGEQALMMTIVNL	764

Fuente: Tomado de Aldred et al. (2014)

2.4.2.2 Resistencia mediada por plásmidos (PMQR)

La resistencia a quinolonas mediada por plásmidos constituye un problema clínico emergente que generalmente confiere niveles bajos de resistencia (≤10 veces), aunque en algunos casos puede alcanzar incrementos de hasta ~250 veces en la concentración inhibitoria. A diferencia de la resistencia mediada por mutaciones en las dianas enzimáticas, que se transmite verticalmente, este tipo de resistencia puede diseminarse tanto vertical como horizontalmente mediante conjugación bacteriana. Además, los plásmidos que portan estos determinantes con frecuencia contienen genes adicionales que confieren resistencia a otros antimicrobianos (Aldred et al., 2014).

Se han descrito tres familias principales de genes implicados en la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos. La primera corresponde a los genes *qnr*, que codifican proteínas de repetición de pentapéptidos (~200 aminoácidos), con cerca de 100 variantes agrupadas en al menos cinco subfamilias (Rodriguez-Martinez et al., 2011). Estas proteínas actúan como miméticos del ADN, interfiriendo con la unión de la ADN girasa y la topoisomerasa IV al ADN y protegiendo a estas enzimas de la acción de las quinolonas (Tran et al., 2005).

La segunda categoría está representada por *aac(6')-Ib-cr*, una variante de acetiltransferasa de aminoglucósidos que, debido a mutaciones específicas (W102R y D179Y), posee la capacidad de modificar fluoroquinolonas como ciprofloxacino y norfloxacino mediante un proceso de acetilación, disminuyendo así su actividad antibacteriana (Guillard et al., 2013).

La importancia clínica de estos mecanismos ha sido demostrada en distintos estudios epidemiológicos. Sah y Feglo (2022), por ejemplo, reportaron una elevada prevalencia de genes PMQR en patógenos Gram negativos, con predominio de *aac(6')-Ib-cr* (89,6 %), *qnrS* (56,3 %) y *oqxA* (47,9 %). Estos resultados evidencian la capacidad de estos determinantes para diseminarse horizontalmente y favorecer la expansión de cepas resistentes. De forma similar, Aref et al. (2025) describieron altos niveles de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas en *E. coli* uropatógena en Irán, asociados principalmente con la presencia de *qnrS* y *qnrB*, genes que mostraron una relación significativa con la resistencia a múltiples antibióticos. En conjunto, estos hallazgos

ponen en evidencia la amplia circulación de determinantes plasmídicos de resistencia y resaltan la necesidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica, fomentar el uso racional de antimicrobianos y reforzar las medidas de control de infecciones.

Finalmente, un tercer mecanismo de resistencia corresponde a las bombas de eflujo codificadas en plásmidos, como OqxAB, QepA1 y QepA2 (Yamane et al., 2007; Strahilevitz et al.,2009) que disminuyen la concentración intracelular del antibiótico al expulsarlo fuera de la célula. QepA se ha descrito principalmente en aislamientos de origen humano, mientras que OqxAB se asocia con mayor frecuencia a infecciones de origen animal (Kim et al., 2009).

2.4.2.3 Mecanismos cromosómicos de resistencia: alteración de la permeabilidad por pérdida de porinas y sobreexpresión de bombas de eflujo

Mecanismos cromosómicos adicionales incluyen la disminución de la expresión o alteración de porinas, que limita la entrada del fármaco al interior bacteriano, y la sobreexpresión de bombas de eflujo que expulsan activamente las quinolonas fuera de la célula, reduciendo su concentración intracelular (Kherroubi et al., 2024;). La combinación de estas estrategias puede aumentar significativamente los niveles mínimos inhibitorios (MIC) y contribuir a una resistencia más robusta. También se ha observado que mecanismos plasmídicos pueden coexistir con los cromosómicos, aunque en algunos estudios predominan las mutaciones cromosómicas (Amel et al., 2024). Finalmente, factores ambientales como el pH pueden influir en la actividad antimicrobiana y en la eficacia relativa de diferentes fluoroquinolonas frente a cepas resistentes (Alexandre et al., 2025).

2.4.3 Resistencia a Polimixinas (Colistina)

Las polimixinas constituyen una opción terapéutica de última línea frente a infecciones por bacterias Gram negativas multirresistentes, aunque su uso creciente ha impulsado la aparición de cepas resistentes. El mecanismo de acción de las polimixinas frente a estas bacterias ha sido ampliamente estudiado debido a su importancia terapéutica y a la creciente aparición de resistencia. Aunque aún no se conocen completamente todos

los detalles de su actividad antibacteriana, se sabe que su efecto depende de la interacción inicial con la membrana externa bacteriana (Moubareck, 2020).

Las polimixinas, péptidos catiónicos anfipáticos de aproximadamente 1000 Da, se unen al lipopolisacárido (LPS) y a los fosfolípidos de la membrana externa, desplazando cationes divalentes como Mg^{2+} y Ca^{2+} de los grupos fosfato del lípido A, lo que desestabiliza la membrana, provoca la fuga del contenido intracelular y conduce a la muerte celular (Yu et al., 2015). Este proceso de auto-promoción de captación es facilitado por la naturaleza catiónica del antibiótico, que compite con los iones divalentes por los sitios de unión en el LPS (Zavascki et al., 2007). La eficacia de este proceso se relaciona con la estructura particular de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, que rodea una delgada capa de peptidoglicano y actúa como una barrera selectiva de permeabilidad frente a moléculas tóxicas, incluidos detergentes y antibióticos (Delcour, 2009). Esta membrana presenta una organización asimétrica compuesta por fosfolípidos, LPS, proteínas y lipoproteínas, donde la bicapa fosfolipídica se localiza en la cara interna y el LPS en la externa, junto con proteínas y lipoproteínas ancladas (Whitfield & Trent, 2014).

Además del efecto directo sobre la integridad de la membrana, estudios recientes han demostrado que las polimixinas pueden inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que contribuyen al daño oxidativo del ADN, lípidos y proteínas, amplificando su efecto bactericida (Yu et al., 2015). Este mecanismo secundario refuerza la actividad letal del antibiótico, especialmente en concentraciones cercanas a la concentración mínima inhibitoria (Andrade et al., 2020).

El principal mecanismo de resistencia implica modificaciones del lipopolisacárido (LPS), especialmente del lípido A, mediante la adición de grupos con carga positiva como 4-amino-L-arabinosa, fosfoetanolamina o galactosamina, lo que reduce la carga negativa de la superficie bacteriana y disminuye la unión del antibiótico. Si bien estas modificaciones suelen estar codificadas en el cromosoma bacteriano, la identificación de genes plasmídicos mcr (mcr-1 a mcr-8), que codifican transferasas de fosfoetanolamina, ha generado alarma por su potencial de diseminación rápida (Olaitan et al., 2014). A esto se suman formas de resistencia intrínseca en especies como *Neisseria meningitidis*, *P. mirabilis* y *Burkholderia* spp., así como la alta resistencia adquirida en *A.*

baumannii por mutaciones en los genes lpxA, lpxC o lpxD que alteran la síntesis del lípido A. Otros mecanismos, aunque de menor impacto, incluyen sobreproducción de polisacáridos capsulares, bombas de eflujo y alteraciones en proteínas de la membrana externa (Moffatt et al., 2010).

En *A. baumannii*, la resistencia a colistina puede deberse a la pérdida completa del lipopolisacárido (LPS) por mutaciones en los genes *lpxA*, *lpxC* o *lpxD*, un mecanismo antes considerado inviable en bacterias Gram negativas (Moffatt et al., 2010). Este fenómeno ejemplifica la creciente amenaza que supone la resistencia de esta bacteria en el ámbito clínico, donde la colistina, utilizada como último recurso frente a cepas multirresistentes, muestra una eficacia cada vez más limitada. Ante esta situación, se han propuesto diversas alternativas terapéuticas como combinaciones de antibióticos, adyuvantes, péptidos antimicrobianos, nanotecnología, terapia fotodinámica, sistemas CRISPR/Cas y bacteriófagos que, pese a sus resultados prometedores en estudios experimentales, requieren aún ensayos clínicos que confirmen su eficacia y viabilidad (Islam et al., 2024).

2.4.3.1 Resistencia cromosómica

Frente a la exposición a péptidos antimicrobianos catiónicos, como la polimixina B y la colistina, las bacterias Gram negativas desarrollan mecanismos de resistencia basados principalmente en la modificación del lipopolisacárido (LPS), especialmente del lípido A, que constituye la principal diana de estos antibióticos (Moffatt et al., 2010). Entre las modificaciones más importantes se encuentran la adición de fosfoetanolamina (PEtN) y 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (L-Ara4N), además de procesos de desacilación e hidroxilación. La sustitución de grupos fosfato por L-Ara4N representa el mecanismo más frecuente y eficaz, ya que neutraliza la carga negativa del lípido A, disminuyendo la unión de las polimixinas a la membrana bacteriana (Ernst et al., 2001; Raetz et al., 2007).

Estas modificaciones del LPS están reguladas por sistemas de dos componentes (TCS) como PhoP/PhoQ y PmrA/PmrB. La activación de estos sistemas ya sea por estímulos ambientales o por mutaciones que provocan su expresión constitutiva induce la sobreexpresión de los operones encargados de modificar el LPS, como *arnBCADTEF* (para L-Ara4N) y *pmrCAB* (para PEtN) (Trent et al., 2001; Abraham

& Kwon, 2009). En patógenos como *E. coli* y *K. pneumoniae*, la resistencia cromosómica a colistina está regulada principalmente por estos TCS (Wang et al., 2024). El sistema PhoPQ detecta señales ambientales y regula genes implicados en la modificación de la envoltura bacteriana, influyendo en la resistencia a colistina a través de su interacción con PmrAB y proteínas conectoras como PmrD (Mao et al., 2025).

Las mutaciones en los sistemas reguladores representan uno de los mecanismos más importantes involucrados en el desarrollo de resistencia bacteriana. En particular, las alteraciones en *pmrB* modifican el funcionamiento del sistema PmrAB, favoreciendo el incremento en la expresión de genes relacionados con la resistencia, como *pmrA* y *pmrK* (Wang et al., 2024).

De igual manera, las mutaciones presentes en estos sistemas de dos componentes (TCS) o en sus reguladores, como *mgrB*, pueden generar una activación constitutiva de las vías de resistencia. En *K. pneumoniae*, la sobreexpresión de *pmrA*, *pmrB*, *phoP*, *phoQ* y otros genes asociados ha sido relacionada con la resistencia a colistina, frecuentemente acompañada de mecanismos adicionales de resistencia a otros antibióticos (Mirshekar et al., 2024).

Además, la interacción entre distintos sistemas reguladores, incluidos QseBC y PmrAB, participa en la modulación de procesos como la motilidad bacteriana y la resistencia antimicrobiana. En este sentido, los reguladores de respuesta fosforilados pueden activar o reprimir genes implicados en la resistencia.

En conjunto, estos resultados muestran la existencia de una compleja red regulatoria en la que las mutaciones y los cambios en la expresión génica de los sistemas PhoP/PhoQ y PmrA/PmrB coordinan la resistencia cromosómica a colistina en Enterobacterales (Ouyang et al., 2024; Wang et al., 2024).

2.3.3. 2 Resistencia plasmídica: genes *mcr* (*mobile colistin resistance*)

Hasta 2015, la resistencia a las polimixinas se atribuía principalmente a mutaciones cromosómicas; sin embargo, posteriormente se demostró que también puede originarse por genes transferibles mediados por plásmidos, conocidos como genes de resistencia movilizada a colistina (*mcr*) (Anyanwu et al., 2020). El primer gen identificado, mcr-1, fue descrito en 2015 en *E. coli* de origen animal, humano y ambiental en China, durante un programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana (Liu et al.,

2016). Al localizarse en plásmidos conjugativos, este gen se propagó rápidamente entre diversas bacterias Gram negativas y en múltiples regiones del mundo en menos de un año desde su descubrimiento (Schwarz, & Johnson, 2016).

El gen *mcr-1* codifica una transferasa de fosfoetanolamina (pEtN) encargada de modificar el lípido A presente en el lipopolisacárido bacteriano mediante la incorporación de este grupo químico. Esta modificación reduce la carga negativa de la membrana externa y favorece un mayor empaquetamiento de los lípidos de la envoltura celular (Gao et al., 2016).

Como consecuencia, las polimixinas presentan menor capacidad de unión y penetración en la membrana bacteriana, debido al fortalecimiento de las interacciones entre las moléculas de lipopolisacárido. Este proceso disminuye el daño sobre la membrana externa y contribuye al desarrollo de resistencia frente a este grupo de antibióticos (Khondker et al., 2019).

Posteriormente se identificaron otras variantes, desde mcr-1 hasta mcr-9, en diferentes bacterias Gram negativas reportadas en todos los continentes (Stefaniuk & Tyski, 2019), y en 2020 se describió el gen mcr-10 en un plásmido de una cepa clínica de *Enterobacter roggenkampii* (tabla 3) (Wang et al., 2020). Este mecanismo de resistencia móvil compromete la eficacia terapéutica de las polimixinas, consideradas antibióticos de último recurso, y ha favorecido su diseminación a escala global entre humanos, animales, el ambiente y la cadena alimentaria (Shen et al.,2020).

Los estudios más recientes confirman que los genes *mcr* representan una amenaza significativa para la eficacia de la colistina, encontrándose ampliamente diseminados en diversos tipos de plásmidos y especies bacterianas a nivel global, incluyendoEnterobacterales como *Enterobacter*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *Salmonella enterica*, con frecuencia co-ocurriendo con otros genes de resistencia antimicrobiana (Anyanwu et al., 2023). El gen mcr-9, por ejemplo, se originó en la década de 1960 y se ha diseminado globalmente con una marcada preferencia por especies de *Enterobacter*; frecuentemente se asocia con resistencia a colistina de bajo nivel, pero puede evolucionar hacia resistencia de alto nivel en el ámbito clínico (Song et al., 2024).

En los sectores avícolas de países de ingresos bajos y medios, el uso inadecuado y poco regulado de colistina ha favorecido la propagación de genes de resistencia, principalmente mediante transferencia horizontal a través de plásmidos conjugativos asociados con secuencias de inserción y transposones (Anyanwu et al., 2023). Frente a esta problemática, se han desarrollado diferentes herramientas diagnósticas, entre ellas ensayos de PCR en tiempo real con sonda TaqMan multiplex, que permiten identificar de manera rápida las variantes conocidas del gen *mcr* en aislados clínicos y fortalecen las estrategias de vigilancia epidemiológica (Kigen et al., 2024).

Ante el incremento de la resistencia a polimixinas, resulta prioritario regular su uso y reforzar las medidas de prevención y control de infecciones. La detección de genes *mcr* tanto en aislados de origen humano como animal evidencia la necesidad de implementar estrategias integrales bajo el enfoque de Una Sola Salud (*One Health*), orientadas a optimizar el uso de antimicrobianos y fortalecer la vigilancia epidemiológica para limitar la diseminación de la resistencia a colistina mediada por plásmidos (Anyanwu et al., 2023).

Aunque en los últimos años se han logrado avances importantes en el conocimiento del mecanismo de acción de las polimixinas y de los procesos de resistencia bacteriana, todavía son necesarios más estudios que permitan comprender con mayor profundidad su interacción con la membrana bacteriana y mejorar su aplicación en la práctica clínica (Moubarek, 2020).

Tabla 3 Variantes identificadas del gen de resistencia movilizada a colistina (mcr), con sus especies bacterianas y el país donde se detectaron por primera vez, así como su homología de secuencia con mcr-1.

Tipo de gen *mcr*	**Especie de primera detección**	**País de primera detección**	**Homología de secuencia con *mcr-1* (%)**	**Información de la cepa**	**Referencia**
mcr-1	*E coli*	China	100	SHP45	Liu et al., 2016
mcr-2	*E. coli*	Bélgica	76.7	CP011374	Xavier et al., 2016
mcr-3	*E. coli*	China	45	WJ1	Yin et al., 2017
mcr-4	*Salmonella enterica* serovar Typhimurium	Italia	34	R3445	Carattoli et al., 2017
mcr-5	*S. enterica* subsp. *enterica*	Alemania	63.89	11-00422	Borowiak et al., 2017

mcr-6	*Moraxella pluranimalium*	Gran Bretaña	62	248-01T (DSM-22804)	AbuOun et al., 2017
mcr-7	*K. pneumoniae*	China	65	SC20141012	Yang et al., 2018
mcr-8	*K. pneumoniae*	China	31.08	KP91	Wang et al., 2018
mcr-9	*Salmonella enterica* subsp. *enterica*	Estados Unidos (Nueva York)	63	GCF_002091095.1	Carroll et al., 2019
mcr-10	*Enterobacter roggenkampii*	China	29.31	090065 (WCHER090065)	Wang et al., 2020

Fuente: Adaptado de Moubareck, C. A. (2020). Polymyxins and bacterial membranes: A review of antibacterial activity and mechanisms of resistance. Membranes, 10(8), 181.

Capítulo III.- Impacto clínico de la resistencia antimicrobiana

3.1. Evolución del uso de antibióticos y emergencia de la resistencia

El descubrimiento de los antibióticos y su incorporación a la práctica clínica representaron uno de los hitos más trascendentales de la medicina del siglo XX, al permitir el tratamiento eficaz de infecciones que hasta entonces resultaban mortales y facilitar el desarrollo de procedimientos médicos y quirúrgicos complejos. Durante décadas, estos fármacos demostraron una eficacia excepcional, reduciendo drásticamente la morbilidad y mortalidad asociadas a enfermedades infecciosas (Munita & Arias, 2016).

No obstante, este avance terapéutico también ha generado una consecuencia preocupante: el uso extendido de antibióticos ha favorecido la aparición y permanencia de la resistencia antimicrobiana (RAM), considerada actualmente uno de los mayores retos para la salud pública mundial. Investigaciones recientes han demostrado que incluso exposiciones cortas a antibióticos como la ciprofloxacina pueden promover el desarrollo de resistencia en la microbiota intestinal humana. Además, las mutaciones asociadas pueden persistir mucho tiempo después de finalizado el tratamiento y, en muchos casos, no representan un costo biológico significativo para las bacterias, lo que facilita su mantenimiento y diseminación (Yaffe et al., 2025).

A mayor escala, el seguimiento a largo plazo en Europa sugiere que las frecuencias de resistencia tienden a estabilizarse en niveles intermedios. Así, Emons et al (2025) analizaron 887 trayectorias de resistencia correspondientes a ocho especies bacterianas de relevancia clínica entre 1998 y 2019, y observaron que, tras un aumento inicial, el 37 % de las trayectorias se mantuvieron estables, el 21 % se estabilizaron tras un periodo de incremento, el 21 % disminuyeron y solo el 20 % continuaron en aumento. El consumo de antibióticos predice tanto el nivel de equilibrio de la resistencia como la velocidad para alcanzarlo, aunque una parte considerable de la variabilidad responde a otros factores no identificados. Los autores concluyen que el aumento continuo de la resistencia no es un desenlace inevitable. A esta complejidad se suma que factores ambientales como la disponibilidad de nutrientes y la dosis del antibiótico moldean las trayectorias evolutivas hacia la resistencia o la persistencia (Windels et al., 2024).

De manera paralela, el uso de antibióticos se ha expandido considerablemente más allá del entorno clínico. Desde la introducción comercial de la penicilina en la década de 1940, estos medicamentos han sido utilizados de forma extensa tanto en medicina humana como veterinaria. En la producción animal, su aplicación no solo ha estado orientada al tratamiento y prevención de enfermedades, sino también al mejoramiento del crecimiento animal, práctica que se mantuvo durante varias décadas, especialmente en países como Estados Unidos (Ma et al., 2021).

Aunque la Unión Europea prohibió el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en 2006 (Castanon, 2007), esta medida no ha sido suficiente para frenar el avance de la resistencia antimicrobiana. De hecho, las estimaciones globales indican que el consumo de antibióticos en bovinos, aves y porcinos podría incrementarse hasta en un 67 % entre 2010 y 2030 (Tiseo et al., 2020). Este panorama pone en evidencia la necesidad urgente de fortalecer estrategias integrales que permitan preservar la eficacia de estos fármacos esenciales.

Sin embargo, aunque el uso intensivo de antibióticos ejerce una fuerte presión selectiva que favorece la propagación de la resistencia, el origen de este fenómeno no depende exclusivamente de la actividad humana. Diversos estudios realizados en ecosistemas remotos y ambientes poco alterados han demostrado que los genes de resistencia poseen un origen evolutivo ancestral. Agudo y Reche (2024) señalan que muchos de estos genes antiguos presentan funciones similares a las observadas en la actualidad, lo que sugiere que las sustancias antimicrobianas naturales han impulsado, durante miles de años, la evolución y el intercambio de mecanismos de resistencia mediante transferencia horizontal de genes. Comprender estos procesos ancestrales resulta, por tanto, fundamental no solo para predecir la evolución futura de la resistencia bacteriana, sino también para orientar el desarrollo de nuevos antibióticos y estrategias de manejo más efectivas.

La RAM es el resultado de una compleja interacción entre factores microbiológicos, ambientales y humanos. Entre los determinantes ambientales destacan la alta densidad poblacional, el hacinamiento, los viajes masivos, las deficiencias en saneamiento, el control ineficaz de infecciones y el uso intensivo de antimicrobianos en producción animal (Ferraz, 2024). Sin embargo, estos factores se manifiestan de manera

desigual según el nivel de desarrollo de los países. En naciones en vías de desarrollo predominan problemas estructurales como la regulación deficiente, la vigilancia insuficiente, el uso clínico inadecuado y los controles de calidad precarios de los medicamentos (Sifri et al., 2019). A ellos se suman factores relacionados con los fármacos circulación de productos falsificados y venta sin prescripción, factores vinculados a los pacientes bajo cumplimiento terapéutico, pobreza, falta de educación, automedicación y factores asociados a los profesionales de la salud prescripción inapropiada, dosificación incorrecta y deficiencias formativas (Abushaheen et al., 2020).

El uso excesivo e inadecuado de antibióticos, sumado a la estrecha relación entre la salud humana, la sanidad animal y la producción pecuaria, ha favorecido la aparición y propagación de microorganismos resistentes (Cella et al., 2023). Esta problemática ha incrementado de manera importante la circulación de bacterias multirresistentes, convirtiéndose en una de las principales amenazas para la salud pública a nivel mundial.

Las repercusiones clínicas de este fenómeno son significativas. Los pacientes afectados por infecciones causadas por patógenos multirresistentes presentan mayores tasas de mortalidad y complicaciones durante su evolución clínica. Diversos estudios realizados en unidades de cuidados intensivos han evidenciado un aumento considerable del riesgo de muerte asociado a infecciones producidas por *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa* y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA). Este incremento se relaciona principalmente con el fracaso de la terapia antibiótica inicial y con la frecuente presencia de enfermedades comórbidas graves en estos pacientes (Niederman, 2019).

3.2. Determinantes y factores impulsores de la resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antibióticos es el resultado de la interacción de múltiples factores, entre los que destacan el uso excesivo e inadecuado de antibióticos en humanos, animales y agricultura, la contaminación ambiental y diversas condiciones socioeconómicas. Estos determinantes se expresan de forma heterogénea según el contexto geográfico. En los países de ingresos bajos y medios, la alta densidad poblacional, las deficiencias en la infraestructura sanitaria y la inadecuada gestión de residuos favorecen la propagación de bacterias resistentes. En los países de ingresos altos,

aunque el consumo de antibióticos se ha estabilizado, la transmisión ambiental continúa siendo un factor relevante (Vikesland et al., 2019).

En conjunto, los principales impulsores de la RAM pueden agruparse en seis ejes: uso indebido de antibióticos; prescripción inapropiada; escasez de nuevos antimicrobianos; uso de antibióticos en la producción animal; movilidad poblacional; y debilidades en los sistemas de salud y en los marcos regulatorios (Ferraz, 2024; Zhang et al., 2024a).

- **Uso indebido de antibióticos**

El uso excesivo e inadecuado de antibióticos tanto en humanos como en animales se ha convertido en uno de los principales factores que favorecen la resistencia antimicrobiana, debido a que facilita la selección y propagación de bacterias resistentes a nivel mundial (Chaw et al., 2018). A pesar de las estrategias implementadas en los últimos años, esta práctica continúa siendo frecuente, especialmente en los servicios de atención primaria y hospitalaria, donde el uso inapropiado de antibióticos puede alcanzar cifras muy elevadas en determinados contextos.

Además, infecciones comunes como la bronquitis, la sinusitis y la otitis media suelen tratarse de manera inadecuada, lo que incrementa el riesgo de fracaso terapéutico y favorece la aparición de resistencia bacteriana (Schwartz et al., 2020). A esto se suman otros factores que dificultan el control del problema, entre ellos la baja percepción de la resistencia antimicrobiana como una amenaza cercana, la automedicación, el desconocimiento sobre el uso correcto de antibióticos, la venta sin prescripción médica y la circulación de medicamentos de baja calidad, situaciones particularmente frecuentes en países en desarrollo (Robles-Jimenez et al., 2024; Ferraz, 2024). Frente a este panorama, resulta prioritario fortalecer el uso racional de antibióticos mediante la aplicación de guías terapéuticas estandarizadas, el apoyo continuo del laboratorio microbiológico y la implementación de programas de optimización de antimicrobianos (stewardship), orientados a mejorar las decisiones terapéuticas y reducir la propagación de la resistencia bacteriana (Chaw et al., 2018).

- **Prácticas de prescripción inapropiadas**

Las prácticas inadecuadas en la prescripción de antibióticos, como el uso sin indicación clínica, la selección incorrecta del fármaco o la administración de dosis y tiempos de tratamiento no apropiados, representan uno de los principales factores asociados con el desarrollo de la resistencia antimicrobiana (Netea et al., 2024). Se estima que cerca de la mitad de los pacientes hospitalizados reciben al menos un antibiótico innecesario, mientras que aproximadamente un tercio es tratado sin contar con pruebas diagnósticas adecuadas o durante periodos más prolongados de lo recomendado (Woolhouse et al., 2016). Esta situación resulta aún más preocupante en los centros de atención a largo plazo, donde entre el 25 % y el 75 % de las prescripciones pueden considerarse inapropiadas (Laur et al., 2021).

A esta problemática se sumó el impacto de la pandemia por COVID-19, periodo durante el cual se incrementó considerablemente la prescripción de antibióticos. Como consecuencia, se favoreció la expansión de microorganismos resistentes y aumentó el riesgo de diseminación de la resistencia antimicrobiana, particularmente en bacterias prioritarias definidas por la Organización Mundial de la Salud (Kariyawasam et al., 2022).

- **Escasez de antibióticos de nueva generación**

La limitada disponibilidad de nuevos antimicrobianos representa un desafío importante para el tratamiento de infecciones resistentes, incluidas la tuberculosis, las infecciones urinarias, la neumonía y diversas infecciones causadas por bacterias Gram negativas, afectando principalmente a poblaciones vulnerables. Esta situación está relacionada con múltiples factores científicos, económicos e industriales, entre ellos los elevados costos de investigación y desarrollo, los riesgos financieros y las exigencias regulatorias, aspectos que han llevado a muchas compañías farmacéuticas a disminuir o abandonar la investigación en este campo (Dutescu & Hillier, 2021; Ferraz et al., 2024).

Aunque se han identificado nuevas dianas terapéuticas, gran parte de los antibióticos actualmente en desarrollo corresponden a modificaciones de clases ya existentes, más que a compuestos verdaderamente innovadores dirigidos contra blancos

bacterianos no explorados, considerados fundamentales para enfrentar la resistencia antimicrobiana (Butler et al., 2024).

Frente a este escenario, han surgido estrategias prometedoras orientadas a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Entre ellas destacan la exploración de nichos ecológicos poco estudiados para identificar péptidos antimicrobianos novedosos (Torres et al., 2025) y la aplicación de inteligencia artificial en el diseño de antibióticos de novo. En este sentido, modelos de aprendizaje profundo han permitido identificar compuestos con actividad bactericida frente a patógenos multirresistentes y eficacia demostrada in vivo, lo que evidencia el potencial de estas tecnologías para desarrollar fármacos con mecanismos de acción innovadores (Krishnan et al., 2025).

- **Uso de antibióticos en la producción ganadera**

El uso de antibióticos en la agricultura, especialmente en los sectores ganadero y avícola, constituye uno de los factores que más contribuyen al incremento de la RAM, convirtiéndose en una amenaza importante para la salud pública mundial. En estos sistemas de producción, los antibióticos no solo se utilizan para tratar enfermedades, sino también con fines preventivos y como promotores del crecimiento animal, prácticas que aumentan la presión selectiva y favorecen la aparición de bacterias resistentes.

Estas bacterias pueden transmitirse a los seres humanos por diferentes vías, incluyendo el contacto directo con animales, el consumo de alimentos contaminados y la dispersión ambiental, lo que facilita la circulación de microorganismos resistentes entre animales, personas y ecosistemas (Katz & Banerjee, 2024).

Las estimaciones actuales sugieren que, si no se implementan medidas coordinadas para regular el uso de antibióticos y controlar el crecimiento de la producción pecuaria, el consumo global de estos fármacos en el sector ganadero podría aumentar considerablemente hacia el año 2040 (Acosta et al., 2025).

Frente a este escenario, la reducción de la resistencia microbiana requiere estrategias integrales que incluyan políticas de control más estrictas, educación dirigida a los productores, promoción de alternativas al uso de antibióticos y la aplicación del enfoque Una Salud (*One Health*), el cual reconoce la estrecha relación entre la salud humana, animal y ambiental (Matheou et al., 2025).

- **Movilidad**

La movilidad humana constituye un factor clave en la diseminación global de bacterias resistentes, al facilitar tanto su propagación internacional como el intercambio de genes de resistencia entre humanos, animales y el ambiente dentro del enfoque One Health. Evidencia reciente ha demostrado que bacterias portadoras de múltiples genes de resistencia y elementos genéticos móviles pueden transferirse horizontalmente entre estos reservorios, como se ha observado en mercados húmedos, donde se identifican rutas directas de transmisión entre humanos, aves y el entorno (Yang et al., 2025).

En la actualidad, el desarrollo de los sistemas modernos de transporte y el incremento de actividades como el turismo, los viajes de negocios, la migración y el turismo médico han facilitado la diseminación de bacterias resistentes entre diferentes regiones del mundo. Esta situación es particularmente relevante en espacios con alta concentración de personas, como aeropuertos y sistemas de transporte masivo, donde el intercambio de microorganismos ocurre con mayor facilidad (Sridhar et al., 2021).

Una vez que estas bacterias ingresan a nuevos entornos, pueden establecerse y propagarse a través de distintas vías, entre ellas el contacto directo entre personas, el consumo de alimentos o agua contaminados, los ambientes hospitalarios y el medio ambiente. Además, factores como las deficiencias en saneamiento, las fallas en las medidas de control de infecciones y el uso inadecuado de antibióticos favorecen aún más su selección y expansión (Arcilla et al., 2017).

A esto se suma que muchos viajeros pueden convertirse en portadores asintomáticos de bacterias resistentes adquiridas en regiones de alta prevalencia. Estas bacterias pueden permanecer en el organismo durante varios meses, incluso hasta un año, aumentando el riesgo de transmisión, especialmente en poblaciones vulnerables. Por esta razón, la creciente interconexión global hace indispensable fortalecer estrategias internacionales de vigilancia, mejorar las medidas de control de infecciones, promover el uso racional de antibióticos y desarrollar programas de educación y concienciación dirigidos a la población (McCubbin et al., 2021).

- **Falta de conocimiento**

El conocimiento sobre el uso adecuado de antibióticos y sobre los mecanismos asociados a la resistencia antimicrobiana sigue siendo limitado tanto en la población general como entre los profesionales de la salud, lo que dificulta el control de este

problema. En Kosovo, por ejemplo, aunque la mayoría de las personas había escuchado sobre la resistencia a los antibióticos, solo una pequeña proporción comprendía adecuadamente conceptos fundamentales, manteniéndose ideas erróneas, como creer que la resistencia ocurre en el cuerpo humano y no en las bacterias (Pasha et al., 2025).

En el ámbito clínico también persisten limitaciones importantes. Estudios recientes muestran que solo una parte de los médicos generales reconoce la resistencia antimicrobiana como un problema local relevante, mientras que muchos presentan dificultades para seleccionar tratamientos adecuados debido a la falta de información actualizada y a limitaciones en la disponibilidad de antibióticos (Maksane et al., 2025).

En atención primaria, la educación de los pacientes suele verse afectada por múltiples factores, entre ellos el tiempo limitado durante la consulta, la falta de recursos, la escasa confianza y determinadas dinámicas de comunicación entre profesionales y pacientes, lo que reduce la efectividad de las intervenciones educativas (Balea et al., 2025).

De igual manera, en países de ingresos bajos y medianos se han identificado conocimientos inconsistentes y prácticas inadecuadas tanto en pacientes como en dispensadores de medicamentos. Esta situación evidencia la necesidad de implementar programas educativos estandarizados, como los basados en la clasificación Access, Watch y Reserve (AWaRe), con el objetivo de fomentar el uso racional de antibióticos y contribuir a la reducción de la resistencia antimicrobiana (Saleem et al., 2025).

3.3 Impacto de la resistencia antimicrobiana en el contexto de la pandemia de COVID-19 y su relación con el enfoque de Una Salud (One Health)

La pandemia de COVID-19 ha influido significativamente en la RAM, principalmente por el incremento en el uso de antibióticos y biocidas en humanos, así como por cambios en las prácticas veterinarias y ambientales. No obstante, el impacto en animales y el medio ambiente aún requiere mayor investigación desde el enfoque de Una Salud (Rhouma et al., 2021). Asimismo, la pandemia exacerbó esta problemática al desviar recursos de los programas de uso racional de antimicrobianos y favorecer el uso

preventivo e incluso inadecuado de antibióticos en pacientes con COVID-19, lo que podría acelerar la aparición de resistencias (Pelfrene et al., 2021).

Sin embargo, también se han observado efectos mitigadores a corto plazo, como la disminución del uso ambulatorio de antibióticos en países de altos ingresos y un aumento en la conciencia pública sobre la higiene y el control de infecciones (Seneghini et al., 2022). En este contexto, el enfoque de Una Salud resulta fundamental, ya que integra la salud humana, animal y ambiental, promoviendo la colaboración multisectorial para abordar riesgos complejos, fortalecer la vigilancia y mejorar las políticas globales (Cameron et al., 2022).

Además, la pandemia evidenció la necesidad de incorporar de manera más activa el sector ambiental y las ciencias sociales en estrategias integradas contra la RAM, así como de fortalecer los sistemas de salud y la comunicación efectiva (Cameron et al., 2022). En este sentido, "combatir la resistencia antimicrobiana requiere un enfoque 'One Health' sostenido, integral y colaborativo que trascienda las fronteras geográficas y sectoriales" (Linardon, 2025, p. 307, traducción propia).

La pandemia de COVID-19 produjo cambios importantes en los patrones de uso de antibióticos a nivel mundial. La reorganización de los servicios de salud, junto con las limitaciones diagnósticas durante los primeros meses de la emergencia sanitaria, afectó temporalmente los programas de optimización de antimicrobianos. Aunque inicialmente se registró una disminución en la comercialización de estos medicamentos, su consumo volvió a incrementarse progresivamente a medida que aumentaban los casos de COVID-19, situación que contribuyó al fortalecimiento de la resistencia antimicrobiana. Como resultado, entre 2019 y 2020 se observó un incremento aproximado del 15 % en la resistencia bacteriana, asociado a un elevado número de muertes, principalmente relacionadas con infecciones intrahospitalarias (Nandi et al., 2023).

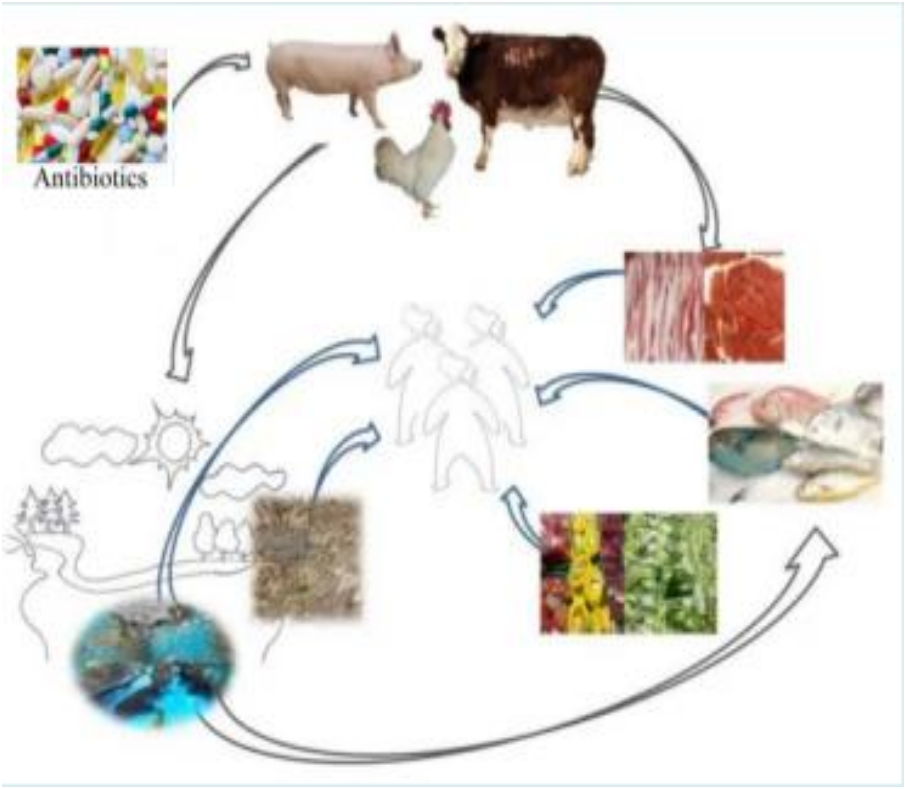
De manera paralela, diversos estudios han evidenciado un aumento significativo de bacterias Gram negativas multirresistentes, incluyendo cepas resistentes a carbapenémicos de *Klebsiella*, *Acinetobacter* y *Enterobacter*. Estos hallazgos reflejan el impacto que tuvo la pandemia en la selección y propagación de microorganismos resistentes (Golli et al., 2025).

Actualmente, la resistencia antimicrobiana se considera una amenaza silenciosa para la salud pública mundial, agravada por el incremento en la prescripción de antibióticos, la sobrecarga de los sistemas sanitarios y las dificultades en la vigilancia epidemiológica y en las medidas de prevención de infecciones. Todos estos factores podrían comprometer los avances alcanzados en el control de este problema durante las últimas décadas (Livermore, 2021).

En consecuencia, el uso generalizado de antibióticos tanto en humanos como en animales ha acelerado la diseminación global de microorganismos multirresistentes, considerados hoy uno de los desafíos más críticos para la salud mundial. De mantenerse esta tendencia, se estima que la resistencia antimicrobiana podría causar hasta 10 millones de muertes anuales para el año 2050 (Pulingam et al., 2020).

Estas infecciones incrementan la mortalidad, los costos sanitarios y el riesgo en poblaciones vulnerables, además de propagarse desde entornos hospitalarios hacia la comunidad. Paralelamente, los residuos de antibióticos contaminan el ambiente a través de aguas residuales y desechos, facilitando la dispersión de bacterias resistentes en el suelo, el agua y la cadena alimentaria. Este proceso perpetúa un ciclo de transmisión entre humanos, animales y el entorno, en concordancia con el enfoque de Una Salud (figura 10) (Jain et al., 2024).

Figura 10 Ciclo de diseminación de la resistencia antimicrobiana entre humanos, animales, alimentos y ambiente.



Fuente: Tomado de Jain et al., 2024.

3.4 Implicaciones clínicas de la RAM

La aparición y expansión de microorganismos resistentes representa uno de los principales desafíos para la práctica clínica actual, debido a que reduce las opciones terapéuticas disponibles y dificulta el tratamiento eficaz de las infecciones. Como consecuencia, se incrementan la morbilidad, la mortalidad, la duración de la hospitalización y los costos asociados a la atención sanitaria. Patógenos como *P. aeruginosa* y *E. coli* poseen diversos mecanismos que favorecen su persistencia y resistencia, entre ellos la formación de biopelículas, la producción de enzimas capaces de inactivar antibióticos, las modificaciones en los sitios diana y la transferencia horizontal de genes, procesos que disminuyen la eficacia de los antimicrobianos y favorecen infecciones persistentes (Elfadadny et al., 2024; Fatokun et al., 2024).

A esto se suma el incremento de cepas multirresistentes, incluidas aquellas resistentes a antibióticos de última línea como los carbapenémicos y la colistina, situación que compromete seriamente la eficacia de la medicina moderna y aumenta el riesgo de

fracaso terapéutico a nivel mundial (Nazir et al., 2025). Además, la resistencia antimicrobiana no afecta únicamente a la salud humana, sino que también tiene repercusiones en la producción animal y en el medio ambiente, lo que evidencia la necesidad de adoptar un enfoque integral de Una Salud (*One Health*), basado en la interacción entre la salud humana, animal y ambiental (Bava et al., 2024).

Aunque actualmente existen alternativas terapéuticas innovadoras con resultados prometedores, muchas de ellas todavía enfrentan limitaciones relacionadas con la seguridad, los costos y su aplicación clínica (Elfadadny et al., 2024). Por ello, el control de la resistencia a los antimicrobianos requiere esfuerzos coordinados a nivel global que incluyan programas de uso racional de antibióticos, vigilancia epidemiológica apoyada en herramientas genómicas avanzadas, desarrollo de nuevas terapias y fortalecimiento de las políticas sanitarias, con el propósito de reducir su creciente impacto clínico, económico y social (Jain et al., 2024).

3.5 Cómo combatir la resistencia a los antimicrobianos

Combatir la resistencia a los antimicrobianos exige un enfoque integral que combine el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas con la implementación de estrategias orientadas a reducir la demanda y el uso inadecuado de antibióticos. Este desafío se ve agravado por la capacidad de las bacterias para desarrollar diversos mecanismos de defensa, tales como la modificación de sitios diana, la acción de bombas de expulsión, la formación de biofilms y la degradación enzimática de los fármacos, lo que dificulta significativamente su tratamiento (Elshobary et al., 2025; Halawa et al., 2024). En este sentido, como señala Angelini, “el manejo de la resistencia a los antibióticos en entornos clínicos sigue siendo un desafío, particularmente con el aumento de las superbacterias” (Angelini, 2024, p. 1, traducción propia).

Ante el avance de la resistencia bacteriana, se han desarrollado diversas estrategias terapéuticas innovadoras orientadas a contrarrestar los mecanismos que utilizan los microorganismos para evadir la acción de los antibióticos. Entre las alternativas más prometedoras destacan los péptidos antimicrobianos, la terapia con fagos y las estrategias dirigidas a interferir en la comunicación bacteriana mediante mecanismos de *quorum sensing*. Asimismo, herramientas avanzadas como los sistemas CRISPR-Cas

han despertado un gran interés por su capacidad para realizar intervenciones genéticas específicas dirigidas contra genes de resistencia.

De igual manera, el desarrollo de nanomateriales ha mostrado resultados alentadores, ya que puede mejorar la eficacia de los antibióticos y facilitar la superación de algunas barreras asociadas con la resistencia antimicrobiana (Jacobowski et al., 2025; Elshobary et al., 2025). Paralelamente, los compuestos obtenidos de plantas y otros productos naturales han adquirido relevancia como posibles alternativas terapéuticas frente a bacterias multirresistentes, ampliando las opciones disponibles para el tratamiento de estas infecciones (Angelini et al., 2024).

Frente a este escenario, resulta indispensable fortalecer la colaboración interdisciplinaria, mejorar los sistemas de vigilancia epidemiológica y promover el uso racional de antibióticos con el fin de disminuir la pérdida progresiva de eficacia de los antimicrobianos. En este contexto, las intervenciones de salud pública, como los programas de optimización del uso de antimicrobianos, la vacunación, las medidas de control de infecciones y las políticas regulatorias dirigidas tanto al ámbito humano como animal, desempeñan un papel fundamental en la contención de la resistencia microbiana.

Además, enfoques emergentes como la medicina de precisión, la inteligencia artificial, el monitoreo ambiental y la cooperación internacional representan herramientas clave para enfrentar este problema de manera integral y garantizar la efectividad de las terapias antimicrobianas actuales y futuras (Gajić et al., 2025; Terkimbi et al., 2025).

3.6 Estrategias no alternativas para combatir patógenos resistentes a los antibióticos

Las estrategias alternativas para combatir patógenos resistentes a los antibióticos abarcan diversos enfoques que no dependen directamente del desarrollo de nuevos antimicrobianos. Entre ellas destacan las terapias basadas en péptidos antimicrobianos, eficaces frente a bacterias, virus y hongos; sin embargo, su aplicación clínica aún presenta limitaciones como la baja biodisponibilidad y la posible toxicidad, aunque los avances en ingeniería peptídica han contribuido a optimizar su eficacia. Asimismo, la terapia con bacteriófagos constituye una alternativa altamente específica para eliminar bacterias resistentes sin afectar la microbiota normal, mostrando un potencial particular en infecciones gastrointestinales (Yarahmadi et al., 2025).

Por otra parte, los inhibidores del quorum sensing actúan bloqueando la formación de biofilms y la expresión de factores de virulencia, lo que los posiciona como una estrategia innovadora para reducir la resistencia bacteriana (Hetta et al., 2024). En paralelo, los nanomateriales emergen como herramientas prometedoras al potenciar la actividad antibacteriana mediante la generación de especies reactivas de oxígeno, la alteración de las membranas bacterianas y la mejora en la liberación de fármacos (Parvin et al., 2025). De igual manera, otras aproximaciones incluyen el uso de probióticos, postbióticos, el trasplante de microbiota fecal, inmunoterapias, fototerapia antimicrobiana y sistemas genéticos como CRISPR-Cas para intervenciones dirigidas (Lin et al., 2021; Elshobary et al., 2025).

A pesar de los avances alcanzados, la aplicación clínica de estas estrategias todavía enfrenta importantes limitaciones relacionadas con la seguridad, los costos, los procesos regulatorios y la posibilidad de implementarlas a gran escala. Superar estos desafíos será fundamental para facilitar su incorporación efectiva en la práctica médica y ampliar su disponibilidad en el tratamiento de infecciones resistentes (Yarahmadi et al., 2025; Elshobary et al., 2025).

- **Terapia con fagos**

La terapia con fagos ha ganado interés en los últimos años como una alternativa prometedora para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos multirresistentes. Esta estrategia utiliza bacteriófagos líticos, virus capaces de infectar y destruir bacterias específicas mediante lisis celular (Kortright et al., 2019). Entre sus principales ventajas destacan su elevada especificidad, su capacidad para actuar sobre biopelículas y su menor impacto sobre la microbiota normal, características que la convierten en una opción atractiva frente al aumento de la resistencia antimicrobiana.

Sin embargo, su aplicación clínica aún presenta ciertas limitaciones, principalmente relacionadas con la necesidad de seleccionar fagos específicos para cada cepa bacteriana. A pesar de ello, estudios recientes han demostrado resultados favorables en términos de seguridad y efectividad, especialmente en infecciones producidas por *P. aeruginosa* y enterobacterias resistentes a carbapenémicos, en muchos casos utilizando terapia combinada con antibióticos convencionales.

Además, la eficacia de este tratamiento puede verse influenciada por factores como la dosis administrada, la vía de aplicación y el momento del tratamiento. Aunque las bacterias pueden desarrollar resistencia frente a los fagos, algunos estudios sugieren que este fenómeno podría incluso restaurar la sensibilidad bacteriana a determinados antibióticos, generando nuevas oportunidades terapéuticas (Jault et al., 2019).

- **Péptidos antimicrobianos**

Los péptidos antimicrobianos (PAM) forman parte de los mecanismos naturales de defensa de la inmunidad innata y representan una alternativa prometedora frente a las infecciones resistentes. Generalmente, estas moléculas están compuestas por entre 10 y 50 aminoácidos y se caracterizan por poseer carga positiva y propiedades anfipáticas, características que facilitan su interacción con las membranas microbianas y favorecen su acción antimicrobiana (Moghadam et al., 2022).

Los PAM pueden clasificarse según su estructura y origen. Entre las conformaciones más frecuentes predominan las estructuras de tipo α-hélice y β-lámina, aunque estas pueden modificarse dependiendo de las condiciones del entorno y de la interacción con las membranas celulares (Nguyen et al., 2011).

Su mecanismo de acción incluye la desestabilización de la membrana celular mediante la formación de poros o mecanismos tipo “alfombra” y la inhibición de procesos esenciales como la síntesis de ADN y proteínas, lo que conduce a la muerte del microorganismo (Falanga et al., 2016). Estas propiedades les confieren una actividad de amplio espectro frente a bacterias, virus, hongos y parásitos, con menor probabilidad de inducir resistencia, posicionándolos como una alternativa prometedora a los antibióticos convencionales (Xuan et al., 2023).

Además, algunos PAM ya han sido aprobados para uso clínico, como las polimixinas y gramicidinas, mientras que otros se encuentran en desarrollo. Su aplicación también se extiende a ámbitos no médicos, como la agricultura, la ganadería y la industria alimentaria (Gomes et al., 2020;). No obstante, la optimización de su eficacia mediante modificaciones estructurales debe equilibrarse con posibles efectos adversos, como el incremento de la actividad hemolítica asociado a cambios en su carga e hidrofobicidad (Jiang et al., 2008).

- **Inhibidores de *quorum sensing***

El *quorum sensing* (QS) es un sistema de comunicación bacteriana que regula procesos como la formación de biopelículas, la producción de factores de virulencia y la resistencia a antibióticos mediante moléculas señalizadoras que activan la expresión génica al alcanzar una densidad crítica (Mahdally et al., 2021). Este sistema varía entre bacterias Gram negativas, que utilizan acil-homoserina lactonas, y Gram positivas, que emplean péptidos autoinductores, además de sistemas universales como el autoinductor-2 (Xu et al., 2023).

El *quorum quenching* (QQ) es una estrategia dirigida a inhibir los sistemas de comunicación bacteriana conocidos como *quorum sensing*, mediante mecanismos enzimáticos o compuestos químicos capaces de interferir en estas señales celulares. Al bloquear este proceso, se reduce la capacidad patogénica de las bacterias y, al mismo tiempo, puede potenciarse la eficacia de antibióticos y bacteriófagos (Fatima et al., 2023).

Este efecto puede lograrse a través de la degradación de las moléculas señal o mediante la inhibición de su unión a los receptores bacterianos, alterando procesos fundamentales como la formación de biopelículas, la producción de sustancias extracelulares (EPS) y la expresión de genes relacionados con la virulencia y la resistencia antimicrobiana (Yin et al., 2022). En los últimos años, diversos compuestos naturales han mostrado actividad de *quorum quenching*. Entre ellos destacan sustancias derivadas de *Sambucus nigra* y *Matricaria chamomilla*, así como moléculas como la vainillina, el cinamaldehído y el ácido salicílico. Estos compuestos pueden interferir con los sistemas de *quorum sensing* y disminuir la virulencia bacteriana sin ejercer una fuerte presión selectiva sobre los microorganismos, característica que los convierte en alternativas terapéuticas prometedoras frente a la resistencia bacteriana (Qin et al., 2020; Kˇrižkovska et al., 2023; Mirpour et al., 2024).

- **Nanopartículas**

La nanotecnología se posiciona como una estrategia innovadora para superar las limitaciones de los antimicrobianos convencionales y enfrentar la resistencia antimicrobiana (Paladini et al., 2025). En este contexto, los nanomateriales como

nanopartículas metálicas, estructuras basadas en carbono y sistemas poliméricos destacan por sus propiedades fisicoquímicas, que mejoran la estabilidad, solubilidad y eficacia de los fármacos, además de permitir una liberación controlada y dirigida hacia los focos infecciosos (Mondal et al., 2024).

Las nanopartículas, cuyo tamaño oscila entre 1 y 100 nm, han despertado un creciente interés en el campo biomédico debido a su capacidad para penetrar biopelículas e interactuar directamente con las membranas bacterianas. Estas propiedades favorecen una mayor eficacia terapéutica y, al mismo tiempo, pueden disminuir los efectos adversos asociados al tratamiento antimicrobiano convencional (Chakraborty et al., 2023).

Su actividad antimicrobiana se relaciona con diferentes mecanismos de acción, entre ellos la generación de especies reactivas de oxígeno, la alteración de la integridad de la membrana bacteriana, la liberación de iones y diversos efectos fotoactivados. Gracias a ello, las nanopartículas pueden actuar tanto sobre bacterias en estado planctónico como sobre microorganismos organizados en biopelículas (Hetta et al., 2023).

Además, estos nanomateriales tienen la capacidad de evadir algunos mecanismos de resistencia bacteriana, como las bombas de expulsión, y pueden potenciar la acción de los antibióticos mediante efectos sinérgicos. Esta interacción favorece una mayor susceptibilidad bacteriana y permite reducir las dosis requeridas de antimicrobianos (Parvin et al., 2025).

En conjunto, estas características otorgan a los nanomateriales un amplio espectro de acción y un menor riesgo de inducir resistencia, posicionándolos como una alternativa terapéutica prometedora frente a microorganismos multirresistentes. Sin embargo, su aplicación clínica aún enfrenta desafíos importantes relacionados con la toxicidad, la regulación y la posibilidad de producción a gran escala, aspectos que deben resolverse para garantizar su uso seguro y efectivo (Wahab et al., 2023).

- **Uso de probióticos, postbióticos y simbióticos**

La microbiota intestinal, integrada por bacterias, hongos y virus, desempeña funciones esenciales en procesos como la digestión, la regulación del sistema inmunitario y el control de microorganismos patógenos, contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis y a la prevención de infecciones (Álvarez et al., 2021). En este contexto, el

incremento de la resistencia antimicrobiana ha impulsado el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en la modulación de la microbiota intestinal, entre ellas el uso de probióticos, postbióticos y simbióticos, con el objetivo de disminuir la dependencia de antibióticos y favorecer el equilibrio microbiano (Lin et al., 2021).

Los probióticos, definidos como microorganismos vivos administrados en cantidades adecuadas, contribuyen al mantenimiento de la microbiota intestinal, inhiben la proliferación de patógenos y ayudan a reducir la incidencia de infecciones, lo que puede disminuir la necesidad del uso de antibióticos (Rabetafika et al., 2023).

Su mecanismo de acción incluye la competencia por nutrientes y sitios de adhesión, el fortalecimiento de la barrera intestinal, la modulación de la respuesta inmune y la producción de compuestos antimicrobianos, como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas (Khalil et al., 2024). Además, los probióticos pueden ayudar a contrarrestar algunos efectos adversos asociados al uso de antibióticos y contribuir a prevenir la proliferación de microorganismos resistentes (Yang et al., 2025).

Por su parte, los postbióticos metabolitos bioactivos derivados de probióticos presentan propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras, destacando por su mayor estabilidad y seguridad (Wu et al., 2022). En conjunto, estas estrategias favorecen la función inmunológica y el equilibrio microbiano, contribuyendo a mitigar la resistencia antimicrobiana. No obstante, su implementación enfrenta limitaciones relacionadas con la variabilidad de resultados, la falta de estandarización, aspectos regulatorios y la necesidad de mayor evidencia clínica sobre su eficacia a largo plazo (Elshobary et al., 2025).

- **Trasplante de microbiota fecal (FMT)**

Esta estrategia ha mostrado resultados prometedores para disminuir la colonización por microorganismos multirresistentes, especialmente en pacientes con mayor riesgo de infección. Su beneficio principal radica en favorecer la restauración del equilibrio de la microbiota intestinal y reducir la presión selectiva generada por el uso de antimicrobianos, contribuyendo así a limitar la proliferación de bacterias resistentes (Kim & Gluck, 2019).

En este contexto, diversos estudios han evidenciado que la transferencia de microbiota fecal constituye una estrategia eficaz para reducir la colonización por microorganismos multirresistentes (MDRO), no solo en el corto plazo, sino también con efectos sostenidos en el tiempo, asociados a la recuperación del equilibrio de la microbiota intestinal. En este sentido, se ha observado que la microbiota fecal terapéutica puede contribuir a mantener un resistoma intestinal similar al del donante, lo que sugiere una disminución estable de la carga de genes de resistencia y beneficios prolongados en la homeostasis microbiana, respaldados por la evidencia disponible (Woodworth et al., 2023)

Además, el FMT se asocia con la restauración de la microbiota intestinal y la reducción de infecciones, aunque los mecanismos exactos aún no se comprenden completamente. La evidencia obtenida a partir de seguimientos a largo plazo sugiere que la eficacia de esta estrategia podría estar relacionada con el establecimiento y la permanencia de microorganismos anaerobios provenientes del donante, fenómeno asociado con una descolonización sostenida (Babiker et al., 2025). En estudios con seguimientos de hasta cinco años, aproximadamente el 80 % de los pacientes tratados con FMT permanecieron descolonizados, mientras que en los grupos control no se evidenció una descolonización sostenida a lo largo del tiempo. Asimismo, los análisis metagenómicos evidenciaron la persistencia prolongada de cepas anaerobias del donante, lo que indica un injerto microbiano estable como mecanismo clave. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la microbiota fecal terapéutica puede lograr una descolonización duradera de MDRO, probablemente mediada por la persistencia de la microbiota donante (Babiker et al., 2025).

Aun así, los resultados reportados hasta el momento no han sido completamente uniformes entre los diferentes estudios. Investigaciones recientes no han evidenciado diferencias significativas en la erradicación global de microorganismos multirresistentes (MDRO); sin embargo, sí sugieren que la implantación de cepas provenientes del donante y las modificaciones en los perfiles de resistencia podrían influir en la respuesta terapéutica (Merrick et al., 2025).

- **Estrategias para fortalecer la inmunidad**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha destacado el importante papel que pueden desempeñar las vacunas en la lucha contra la RAM. Además de prevenir infecciones, las vacunas contribuyen a disminuir la transmisión de cepas resistentes y a reducir el uso de antibióticos, aspectos fundamentales para limitar la propagación de la resistencia bacteriana. Durante muchos años, la contribución de las vacunas al control de la RAM no fue plenamente reconocida, ya que tradicionalmente su uso estuvo enfocado principalmente en la prevención de enfermedades infecciosas. Sin embargo, el informe más reciente de la OMS analiza de manera integral el potencial de 44 vacunas dirigidas contra 24 patógenos, incluyendo tanto vacunas ya autorizadas como aquellas que aún se encuentran en desarrollo.

Para ello, el documento emplea una metodología que evalúa su impacto sobre distintos indicadores, entre ellos los resultados en salud, el consumo de antibióticos y los costos económicos asociados. Los hallazgos obtenidos muestran que las vacunas representan un componente esencial dentro de las estrategias nacionales y globales orientadas al control de la resistencia antimicrobiana (OMS, 2024).

En este contexto, en la última década se han desarrollado diversas plataformas inmunológicas frente a bacilos Gram negativos multirresistentes, entre ellas vacunas basadas en células inactivadas, proteínas de membrana externa, lipopolisacáridos, conjugados polisacáridos y anticuerpos monoclonales (Troisi et al., 2022). Sin embargo, su desarrollo enfrenta limitaciones como la posible reactividad cruzada con el microbioma y la respuesta inmunitaria insuficiente en pacientes inmunocomprometidos, lo que ha impedido que, pese a algunos perfiles favorables de seguridad e inmunogenicidad, aún no exista ninguna vacuna aprobada para uso clínico en este grupo (Motamed et al., 2024).

En los últimos años, los avances tecnológicos han favorecido el desarrollo de vacunas cada vez más específicas frente a patógenos resistentes. Entre estas estrategias destaca un candidato vacunal dirigido contra dos porinas conservadas de *K. pneumoniae*, diseñado con el objetivo de generar protección cruzada frente a múltiples cepas bacterianas, iniciativa respaldada por el programa Horizon Europe (Horizon Europe Programme, 2024).

De forma paralela, continúan desarrollándose investigaciones orientadas a la creación de vacunas contra *P. aeruginosa*, especialmente en pacientes con fibrosis quística y bronquiectasias, así como frente a otros patógenos de relevancia clínica como *E. coli* y *Acinetobacter* spp. (Chastre et al., 2022).

Además de las vacunas, también se han explorado estrategias basadas en anticuerpos monoclonales dirigidos contra factores de virulencia bacteriana, particularmente en infecciones ocasionadas por *P. aeruginosa*. Aunque algunos candidatos iniciales, como KB001-A y ciertos anticuerpos biespecíficos dirigidos contra biopelículas, no demostraron resultados suficientemente eficaces en fases clínicas tempranas (François et al., 2012), investigaciones más recientes han mostrado resultados alentadores. En este contexto, se han identificado anticuerpos monoclonales con elevada actividad bactericida frente a cepas hipervirulentas productoras de carbapenemasas. Entre ellos destaca el mAb 08O09, que ha demostrado un efecto protector profiláctico en modelos animales frente a distintos mecanismos de resistencia y virulencia bacteriana (Roscioli et al., 2025).

- **Terapia fotodinámica antibacteriana (PDT)**

La PDT se ha posicionado como una alternativa innovadora frente a las infecciones causadas por microorganismos resistentes. Esta estrategia se basa en el uso de un fotosensibilizador que, al ser activado por una fuente de luz específica, genera especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de producir daño oxidativo y provocar la muerte de las células microbianas. Gracias a este mecanismo, la PDT ha demostrado actividad frente a bacterias multirresistentes y biopelículas, superando algunas limitaciones asociadas a los antibióticos convencionales y disminuyendo el riesgo de generar nuevos mecanismos de resistencia (Tanu et al., 2025).

Diversos fotosensibilizadores, entre ellos Hypocrellin, eritrosina, azul de metileno y compuestos derivados de coumarina, han mostrado una importante actividad antimicrobiana, además de buena biocompatibilidad y capacidad para actuar incluso en ambientes hipóxicos o en biopelículas complejas (Yerra et al., 2025).

Asimismo, la PDT ha sido aplicada exitosamente en modelos odontológicos para disminuir biopelículas multiespecie asociadas con infecciones orales y periodontitis, observándose mejoras en la salud periodontal y una reducción significativa de

microorganismos patógenos (Nie et al., 2024). Más recientemente, se han desarrollado enfoques combinados que integran la PDT con nanomateriales, nanozymes y terapias complementarias, como la hipertermia magnética, con el propósito de potenciar la generación de especies reactivas de oxígeno y mejorar la penetración y eficacia terapéutica en infecciones crónicas y heridas resistentes (Li et al., 2025).

Aunque los resultados preclínicos obtenidos hasta ahora son prometedores, todavía es necesario establecer protocolos estandarizados y desarrollar ensayos clínicos sólidos que permitan confirmar su seguridad y eficacia a largo plazo en humanos (Rubilar-Huenchuman et al., 2024).

- **Sistemas genéticos CRISPR-Cas**

El sistema CRISPR-Cas es un mecanismo de inmunidad adaptativa presente en bacterias que les permite defenderse frente a material genético invasor, como bacteriófagos y plásmidos (Kamruzzaman & Iredell, 2020). En este sentido, actúa como una barrera natural contra la transferencia horizontal de genes, uno de los principales mecanismos implicados en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos, gracias a esta función, el sistema CRISPR-Cas contribuye a limitar la adquisición y propagación de genes de resistencia antimicrobiana en las poblaciones bacterianas. A diferencia de los antibióticos convencionales, que presentan una acción inespecífica sobre la microbiota, este sistema permite una intervención altamente dirigida mediante ARN guía complementarios a secuencias específicas de ADN, lo que posibilita la eliminación selectiva de genes de resistencia (ARGs) y de bacterias patógenas sin afectar de manera significativa a otras especies en comunidades microbianas complejas (Greene et al., 2018).

No obstante, la relación entre los sistemas CRISPR-Cas y la resistencia a antibióticos en bacterias Gram negativas es compleja. Por un lado, estos sistemas limitan la transferencia horizontal de ARGs, los cuales suelen encontrarse en elementos genéticos móviles que facilitan su diseminación y contribuyen al fracaso terapéutico. En este contexto, CRISPR-Cas, presente en aproximadamente la mitad de los genomas bacterianos, desempeña un papel clave en la restricción de la propagación de la resistencia antimicrobiana (Kadkhoda et al., 2025).

Por otra parte, en algunas bacterias Gram negativas, como *Salmonella enterica*, la presencia de sistemas CRISPR-Cas completos se ha relacionado con una mayor frecuencia de genes de resistencia antimicrobiana. Este fenómeno podría estar asociado con procesos adaptativos inducidos por la presión antibiótica, que favorecen la adquisición y mantenimiento de genes de resistencia (ARGs) (Fallah et al., 2024).

Además, tanto las bacterias como los bacteriófagos pueden producir proteínas anti-CRISPR capaces de bloquear el funcionamiento de este sistema defensivo. Como consecuencia, se facilita la incorporación y diseminación de genes de resistencia entre diferentes microorganismos, contribuyendo a la expansión de la resistencia antimicrobiana (Kadkhoda et al., 2024).

En este escenario, donde la resistencia antimicrobiana compromete incluso a antibióticos de último recurso como la tigeciclina y la colistina, cuya eficacia se ha visto afectada por genes plasmídicos como *tet(X4)* y *mcr-1*,se han desarrollado estrategias innovadoras basadas en CRISPR-Cas9. Estos sistemas utilizan ARN guía específicos dirigidos contra dichos genes de resistencia junto con la nucleasa Cas9, siendo introducidos mediante conjugación con alta eficiencia. Bajo condiciones optimizadas, se han logrado eficiencias de conjugación cercanas al 100% in vitro y tasas de resensibilización superiores al 90% en aislados clínicos. Asimismo, en modelos in vivo, se han implementado sistemas seguros que evitan la introducción de nuevos genes de resistencia, logrando una reducción significativa de la carga bacteriana resistente. En conjunto, estos avances evidencian el potencial de las herramientas CRISPR-Cas como antimicrobianos programables capaces de eliminar de manera selectiva bacterias resistentes y modular comunidades microbianas, lo que abre nuevas perspectivas terapéuticas para el control y la diseminación de genes de resistencia antimicrobiana (Zhang et al., 2024b).

Capítulo IV.- Métodos de detección de la resistencia en bacilos Gram negativos

4.1. Panorama general de la resistencia antimicrobiana en bacilos Gram negativos y desafíos diagnósticos

La resistencia a los antibióticos representa una amenaza creciente para la medicina moderna, lo que exige el desarrollo de métodos diagnósticos más rápidos y confiables. Aunque las pruebas de sensibilidad basadas en cultivos continúan siendo el estándar de referencia, presentan limitaciones importantes como tiempos prolongados de procesamiento y baja capacidad para la detección temprana. En este contexto, han surgido avances significativos en técnicas moleculares y espectrométricas, como la PCR, la secuenciación de nueva generación, MALDI-TOF, así como espectroscopías Raman y FTIR, junto con tecnologías emergentes basadas en CRISPR, biosensores, microfluídica e inteligencia artificial, que están revolucionando el diagnóstico microbiológico al mejorar la rapidez, sensibilidad y portabilidad de los ensayos (Aldea et al., 2025).

Las bacterias Gram negativas multirresistentes, en especial las pertenecientes al grupo ESKAPE, representan actualmente una de las mayores amenazas para la salud pública mundial debido a su notable capacidad para desarrollar y combinar múltiples mecanismos de resistencia. Entre estos mecanismos destacan la producción de enzimas capaces de inactivar antibióticos, las alteraciones en las porinas, la sobreexpresión de bombas de eflujo y las modificaciones en las dianas terapéuticas, procesos que dificultan considerablemente el tratamiento de las infecciones. Aunque en los últimos años se han logrado algunos avances terapéuticos, como el desarrollo de inhibidores de β-lactamasas y la incorporación de herramientas basadas en inteligencia artificial para la búsqueda de nuevos antimicrobianos, las opciones de tratamiento continúan siendo limitadas frente al rápido avance de la resistencia bacteriana. Por ello, comprender en profundidad los mecanismos específicos implicados en la resistencia antimicrobiana resulta esencial para el diseño de estrategias terapéuticas más eficaces y para el desarrollo de nuevos tratamientos capaces de enfrentar las infecciones causadas por estos patógenos de alta relevancia clínica (Gauba & Rahman, 2023).

En el laboratorio clínico, la detección de β-lactamasas incluyendo BLEE, AmpC y carbapenemasas en Enterobacterales representa un desafío debido a la coexistencia de múltiples genes de resistencia y mecanismos simultáneos en un mismo aislamiento, lo que puede generar resultados erróneos en las pruebas fenotípicas. Organismos como el CLSI y EUCAST han establecido métodos estandarizados para su detección, aunque con diferencias en criterios de cribado y confirmación Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024 (CLSI, 2024) como el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2024 (EUCAST, 2024). Entre los métodos fenotípicos, destacan pruebas como DDST, MDDST, mCIM/eCIM y Carba NP, así como sistemas automatizados (Vitek, MicroScan), mientras que técnicas avanzadas como MALDI-TOF MS y Xpert Carba-R permiten una detección más rápida, aunque con limitaciones de acceso por su costo (Perera et al., 2023).

A pesar de su utilidad, la detección fenotípica puede verse limitada por la variabilidad geográfica de las enzimas y por la coexistencia de múltiples mecanismos de resistencia en una misma bacteria, factores que dificultan la interpretación precisa de los resultados. Por esta razón, actualmente se considera que la combinación de métodos fenotípicos y genotípicos representa la estrategia más confiable para identificar la resistencia mediada por genes *bla*. La integración de ambas aproximaciones permite mejorar la precisión diagnóstica y optimizar la detección de mecanismos de resistencia clínicamente relevantes. Sin embargo, la incorporación rutinaria de técnicas moleculares aún enfrenta importantes limitaciones en numerosos entornos de salud, principalmente debido a los altos costos, la disponibilidad limitada de recursos y las restricciones en infraestructura diagnóstica especializada (Priyadharshana et al., 2019; Perera et al., 2023).

4.2. Métodos fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana

A continuación, se describen de manera sucinta los métodos fenotípicos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana de uso más frecuente en la práctica microbiológica para los principales bacilos Gram negativos, con especial énfasis en los ensayos para la detección de β-lactamasas y carbapenemasas.

- **Detección fenotípica de β-lactamasas de espectro extendido**

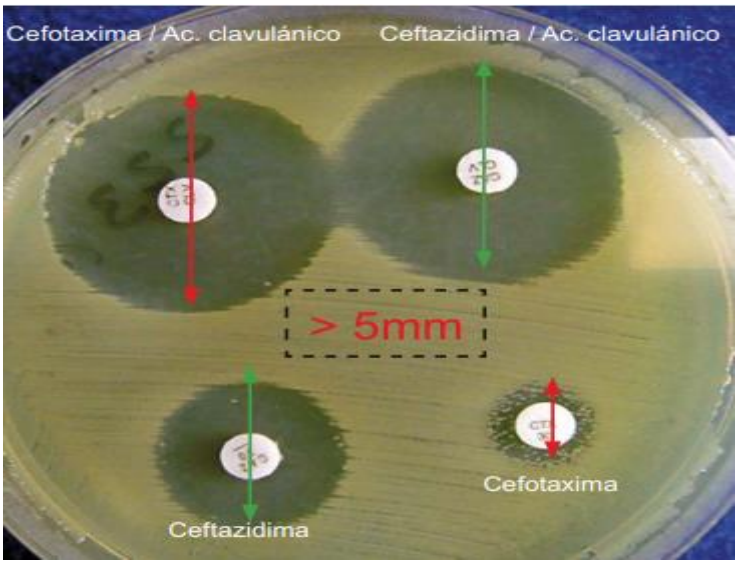
Los métodos fenotípicos, como la difusión en disco y la microdilución en caldo, han sido ampliamente utilizados para detectar la producción de β-lactamasas de BLEE en bacterias Gram negativas. No obstante, la confiabilidad de estos métodos puede verse afectada por diversos factores, entre ellos la coexistencia de múltiples β-lactamasas, la sobreexpresión de β-lactamasas AmpC y el posible enmascaramiento de BLEE en bacterias productoras de AmpC, lo que dificulta su correcta identificación. Asimismo, limitaciones técnicas en algunos laboratorios clínicos pueden influir en la adecuada realización e interpretación de estas pruebas, lo que puede derivar en decisiones terapéuticas inadecuadas (Aruhomukama, 2020).

La detección de BLEE suele realizarse mediante un proceso dividido en dos etapas: una fase de tamizaje inicial y una fase de confirmación fenotípica.

Durante el tamizaje, se evalúa la susceptibilidad bacteriana frente a antibióticos como cefpodoxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima y aztreonam, utilizando los puntos de corte establecidos por el CLSI. El uso combinado de varios antibióticos permite mejorar la sensibilidad diagnóstica, ya que algunos compuestos facilitan la detección de determinados tipos de enzimas. Por ejemplo, la cefotaxima resulta especialmente útil para identificar enzimas del grupo CTX-M, mientras que la ceftazidima favorece la detección de enzimas TEM y SHV. Posteriormente, la confirmación fenotípica se basa en demostrar la sinergia entre las cefalosporinas y el ácido clavulánico. Para ello, se emplean métodos como la difusión con discos combinados, la prueba de sinergia de doble disco (DDS) y la prueba modificada de doble disco (MDDS), técnicas que permiten confirmar de manera confiable la producción de BLEE en los aislamientos bacterianos analizados (CLSI, 2025).

La prueba de discos combinados es un método de difusión en disco utilizado para la detección de BLEE, que compara la actividad de dos discos con el mismo antimicrobiano colocados en una placa de agar inoculada: uno con cefalosporina o monobactámico solo (cefotaxima, ceftazidima, cefpodoxima o aztreonam) y otro con el mismo antibiótico combinado con ácido clavulánico. El resultado se interpreta comparando los halos de inhibición, considerándose positivo cuando el diámetro del halo es ≥ 5 mm mayor en presencia de clavulanato. Este método es simple de realizar e interpretar, y puede presentar mayor sensibilidad que la prueba de sinergia de doble disco (DDST), ya que no depende de la distancia entre discos (figura 11) (Lezameta et al.,2010).

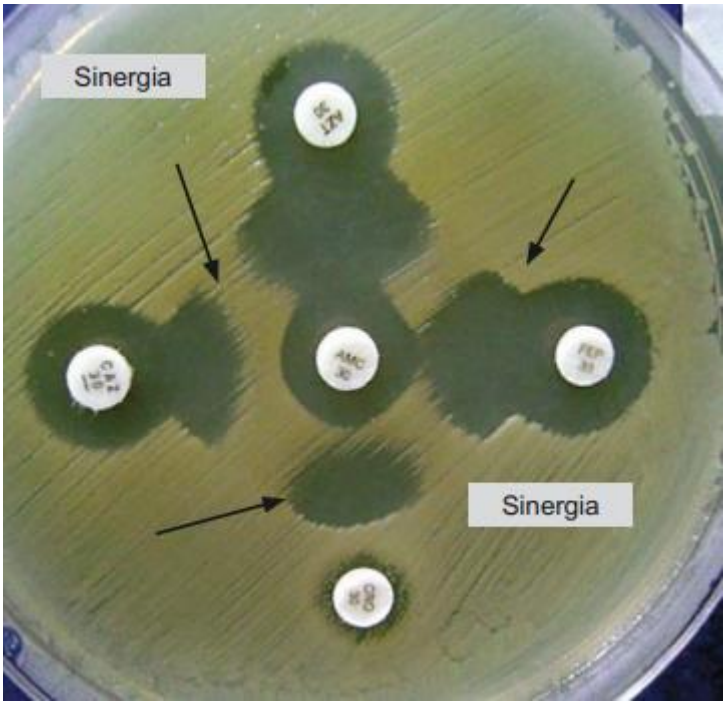
Figura 11 Prueba de discos combinados realizada en una cepa productora de BLEE.



Fuente: Lezameta et al. (2010).

La prueba de DDST es un método utilizado para detectar la producción de BLEE constituye una técnica fenotípica sencilla y confiable. El procedimiento consiste en sembrar una placa de agar Mueller-Hinton con un inóculo bacteriano ajustado al 0,5 de la escala de McFarland, para luego colocar un disco de amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) en el centro y, alrededor de este a 25 mm de distancia, discos de cefalosporinas como ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX) y cefepima (FEP). La producción de esta enzima se evidencia por la distorsión de los halos de inhibición de las cefalosporinas hacia el disco con inhibidor, manifestándose como figuras características tipo "huevo", "cola de pez" o "balón de fútbol americano" (figura 12) (Lezameta et al., 2010; Das et al., 2023).

Figura 12 Prueba de sinergia de doble disco realizada en una cepa productora de BLEE.



Fuente: Lezameta et al. (2010).

- **Detección fenotípica de β-lactamasa AmpC**

La identificación de β-lactamasas AmpC representa un reto importante en el laboratorio clínico, debido a que estas enzimas no siempre muestran un perfil claramente resistente en las pruebas convencionales de difusión en disco ni en muchos sistemas automatizados de susceptibilidad (Gupta et al., 2014). Esta situación dificulta su reconocimiento oportuno y puede afectar la interpretación de los resultados microbiológicos.

Además, la expresión de las AmpC puede presentarse de manera inducible o desreprimida, característica que complica la predicción de la respuesta al tratamiento y aumenta el riesgo de fracaso terapéutico, especialmente en ausencia de directrices estandarizadas para su detección e interpretación (Maraskolhe et al., 2014). Las β-lactamasas AmpC constituyen un mecanismo relevante de resistencia en bacterias Gram negativas, ya que poseen la capacidad de inactivar diversos β-lactámicos de amplio espectro. Estas enzimas pueden estar codificadas cromosómicamente en patógenos como

Enterobacter y Pseudomonas, donde su expresión puede inducirse tras la exposición a determinados antibióticos. Como consecuencia, pueden seleccionarse cepas altamente resistentes incluso cuando los aislamientos iniciales parecen susceptibles en las pruebas de laboratorio. Asimismo, el riesgo de aparición de resistencia puede variar dependiendo del β-lactámico utilizado, lo que resalta la importancia de considerar estos mecanismos al momento de seleccionar el tratamiento antimicrobiano más adecuado (MacDougall, 2011).

A diferencia de las BLEE, las enzimas AmpC presentan escasa inhibición por los inhibidores clásicos, especialmente por el ácido clavulánico, por lo que su detección fenotípica suele basarse en la inhibición con cloxacilina o ácido borónico. Entre los métodos más utilizados destacan la prueba de difusión en disco cefoxitina-cloxacilina y la tira de gradiente para AmpC. La resistencia a cefoxitina, una cefamicina hidrolizada selectivamente por AmpC, puede sugerir la presencia de esta enzima; sin embargo, algunas variantes, como las tipo ACC, pueden permanecer susceptibles, y la resistencia también puede relacionarse con alteraciones en la permeabilidad bacteriana o mecanismos intrínsecos de resistencia. En la prueba cefoxitina-cloxacilina, una reducción ≥ 4 mm en el halo de inhibición indica producción de AmpC, mientras que en la tira de gradiente, una relación de MIC cefotetan/cefotetan-cloxacilina ≥ 8 se considera positiva, lo que evidencia la necesidad de métodos diagnósticos más sensibles y estandarizados para su detección (Peter- Getzlaff et al., 2011).

La producción de β-lactamasa AmpC inducible se detecta mediante un ensayo de sinergia en disco basado en la difusión en agar. En este procedimiento, se utilizan discos de imipenem (10 μg), cefoxitina (30 μg) y amoxicilina-ácido clavulánico (20/10 μg) como sustratos inductores, mientras que discos de ceftazidima (CAZ, 30 μg), cefotaxima (CTX, 30 μg) y ácido fenilborónico (PBA, 400 μg) actúan como sustratos reporteros (Peter-Getzlaff et al., 2011). El ensayo se realiza sobre una placa de agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana ajustada al 0,5 de la escala de McFarland. Los discos, tanto los suplementados con inhibidores como los no suplementados, se colocan asépticamente a una distancia de 20 mm entre sí. Tras la incubación en atmósfera ambiente a 35 ± 2 °C durante 18–24 horas, se procede a la interpretación. Se considera un resultado positivo para la producción de AmpC inducible cuando se observa un aplanamiento o borramiento del halo de inhibición en la zona comprendida entre el

disco inductor y el disco reportero. Para la medición de los halos, se considera el borde de la inhibición claramente visible, ignorando la presencia de microcolonias dentro de la zona de inhibición (Peter-Getzlaff et al., 2011).

La prueba Cica-beta, basada en el cromógeno cefalosporínico HMRZ-86, constituye un método fenotípico rápido para la detección de β-lactamasas en bacterias Gram negativas. Su principio se fundamenta en la hidrólisis del anillo β-lactámico del sustrato cromogénico, reacción que genera un cambio de color de amarillo a rojo cuando están presentes enzimas como BLEE, AmpC o metalo-β-lactamasas (MBL).El sistema incorpora tiras reactivas con inhibidores específicos, entre ellos ácido clavulánico, ácido borónico y ácido mercaptoacético, lo que permite diferenciar distintos mecanismos de resistencia en aproximadamente 15 minutos (Livermore et al., 2007).

Además, una de las innovaciones más relevantes de esta técnica es su posibilidad de aplicación directa a partir del pellet bacteriano obtenido de hemocultivos positivos. Esta característica evita la necesidad de realizar subcultivos previos y permite reducir de manera considerable el tiempo de respuesta diagnóstica, favoreciendo una detección más temprana y un manejo terapéutico oportuno de las infecciones bacterianas (Okinaka et al., 2025).

No obstante, deben considerarse algunas limitaciones. Estudios comparativos han señalado que la prueba Cica-beta puede presentar menor sensibilidad que otras pruebas fenotípicas, así como posibles dificultades interpretativas, como la confusión entre enzimas K1 o cepas hiperproductoras de carbapenemasas con productoras de AmpC. A pesar de estas restricciones, su simplicidad, rapidez y bajo costo la convierten en una alternativa valiosa para laboratorios con recursos limitados y una herramienta de apoyo en programas de optimización de antimicrobianos (Livermore et al., 2007).

- **Detección fenotípica de de carbapenemasas**

Las pruebas fenotípicas empleadas en estudios de vigilancia para la detección de carbapenemasas aportan información limitada sobre el tipo específico de enzima presente en los aislamientos bacterianos. Por esta razón, es necesario complementar estos análisis con métodos moleculares, como la PCR o la amplificación isotérmica mediada por bucle

(LAMP), así como con ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral, que permiten identificar con mayor precisión los diferentes tipos de carbapenemasas, entre ellos NDM y KPC. La caracterización específica de estas enzimas es relevante para comprender los patrones de susceptibilidad antimicrobiana, su frecuencia, la distribución temporal y geográfica, y las especies bacterianas asociadas a estos mecanismos de resistencia (Matsumura & Pitout, 2016).

La detección de carbapenemasas es fundamental para orientar de manera adecuada el tratamiento de las infecciones causadas por enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE). Generalmente, la identificación inicial se realiza mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales permiten reconocer aislamientos con concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) elevadas frente a carbapenémicos como meropenem, ertapenem e imipenem. Según las recomendaciones de EUCAST, el meropenem es considerado el antibiótico más apropiado para el cribado inicial, debido a que ofrece un equilibrio adecuado entre sensibilidad y especificidad en la detección de estos mecanismos de resistencia. Una vez identificado un posible aislamiento productor de carbapenemasa, la confirmación puede llevarse a cabo mediante diferentes métodos fenotípicos, entre ellos la prueba Carba NP, el método de inactivación de carbapenémicos (CIM) y la prueba de discos combinados (CDT). Esta última técnica se basa en comparar la actividad de discos de meropenem en presencia y ausencia de inhibidores específicos, como el ácido borónico y el EDTA. Gracias a ello, es posible diferenciar carbapenemasas de clase A de aquellas pertenecientes a la clase B o metalo-β-lactamasas (MBL), facilitando una caracterización más precisa del mecanismo de resistencia presente en el aislamiento bacteriano. En contraste, para las enzimas de clase D aún no se dispone de inhibidores específicos, por lo que la resistencia de alto nivel a temocilina se utiliza con frecuencia como marcador indirecto para el cribado de enzimas tipo OXA-48. A pesar de su utilidad en el diagnóstico rutinario, estos métodos fenotípicos presentan como principal limitación el tiempo requerido para la obtención de resultados, que generalmente oscila entre 18 y 24 horas (Glupczynski et al., 2016; Lawrence et al., 2024).

La prueba Carba NP constituye un método fenotípico rápido y ampliamente utilizado para la detección de carbapenemasas, con un tiempo de respuesta aproximado de 30 minutos a 2 horas. Su principio se basa en la hidrólisis del imipenem por acción de las carbapenemasas presentes en el aislamiento bacteriano. Durante este proceso, la

degradación del antibiótico genera un derivado carboxílico que provoca la acidificación del medio, disminuyendo el pH y produciendo un cambio de color en el indicador rojo fenol, el cual pasa de rojo a amarillo cuando existe actividad carbapenemasa. El periodo de lectura de hasta dos horas resulta fundamental para el rendimiento diagnóstico de la prueba, ya que la mayoría de las carbapenemasas hidrolizan rápidamente el imipenem dentro de este intervalo. En contraste, las bacterias resistentes a carbapenémicos que no producen carbapenemasas suelen degradar el antibiótico de manera más lenta y, por lo general, no generan el cambio de color durante ese tiempo. Este método fue descrito inicialmente por Laurent Poirel y Patrice Nordmann en 2012, quienes demostraron un excelente desempeño diagnóstico en comparación con técnicas moleculares para la detección de enterobacterias resistentes a carbapenémicos.

Estudios posteriores confirmaron un buen desempeño para la mayoría de las clases de carbapenemasas; sin embargo, se han descrito limitaciones de sensibilidad en aislamientos productores de OXA-48-like y GES, así como en cepas con baja expresión de carbapenemasas (reflejada en valores bajos de MIC a carbapenémicos) y en aislamientos mucoides. Asimismo, la interpretación del resultado puede ser subjetiva, ya que algunos cambios de color son discretos y difíciles de diferenciar. Tanto el CLSI como EUCAST recomiendan la prueba Carba NP para la detección de carbapenemasas en enterobacterias resistentes a carbapenémicos, y el CLSI también la avala para *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos. No obstante, el CLSI introdujo una categoría interpretativa inválida cuando el cambio de color es de rojo a naranja oscuro, debido a que este resultado puede observarse tanto en aislamientos productores como no productores de carbapenemasas. Además, la aparición de resultados inválidos también puede relacionarse con el deterioro de los reactivos, por lo que se recomienda utilizar reactivos recién preparados (CLSI, 2024).

El bajo rendimiento de este método en la detección de carbapenemasas en *A. baumannii* motivó que el CLSI retirara su recomendación oficial para esta especie en 2018. Aun así, la prueba continúa siendo valorada por una de sus principales ventajas: la posibilidad de obtener resultados el mismo día, característica que la convierte en una herramienta útil para la detección rápida de carbapenemasas en el laboratorio clínico. No obstante, su implementación rutinaria puede presentar algunas dificultades operativas. Entre ellas destaca la necesidad de preparar los reactivos con frecuencia, debido a que la

solución que contiene imipenem posee una vida útil aproximada de 72 horas. Esta limitación puede ocasionar desperdicio de reactivos y un incremento en los costos, especialmente en regiones donde la resistencia a carbapenémicos tiene baja frecuencia y el volumen de muestras procesadas es reducido (CLSI, 2024).

Con el fin de mejorar el desempeño del ensayo original, se han propuesto diversas modificaciones del método manual Carba NP, Posteriormente se desarrolló Carba NP II, diseñado no solo para detectar carbapenemasas sino también para diferenciar las clases de Ambler mediante el uso de inhibidores específicos, como tazobactam para identificar carbapenemasas tipo KPC y EDTA para detectar MBL (Tijet et al., 2014).

El NG-Test Carba 5 es un inmunoensayo rápido y de fácil implementación que permite detectar y diferenciar de manera simultánea las principales carbapenemasas de relevancia clínica, incluyendo KPC, OXA-48-like, VIM, IMP y NDM, directamente a partir de colonias bacterianas. Diversos estudios multicéntricos han demostrado su utilidad diagnóstica al evaluarlo en aislamientos clínicos de Enterobacterales y *P. aeruginosa*. Los resultados obtenidos evidencian un desempeño comparable al de métodos moleculares, como Xpert Carba-R, lo que posiciona a esta prueba como una herramienta eficaz para la detección rápida de resistencia a carbapenémicos en el laboratorio clínico (Jenkins et al., 2020).

Debido a la baja permeabilidad de la membrana externa y a la hidrólisis lenta del imipenem por carbapenemasas de clase D tipo OXA frecuentes en el complejo *A. baumannii*, se desarrollaron adaptaciones del método Carba NP para mejorar su rendimiento en este género. Entre ellas destaca CarbAcineto NP, que incrementa el inóculo y utiliza una solución hiperosmótica de NaCl 5 M como agente de lisis, logrando sensibilidades entre 89 % y 95 % (Dortet et al., 2014; Simner et al., 2017).

De manera paralela, se han desarrollado versiones comerciales destinadas a simplificar este procedimiento mediante el uso de reactivos liofilizados preformulados, los cuales ofrecen mayor estabilidad y eliminan la necesidad de preparación manual en el laboratorio. Entre estas alternativas se encuentra RAPIDEC Carba NP (bioMérieux), aprobada por la FDA para su utilización en *Enterobacterales* y *P. aeruginosa*. Asimismo, otras pruebas comerciales como Neo-Rapid Carb Screen, Rapid Carb Blue Screen y β

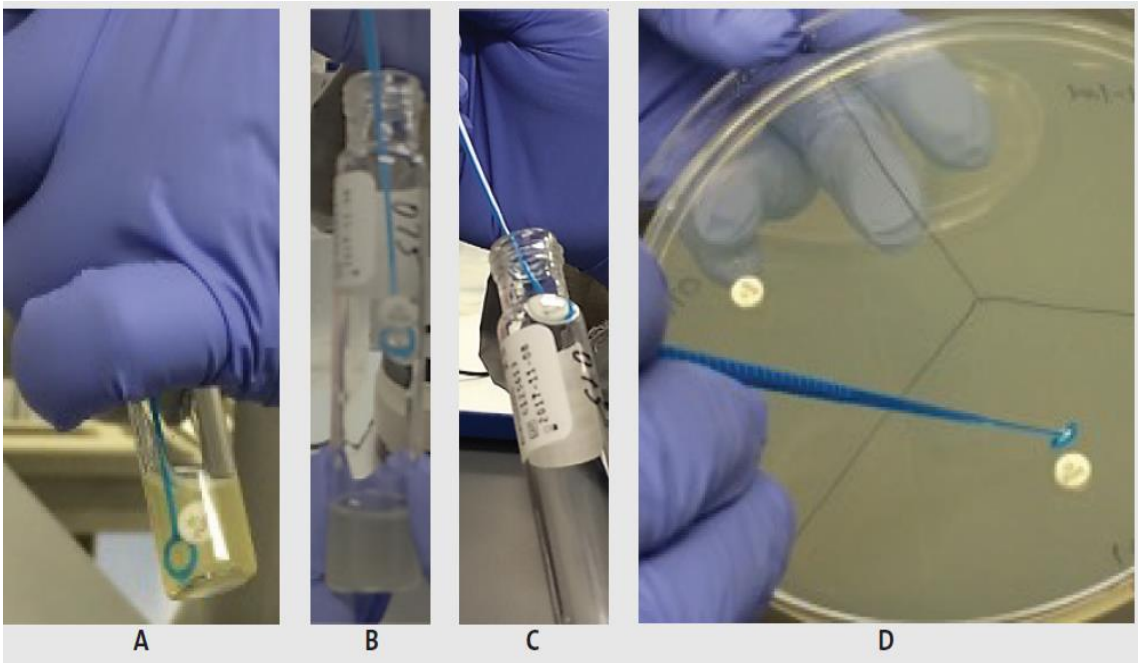
CARBA NP han ampliado las opciones disponibles para la detección rápida de carbapenemasas en el ámbito clínico (Yusuf et al., 2014; Mancini et al., 2017).

- **Método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM) y variantes**

El método modificado de inactivación de carbapenémicos (mCIM) es una adaptación del CIM original, descrito en 2015 y posteriormente respaldado por el CLSI para la evaluación de aislamientos de *Enterobacterales* (CLSI, 2016) y *Pseudomonas aeruginosa* (CLSI, 2017) con sensibilidad reducida a carbapenémicos. El procedimiento consiste en incubar un disco de meropenem en caldo tripticasa de soya inoculado con el aislamiento en estudio durante 4 horas; durante este periodo, los microorganismos productores de carbapenemasas hidrolizan el antibiótico, mientras que aquellos que no producen estas enzimas conservan su actividad, lo que permite su diferenciación (Simmer et al., 2024).

Para evaluar la actividad residual del disco después de la incubación, este se retira del caldo y se coloca sobre una placa de agar Mueller-Hinton previamente inoculada con una cepa indicadora sensible a carbapenémicos, generalmente *E. coli* ATCC 25922. Posteriormente, tras una incubación durante toda la noche, los discos que estuvieron expuestos a microorganismos productores de carbapenemasas presentan poca o ninguna actividad antimicrobiana, debido a la hidrólisis eficiente del meropenem. Como resultado, se observan halos de inhibición reducidos, habitualmente entre 6 y 15 mm, hallazgo compatible con la presencia de actividad carbapenemasa. En cambio, los aislamientos no productores de carbapenemasas conservan la mayor parte de la actividad del antibiótico, produciendo halos ≥19 mm (CLSI, 2017) (figura 13). Este método destaca por su facilidad de ejecución e interpretación, así como por el bajo costo y amplia disponibilidad de los materiales requeridos (discos y caldo), lo que favorece su implementación en la mayoría de los laboratorios. No obstante, su principal limitación es el prolongado tiempo de respuesta (18–24 h) (CLSI, 2017; Simner et al., 2024).

Figura 13 Procedimiento para colocar los discos de meropenem para el mCIM.



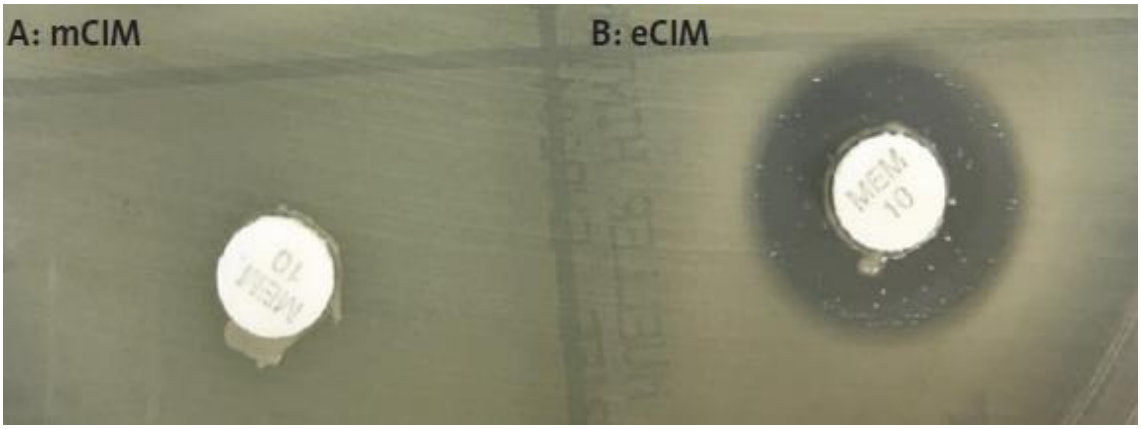
Retire el disco de meropenem con un asa de 10 µL (A) y deslice el asa contra el borde interno del tubo para expulsar cualquier exceso de líquido (B). Utilice la misma asa para retirar el disco del tubo (C) y colóquelo sobre la placa de agar Mueller-Hinton (MHA) (D), previamente inoculada con la cepa indicadora *E. coli* (ATCC® 25922) susceptible a meropenem.

Fuente: CLSI, 2017

Posteriormente, se desarrollaron variantes del mCIM para diferenciar las MBL de las carbapenemasas de serina, incorporando EDTA, un quelante de cationes divalentes que inhibe las MBL. El mCIM con EDTA (eCIM) se realiza en paralelo con el mCIM y solo se interpreta cuando este último es positivo, indicando producción de carbapenemasa. Este método, avalado por el CLSI, se limita a Enterobacterales. El eCIM se considera positivo para MBL cuando la diferencia en los diámetros de inhibición entre mCIM y eCIM es ≥5 mm, lo que refleja la inhibición de la MBL por el EDTA (5 µM) y la consiguiente preservación de la actividad del meropenem. Si la diferencia es ≤4 mm, se interpreta como positivo para carbapenemasa de serina, ya que el EDTA no inhibe eficazmente estas enzimas (CLSI, 2018) (figura 14). Es relevante advertir que pueden obtenerse falsos negativos en el eCIM cuando las cepas coexpresan MBL y

carbapenemasas de serina, dado que estas últimas, al no ser inhibidas por el EDTA, enmascaran la presencia de la MBL (CLSI, 2024).

Figura 14 Interpretación de las pruebas mCIM y eCIM: resultados positivos de mCIM y eCIM



Se observa un resultado positivo en la prueba mCIM con un diámetro de la zona de inhibición de 6 mm (A), junto con un resultado positivo en la prueba eCIM, que presenta un diámetro de zona de 15 mm con presencia de colonias puntiformes dentro de la zona de inhibición (B).

Resultado: mCIM positivo y eCIM positivo.

Informe: detección de metalo-β-lactamasa.

Fuente: CLSI, 2018

Asimismo, se ha observado que ciertas enzimas tipo OXA pueden ser inhibidas por el EDTA, ya que los cationes divalentes contribuyen a estabilizar su forma dimérica más activa. En presencia de EDTA, estas enzimas adoptan una conformación monomérica menos activa, reduciendo su capacidad hidrolítica y pudiendo generar falsos positivos en el eCIM (Segal et al., 2005).

La distinción entre MBL y carbapenemasas de serina tiene relevancia clínica para orientar la terapia según el genotipo de la carbapenemasa, particularmente porque las nuevas combinaciones de β-lactámicos con inhibidores de β-lactamasas (BL–BLI) carecen de actividad frente a productores de MBL. Sin embargo, en regiones donde es frecuente la coinfección con carbapenemasas de serina y MBL, no se recomienda el uso del eCIM (Simner et al., 2024).

4.3 Métodos automatizados para la detección de betalactamasas

Los sistemas automatizados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana permiten detectar fenotípicamente diferentes tipos de β-lactamasas mediante algoritmos interpretativos basados en patrones de resistencia . Estos sistemas emplean paneles con diversos antibióticos y combinaciones con inhibidores, cuyos resultados son analizados por programas expertos integrados (Chan & Leroi, 2021).

El sistema VITEK 1 es un método automatizado empleado para la detección de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), basado en la evaluación simultánea de la actividad de determinadas cefalosporinas en presencia y ausencia de ácido clavulánico. La interpretación de los resultados se realiza mediante un sistema experto computarizado incorporado al analizador, lo que permite una lectura estandarizada y automatizada. La prueba utiliza tarjetas comerciales que incluyen cuatro pocillos con cefotaxima y ceftazidima solas (0,5 mg/mL) y en combinación con ácido clavulánico (4 mg/mL). Después de la inoculación, la tarjeta se introduce en el analizador VITEK 1, donde el sistema determina si el aislamiento es positivo o negativo para BLEE. La interpretación se basa en la reducción del crecimiento bacteriano observada en los pocillos que contienen cefotaxima o ceftazidima asociadas con clavulanato, en comparación con aquellos que contienen únicamente el antimicrobiano. Una disminución significativa del crecimiento en presencia del inhibidor sugiere la producción de BLEE por parte del aislamiento bacteriano evaluado (Das et al., 2023).

La prueba VITEK 2 para la detección de β-lactamasas de BLEE constituye una evolución del sistema VITEK 1, diseñada para optimizar la detección automatizada de estos mecanismos de resistencia. A diferencia de su predecesor, que evalúa únicamente dos antimicrobianos, este sistema analiza tres antibióticos β-lactámicos en presencia y ausencia de ácido clavulánico, lo que incrementa su capacidad discriminatoria y utiliza diferentes tipos de tarjetas comerciales que incluyen combinaciones de antibióticos como cefepima, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona y aztreonam, solos o asociados a clavulanato en concentraciones específicas. Algunas configuraciones han sido validadas para la detección de BLEE en especies clínicamente relevantes como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* (Garrec et al., 2011).

El sistema VITEK 2 ha demostrado una elevada sensibilidad y especificidad para la detección de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), mostrando un rendimiento comparable al de los métodos fenotípicos convencionales utilizados en Enterobacterales (Robin et al., 2008). Además de la automatización del proceso, este sistema incorpora herramientas avanzadas de interpretación, como el sistema experto integrado, capaz de analizar perfiles de concentración inhibitoria mínima (CMI) mediante amplias bases de datos para inferir posibles mecanismos de resistencia bacteriana.

A esto se añaden herramientas complementarias, como el *bioMérieux Advanced Reporting Tool* (bioART), que permiten predecir diferentes clases de carbapenemasas, incluyendo KPC, MBL y OXA-48-like, a partir de patrones de resistencia observados frente a β-lactámicos y sus inhibidores (Chan & Leroi, 2021; Yin et al., 2020).

En este contexto, los Enterobacterales productores de carbapenemasas representan un desafío clínico importante, lo que hace necesario disponer de métodos diagnósticos con alta capacidad de detección. Recientemente, un algoritmo adaptado del CA-SFM basado en datos generados por VITEK 2, que incorpora la evaluación de ceftazidima-avibactam, temocilina y carbapenémicos, mostró una sensibilidad y un valor predictivo negativo del 100 %. Este enfoque superó al algoritmo estándar basado únicamente en las CMI de carbapenémicos, cuya sensibilidad es menor, particularmente en la detección de cepas productoras de OXA-48. Por ello, la implementación de este tipo de estrategias contribuye a optimizar la detección de carbapenemasas y fortalece tanto el control de infecciones como el uso racional de antimicrobianos (Gibert et al., 2026).

El sistema Phoenix ha demostrado una alta precisión en la detección de genes de resistencia a los antimicrobianos, incluyendo BLEE, β-lactamasas tipo AmpC y carbapenemasas en bacterias Gram negativas, entre otros. Su avanzado sistema de gestión de datos facilita la comunicación directa entre los laboratorios y los clínicos. La automatización del sistema ha permitido mejorar la eficiencia del flujo de trabajo mediante la estandarización del inóculo y la eliminación de algunas limitaciones asociadas a los métodos manuales; sin embargo, aún se requieren aislamientos en cultivo puro para la determinación e interpretación de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales tardan entre 6 y 16 horas en generar los resultados de CMI (Salam et al., 2023).

El panel Phoenix para la detección de BLEE está constituido por cinco pocillos que contienen cefpodoxima, ceftazidima, ceftazidima con ácido clavulánico, cefotaxima con ácido clavulánico y ceftriaxona con ácido clavulánico. Tras la inoculación, el panel se introduce en el equipo, donde se realiza el monitoreo continuo del crecimiento bacteriano, y los resultados son interpretados mediante el sistema experto BDXpert. Este sistema aplica reglas de interpretación predefinidas que facilitan la identificación de mecanismos de resistencia. Entre ellas se destacan: (1) las Enterobacteriaceae productoras de BLEE se consideran resistentes a todos los β-lactámicos, excepto a los carbapenémicos; (2) los aislamientos susceptibles a carbapenémicos, pero resistentes a ureidopenicilinas, cefalosporinas de tercera generación, cefpodoxima o aztreonam, también se interpretan como resistentes a otros β-lactámicos, con excepción de los carbapenémicos; y (3) cuando el tamizaje sugiere la posible producción de BLEE, se recomienda realizar pruebas confirmatorias. En caso de un resultado negativo, no se aplica ninguna regla adicional (Sanguinetti et al., 2003).

La tecnología MicroScan representa una de las primeras aproximaciones automatizadas para la determinación de la CIM. El sistema MicroScan WalkAway-96 SI integra procesos de incubación, mantenimiento e interpretación de resultados a partir de paneles deshidratados inoculados e incubados previamente. Dentro de esta plataforma, el panel MicroScan ESBL está diseñado para la confirmación fenotípica de BLEE en *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis*, mediante la comparación de las CIM de cefalosporinas de espectro extendido solas y combinadas con ácido clavulánico. Una reducción ≥3 diluciones en presencia del inhibidor confirma la producción de BLEE. Además, el panel MicroScan ESBL plus amplía la detección al incluir diversos β-lactámicos y otros antimicrobianos con rangos de concentración definidos (Wiegand et al., 2007).

Estos sistemas permiten realizar una identificación presuntiva de distintos mecanismos de resistencia, información que resulta útil para orientar de manera temprana la terapia antimicrobiana y apoyar las estrategias de control de infecciones (Winstanley & Courvalin, 2011).

Sin embargo, también presentan algunas limitaciones. Entre ellas se incluyen la posibilidad de obtener falsos positivos y las dificultades diagnósticas que pueden surgir cuando coexisten múltiples enzimas de resistencia en un mismo aislamiento bacteriano.

Por esta razón, los resultados generados por estos sistemas suelen considerarse pruebas de tamizaje y, en muchos casos, requieren confirmación mediante métodos fenotípicos específicos o técnicas moleculares (Yin et al., 2020).

En comparación con otros sistemas automatizados, como VITEK 2, el sistema MicroScan ha mostrado una elevada concordancia con el método de referencia de microdilución en caldo, alcanzando valores ≥94 % de concordancia categórica y ≥96 % de concordancia esencial, además de una precisión similar para la mayoría de los antibióticos evaluados. No obstante, existen diferencias operativas importantes entre ambos sistemas. Mientras VITEK 2 ofrece resultados en un menor tiempo, MicroScan requiere menos tiempo de preparación manual, lo que demuestra que ambos métodos son confiables, aunque presentan ventajas prácticas distintas según las necesidades y recursos de cada laboratorio (Richter et al., 2025).

4.4 Agares cromogénicos

Se utilizan ampliamente en microbiología clínica como herramientas de tamizaje rápido para la detección de bacterias productoras de β-lactamasas, incluyendo BLEE, AmpC y carbapenemasas como KPC. Estos medios contienen sustratos cromogénicos y antibióticos selectivos que favorecen el crecimiento de microorganismos resistentes, al mismo tiempo que inhiben las bacterias susceptibles. Además, permiten una diferenciación preliminar de especies bacterianas mediante cambios de color en las colonias, lo que facilita la identificación inicial directamente a partir de muestras clínicas (Zhu et al., 2022).

Entre los medios cromogénicos utilizados en microbiología clínica destacan CHROMagar ESBL, diseñado para la detección de Enterobacterales productores de BLEE mediante la incorporación de cefalosporinas de tercera generación que inhiben bacterias susceptibles, y CHROMagar AmpC, empleado para el aislamiento de bacterias productoras de β-lactamasas tipo AmpC plasmídicas. Asimismo, para la detección de Enterobacterales productores de carbapenemasas se han desarrollado medios selectivos como CHROMagar KPC y chromID CARBA SMART, que permiten su identificación tanto en muestras clínicas como en programas de vigilancia microbiológica (Peyroux et al., 2023).

En general, los medios cromogénicos selectivos comerciales utilizados para el cribado de Enterobacterales resistentes a carbapenémicos presentan un costo superior al de los medios selectivos convencionales; sin embargo, ofrecen una interpretación más sencilla de los resultados y, por lo general, una mayor sensibilidad diagnóstica (Viau et al., 2016). Entre los principales medios disponibles se encuentran mSuperCARBA, chromID CARBA, ChromID CARBA SMART, CHROMagar KPC, Remel Spectra CRE, Colorex KPC, RambaCHROM KPC, Brilliance CRE y Hardy CHROM carbapenemase. Además, existen presentaciones en placas dobles (bi-plates), como ChromID CARBA SMART, que combinan en una misma placa los medios ChromID CARBA y ChromID OXA-48, lo que permite ampliar la detección de distintos tipos de carbapenemasas (Girlich et al., 2019).

En este ámbito, medios cromogénicos como Brilliance CRE y Brilliance ESBL destacan por su capacidad para la identificación rápida de bacterias y la detección presuntiva de mecanismos de resistencia, mostrando una buena correlación con la presencia de genes de carbapenemasas, BLEE y AmpC identificados mediante PCR. Asimismo, se ha evidenciado una alta prevalencia de genes de resistencia en *K. pneumoniae*, *E. coli* y *A. baumannii*, incluyendo CTX-M, SHV, TEM, NDM y OXA. No obstante, aunque estos medios permiten una diferenciación rápida de especies, los resultados deben confirmarse mediante métodos fenotípicos validados y técnicas moleculares para una caracterización precisa (Głowacka et al., 2025).

Una ventaja importante de los medios cromogénicos es que permiten combinar el cribado de enterobacterias resistentes a carbapenémicos con una identificación presuntiva del microorganismo aislado, se han demostrado que estos medios presentan, en general, altas sensibilidades y especificidades en diferentes tipos de muestras clínicas, como hisopados rectales, heces, muestras respiratorias, orina y exudados de heridas (Alizadeh et al., 2018).

Sin embargo, algunos medios cromogénicos, como CHROMagar KPC, pueden presentar limitaciones en la detección de cepas productoras de carbapenemasas tipo OXA-48, lo que puede reducir su sensibilidad frente a este tipo de mecanismos de resistencia (Wilkinson et al., 2012). Para superar esta dificultad, se ha propuesto el uso combinado de medios cromogénicos específicos, como ChromID OXA-48, así como de

placas dobles como ChromID CARBA SMART, estrategias que han demostrado mejorar significativamente la capacidad de detección de productores de OXA-48 y otros Enterobacterales resistentes a carbapenémicos (Girlich et al., 2013).

En este escenario, el medio CHROMagar mSuperCARBA ha mostrado un desempeño diagnóstico destacado. Estudios realizados en enterobacterias resistentes a carbapenémicos y en muestras de vigilancia obtenidas mediante hisopados rectales reportaron límites de detección entre 10^1 y 10^2 UFC/mL. Aunque su sensibilidad puede disminuir en cepas productoras de OXA-48 con concentraciones inhibitorias mínimas bajas, los resultados obtenidos evidenciaron valores de sensibilidad y especificidad del 100 % en muestras de vigilancia rectal, respaldando su utilidad en programas de monitoreo microbiológico y control epidemiológico (García-Fernández et al., 2017).

4.5 Métodos genotípicos de susceptibilidad antimicrobiana para bacterias Gram negativas

Los métodos genotípicos utilizados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana se fundamentan en la identificación de genes de resistencia y mutaciones asociadas presentes en el ADN bacteriano, mediante técnicas moleculares de amplificación, análisis y secuenciación. Habitualmente, estas herramientas se emplean como complemento de las pruebas fenotípicas, ya que permiten confirmar con mayor precisión los perfiles de resistencia y susceptibilidad observados en el laboratorio. Entre las principales metodologías destacan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tanto convencional como en tiempo real, la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), los microarreglos de ADN y la secuenciación del genoma completo (Buchan & Ledeboer, 2014).

Estas técnicas ofrecen ventajas importantes, como una detección rápida y altamente específica, además de disminuir la dependencia de cultivos prolongados. Sin embargo, su implementación todavía enfrenta limitaciones relacionadas con la complejidad técnica, los costos y la necesidad de infraestructura especializada. En conjunto, aunque las tecnologías moleculares han avanzado de forma considerable, aún requieren procesos de optimización y mayor accesibilidad. En este sentido, la integración

de automatización, herramientas de aprendizaje automático y sistemas de vigilancia epidemiológica se perfila como una estrategia clave para fortalecer el diagnóstico microbiológico y mejorar el control de la resistencia antimicrobiana (Yamin et al., 2023).

- **PCR multiplex**

Es una técnica eficaz para la detección simultánea de patógenos gramnegativos y sus genes de resistencia, incluidos aquellos asociados a BLEE y carbapenemasas como KPC. Diversos estudios han demostrado que estos sistemas permiten identificar con alta sensibilidad y especificidad bacterias y determinantes de resistencia directamente a partir de muestras clínicas, como hemocultivos positivos, reduciendo significativamente el tiempo diagnóstico en comparación con los métodos convencionales (Tićac et al., 2025).

Entre estas herramientas moleculares, destacan paneles comerciales como BioFire FilmArray AMR, diseñados para detectar de manera simultánea múltiples genes de resistencia antimicrobiana. Su utilidad ha sido especialmente relevante en microorganismos como *E. coli* y *K. pneumoniae*, ya que permiten obtener resultados rápidos que favorecen la optimización temprana del tratamiento antimicrobiano y apoyan la toma de decisiones clínicas oportunas, aunque su desempeño puede variar según el microorganismo analizado (Tićac et al., 2025).

En el caso de *K. pneumoniae*, los genes de resistencia identificados con mayor frecuencia incluyen *blaSHV*, *blaTEM* y *blaCTX-M*, además de carbapenemasas clínicamente relevantes como OXA-48, NDM y KPC, las cuales están estrechamente relacionadas con la expansión de cepas multirresistentes y con importantes desafíos terapéuticos a nivel hospitalario (Huynh et al., 2025).

Asimismo, kits comerciales como AusDiagnostics GN-12 permiten la identificación rápida de patógenos y genes de resistencia en aproximadamente tres horas, siendo especialmente útiles en infecciones polimicrobianas, estas metodologías también facilitan la detección de múltiples genes de resistencia coexistentes en un mismo aislado, lo cual es clave para ajustar de manera oportuna la terapia antimicrobiana (Gülhan et al., 2025).

La resistencia a carbapenémicos en bacterias Gram negativas se ha convertido en un problema creciente de salud pública, debido al aumento de cepas multirresistentes y a las limitadas opciones terapéuticas disponibles. En este contexto, la PCR multiplex se ha consolidado como una herramienta de gran utilidad, ya que permite detectar de forma rápida y simultánea múltiples genes de carbapenemasas, superando varias de las limitaciones asociadas a los métodos fenotípicos convencionales. Además, la frecuente coexistencia de genes como *NDM* y *OXA-48* refleja la complejidad de los mecanismos de resistencia presentes en estos microorganismos y pone de manifiesto la necesidad de mantener una vigilancia continua. Este monitoreo resulta esencial para orientar adecuadamente el tratamiento y optimizar el uso de antibióticos de última línea (Mawla et al., 2024).

En conjunto, los paneles comerciales basados en PCR multiplex representan herramientas fundamentales para el diagnóstico rápido y simultáneo de bacterias Gram negativas y sus principales mecanismos de resistencia. Su implementación contribuye a mejorar el manejo clínico de los pacientes y fortalece las estrategias de control de infecciones en el ámbito hospitalario (Tićac et al., 2025; Gülhan et al., 2025).

- **PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR)**

Es una técnica molecular que permite detectar y cuantificar microorganismos mediante la medición del ADN amplificado durante la reacción, empleando sondas fluorescentes que generan señales detectables en tiempo real. Este enfoque posibilita estimar cantidades relativas o absolutas de microorganismos y agiliza el análisis gracias al monitoreo continuo de la amplificación. En este contexto, la qPCR se ha consolidado como un método altamente eficaz para la detección rápida de genes de resistencia en bacterias Gram negativas, ofreciendo resultados significativamente más rápidos que los métodos convencionales basados en cultivo. Diversos estudios han demostrado que los ensayos de PCR en tiempo real pueden identificar genes de carbapenemasas, como bla_{KPC}, bla_{NDM} y $bla_{\text{OXA-48}}$, con sensibilidad y especificidad del 100 %, directamente a partir de muestras clínicas como sangre u orina en pocas horas, reduciendo el tiempo diagnóstico de días a solo horas (Hoj et al., 2021; Yengui et al., 2022).

Asimismo, los ensayos de qPCR multiplex permiten detectar de manera simultánea múltiples genes de resistencia en una sola prueba, lo que incrementa la eficiencia diagnóstica y facilita una toma de decisiones terapéuticas más rápida y precisa (Hoj et al., 2021).

A este avance se han sumado nuevas plataformas moleculares, como la qPCR basada en perlas liofilizadas y los ensayos de amplificación por polimerasa recombinasa, diseñados para ofrecer formatos más estables, sencillos de utilizar y adecuados para pruebas en el punto de atención. Estas características resultan especialmente valiosas en entornos con recursos limitados, donde el acceso a infraestructura especializada puede ser restringido. En conjunto, estas herramientas moleculares ofrecen ventajas importantes frente a las pruebas fenotípicas tradicionales, principalmente en términos de rapidez y precisión diagnóstica. Su capacidad para identificar tempranamente cepas resistentes contribuye no solo a orientar de manera adecuada la terapia antimicrobiana, sino también a reducir la diseminación nosocomial de microorganismos multirresistentes (Tullayaprayouch et al., 2025).

- **Prueba molecular rápida basada en PCR en tiempo real**

Los ensayos moleculares comerciales automatizados han contribuido de manera significativa a simplificar la detección de la resistencia antimicrobiana, gracias a la implementación de flujos de trabajo estandarizados y de fácil adopción en el laboratorio clínico (Simner et al., 2024).

Dentro de estas plataformas, varias han sido aprobadas por la FDA para la identificación de genes de carbapenemasas a partir de aislados cultivados, entre ellas Xpert Carba-R (Cepheid), Revogene Carba C (anteriormente GenePOC Carba; Meridian Bioscience) y el panel OpGen Acuitas AMR.Estas tecnologías se caracterizan por permitir una detección rápida con mínima intervención manual, sin requerir infraestructura compleja ni personal altamente especializado, lo que amplía su aplicabilidad en diferentes contextos asistenciales. Además, su diseño cerrado contribuye a reducir el riesgo de contaminación cruzada y facilita su implementación en laboratorios clínicos de distintos niveles de complejidad (Traczewski et al., 2018; Khoo et al., 2023).

En cuanto a su desempeño, múltiples estudios han demostrado una alta precisión diagnóstica de estas plataformas. Xpert Carba-R presenta sensibilidades y especificidades superiores al 97 % en aislamientos bacterianos (Khoo et al., 2023), mientras que un metaanálisis reportó una sensibilidad combinada del 100 % y una especificidad del 98 % (Bai et al., 2021). De manera similar, Revogene Carba C ha mostrado sensibilidades entre 93 % y 100 % y una especificidad del 100 % en Enterobacterales, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos, con un rendimiento comparable al de Xpert Carba-R. No obstante, presenta la ventaja de detectar un mayor número de variantes del gen IMP, a diferencia de Xpert Carba-R, que se limita principalmente a la identificación de IMP-1 (Girlich et al., 2020).

En este contexto, el ensayo GenePOC/Revogene Carba C, descrito por Lucena Baeza et al. (2020), corresponde a una prueba diagnóstica in vitro cualitativa aprobada por la FDA, diseñada para la detección de genes asociados a la no susceptibilidad a carbapenémicos en Enterobacterales. Este sistema utiliza PCR en tiempo real basada en fluorescencia sobre una plataforma microfluídica, lo que permite analizar directamente colonias bacterianas sin requerir extracción previa de ADN y obtener resultados en un tiempo aproximado de 70 minutos.

Su rendimiento diagnóstico ha sido ampliamente respaldado en estudios que incluyeron 294 aislamientos clínicos, donde alcanzó una sensibilidad y especificidad del 100 %, con capacidad para detectar de forma eficiente genes de carbapenemasas como KPC, VIM, NDM, OXA-48 y diversas variantes de IMP. En conjunto, estos resultados destacan su elevada precisión, rapidez y utilidad como herramienta para el diagnóstico temprano de la resistencia a carbapenémicos (Lucena Baeza et al., 2020).

De forma complementaria, se han desarrollado estrategias basadas en PCR cuantitativa directa aplicadas a muestras clínicas, como heces o hisopados rectales, que permiten la detección rápida y sensible de carbapenemasas sin necesidad de cultivo previo (Saliba et al., 2020). Aunque estas metodologías pueden implicar mayores costos operativos, su eficiencia puede optimizarse mediante el agrupamiento de muestras en programas de cribado poblacional (Zhang et al., 2022). Sin embargo, el número de plataformas validadas para su uso directo en muestras clínicas aún es limitado, y la mayoría se centra en la detección de los principales genes de carbapenemasa, como blaKPC, blaNDM, blaVIM, blaIMP y blaOXA-48-like (Banerjee et al., 2017).

- **Amplificación isotérmica de ADN**

Las técnicas de amplificación isotérmica representan un avance importante en biología molecular, ya que permiten realizar la amplificación de ácidos nucleicos sin la necesidad de termocicladores, lo que simplifica de forma notable los procesos diagnósticos. Dentro de este grupo se incluyen metodologías como NASBA, SDA, RCA, TMA, RPA, HDA y LAMP (Srivastava & Prasad, 2023).

En este contexto, estas estrategias han facilitado el desarrollo de pruebas rápidas y de alta eficiencia, como el ensayo LAMP aplicado a la detección de A. baumannii resistente a carbapenémicos portador del gen blaOXA-23 (Yamamoto et al., 2015), así como a la identificación simultánea de K. pneumoniae y genes de carbapenemasas en muestras clínicas (Poirier et al., 2022).

De manera complementaria, se ha implementado un método basado en LAMP combinado con cromatografía de ADN para la detección simultánea de cinco genes de carbapenemasas (blaNDM, blaOXA-48-like, blaIMP, blaKPC y blaVIM) en Enterobacterales. Esta técnica permite la visualización directa de los resultados mediante líneas coloreadas y no requiere equipamiento especializado. Además, ha demostrado un excelente desempeño diagnóstico, con una sensibilidad del 100 % y una especificidad superior al 97 % en comparación con la secuenciación, lo que la convierte en una herramienta accesible y eficaz para el diagnóstico rápido y el control de infecciones, especialmente en entornos con recursos limitados (Mikita et al., 2024).

- **Secuenciación del genoma completo (WGS)**

La WGS se ha consolidado como una herramienta fundamental en el abordaje de infecciones causadas por bacterias resistentes, ya que permite identificar patrones emergentes de resistencia y fortalecer la correlación entre genotipo y fenotipo. Aunque su aplicación en tiempo real dentro de la práctica clínica aún es limitada, la evidencia disponible sugiere un alto potencial para optimizar la selección de tratamientos antimicrobianos y reforzar la vigilancia epidemiológica. Sin embargo, su implementación rutinaria requiere el desarrollo de guías estandarizadas que orienten su uso clínico (Giffen & Halpin, 2026).

Esta metodología permite caracterizar de forma integral el resistoma bacteriano, es decir, el conjunto de genes asociados a la resistencia antimicrobiana presentes en un aislado clínico. No obstante, su adopción enfrenta diversas limitaciones, entre ellas los altos costos, la necesidad de personal altamente capacitado en biología molecular y bioinformática, así como la dependencia de bases de datos especializadas para la correcta identificación de los genes de resistencia. Entre las más utilizadas se encuentran ResFinder, la Comprehensive Antimicrobial Resistance Database (CARD), Antibiotic Resistance Gene-ANNOTation y la base de datos de organismos resistentes a antibióticos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Yee & Simner, 2022).

4.6 Métodos de flujo lateral inmunocromatográficos para la detección de betalactamasa

Los ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral (LFA) se han consolidado como herramientas rápidas y costo-efectivas para la detección de β-lactamasas, incluidas carbapenemasas y BLEE, directamente a partir de muestras clínicas como aislamientos bacterianos, hemocultivos u orina. Estos métodos proporcionan resultados en pocos minutos y han demostrado alta sensibilidad y especificidad para determinadas enzimas, como las variantes CTX-M en *E. coli*, lo que los posiciona como una alternativa ágil frente a los métodos de cultivo convencionales y a las técnicas moleculares (Fang et al., 2023). Por ejemplo, el ensayo de flujo lateral RESIST-5 O.K.N.V.I. mostró una elevada concordancia con la PCR y la secuenciación del genoma completo en la detección de genes de β-lactamasas en *E. coli*, aunque su sensibilidad fue menor en *K. pneumoniae* (Ain et al., 2025). Asimismo, la integración de LFA con métodos de amplificación molecular, como LAMP-CRISPR-Cas12a, ha permitido mejorar la sensibilidad y posibilitar la detección directa sin necesidad de cultivo bacteriano (Xu et al., 2022). En conjunto, por su rapidez y facilidad de uso, estos ensayos constituyen una herramienta valiosa para el cribado de resistencia antimicrobiana y el apoyo a los programas de optimización del uso de antimicrobianos, especialmente en entornos con recursos limitados, aunque presentan limitaciones en la detección de algunas variantes de carbapenemasas, como IMP y VIM (Boutal et al., 2022).

Desde el punto de vista técnico, los LFA se basan en el uso de nanopartículas de oro coloidal depositadas en membranas de nitrocelulosa, previamente sensibilizadas con anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítopos específicos de enzimas carbapenemasas. Este principio permite su detección individual o en formato multiplex en dispositivos de flujo lateral, como K-SeT, NDM LFIA o RESIST-5 O.O.K.N.V. (Boutal et al., 2017). Entre los ensayos más utilizados destaca NG-Test Carba 5, aprobado por la FDA, que permite identificar en aproximadamente 15 minutos las cinco principales familias de carbapenemasas (KPC, NDM, VIM, IMP y OXA-48-like) a partir de aislamientos bacterianos (Boutal et al., 2018). En un estudio multicéntrico, este ensayo mostró una concordancia global del 100 % en comparación con un estándar de referencia al analizar aislamientos de Enterobacterales y *P. aeruginosa* cultivados en agar sangre y agar MacConkey (Jenkins et al., 2020). Además, ha demostrado capacidad para detectar aislamientos productores de múltiples carbapenemasas, como combinaciones de NDM y OXA-48-like, sin reactividad cruzada con enzimas, como GES o SME (Chan et al., 2020).

4.7 Métodos proteómicos para la detección de betalactamasas

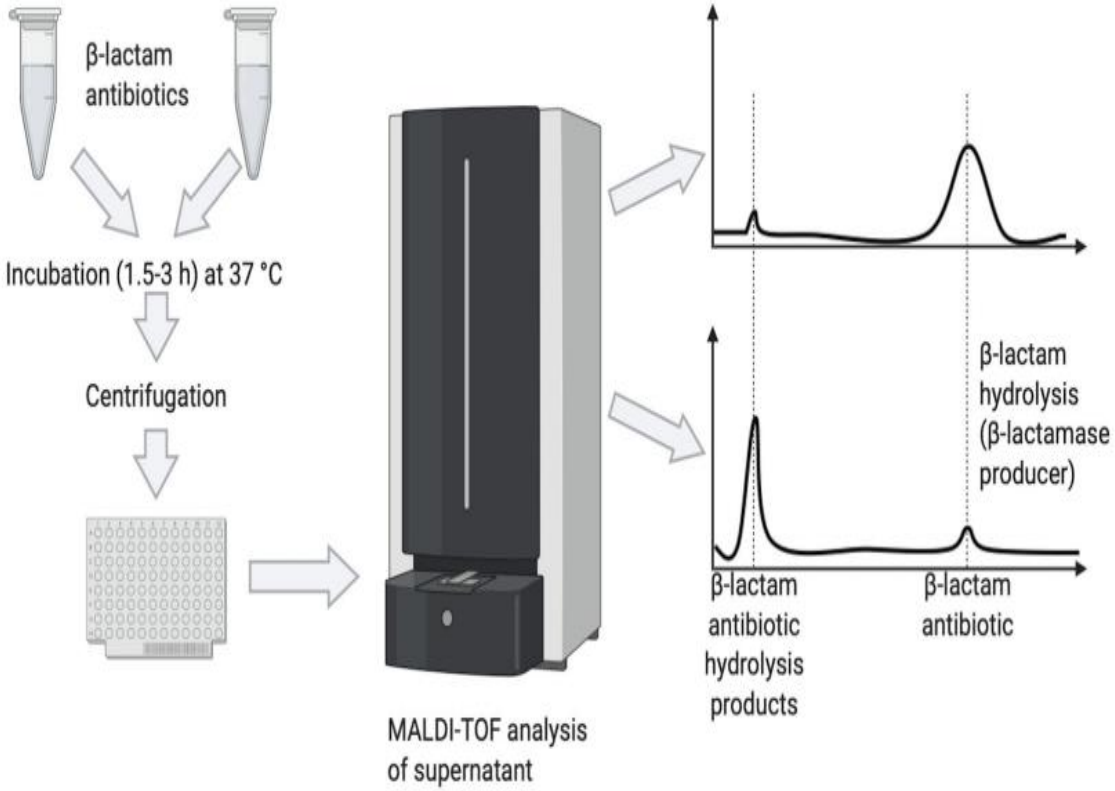
El desarrollo de métodos proteómicos ha permitido importantes avances en la detección rápida de carbapenemasas, β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y enzimas AmpC. Técnicas de espectrometría de masas dirigida, como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y el *parallel reaction monitoring* (PRM), permiten identificar péptidos específicos asociados a enzimas de resistencia directamente a partir de aislados bacterianos en aproximadamente 90 minutos, con alta sensibilidad y especificidad. Entre estas tecnologías destaca el uso de PRM combinado con espectrometría de masas Orbitrap de alta resolución (HRAM-MS), el cual ha demostrado utilidad en la detección rápida de carbapenemasas como KPC, IMP, VIM, NDM y OXA, además de β-lactamasas TEM, CTX-M y AmpC tipo CMY-2 en enterobacterias. La evaluación de 188 cepas de Enterobacteriaceae permitió seleccionar péptidos específicos con elevados niveles de especificidad diagnóstica y desarrollar un método de cribado basado en grupos de péptidos, mejorando la sensibilidad de detección. Estos hallazgos evidencian que la proteómica dirigida mediante PRM constituye una herramienta prometedora para el diagnóstico rápido de mecanismos de resistencia antimicrobiana y el fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica de bacterias multirresistentes (Lu et al., 2022).

De manera complementaria, la espectrometría de masas MALDI-TOF aporta un enfoque fenotípico-proteómico basado en la evaluación de la actividad enzimática bacteriana. En este caso, el método compara los espectros obtenidos antes y después de la exposición del antibiótico a la bacteria, permitiendo evidenciar la hidrólisis del anillo β-lactámico. En condiciones normales, el antibiótico intacto genera un pico característico en el espectro; sin embargo, cuando existen β-lactamasas, este pico tiende a disminuir o incluso desaparecer, mientras que aparecen nuevas señales correspondientes a los productos de degradación. En conjunto, estas variaciones del perfil espectral se consideran un indicador directo de la presencia de carbapenemasas en los aislados bacterianos. Gracias a su rapidez y versatilidad, esta técnica se ha ido incorporando de forma progresiva en los laboratorios clínicos, consolidándose como una herramienta relevante en el diagnóstico microbiológico actual (Florio et al., 2020).

En conjunto, la integración de ensayos fenotípicos con flujos de trabajo proteómicos ha permitido mejorar de manera significativa la precisión diagnóstica, especialmente en la identificación de carbapenemasas (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA), así como de β-lactamasas de espectro extendido (TEM, CTX-M) y AmpC (CMY-2) (Lu et al., 2022).

Si bien los métodos moleculares, como la PCR multiplex, continúan siendo fundamentales para la confirmación genética, los enfoques proteómicos aportan un valor complementario al ofrecer una detección funcional más rápida y, en algunos casos, aplicable directamente a muestras clínicas. En este sentido, estas técnicas se perfilan como herramientas prometedoras para la identificación oportuna y precisa de la resistencia mediada por β-lactamasas, con implicaciones directas en el manejo clínico de los pacientes y el fortalecimiento de las estrategias de control de infecciones (Bou et al., 2014).

Figura 15 Detección de productores de β-lactamasas mediante MALDI-TOF MS.



Fuente: Florio et al. (2020).

4.8 Perspectivas Futuras y Tecnologías Emergentes

- **Enfoque Bioinformático para la Detección de Genes de Resistencia**

La bioinformática integra metodologías computacionales para el análisis de datos genómicos, transcriptómicos y proteómicos, permitiendo predecir e identificar genes de resistencia a antimicrobianos mediante algoritmos que procesan información de bases de datos especializada. Estas herramientas resultan fundamentales para comprender los mecanismos de resistencia, clasificar patógenos y orientar estrategias terapéuticas personalizadas (Ndag et al., 2020).

Técnicas como MALDI-TOF MS acoplada a secuenciación genómica completa (WGS), cada vez más implementadas en laboratorios clínicos, permiten no solo detectar sino también caracterizar en profundidad los mecanismos de resistencia bacteriana. El análisis bioinformático de los datos generados facilita la selección de intervenciones preventivas, de vigilancia y terapéuticas adaptadas a cada contexto clínico (Seoane & Bou, 2021)

Los sistemas de predicción de resistencia incluyen: (i) métodos basados en bases de datos que comparan secuencias con repositorios de conocimiento previo; (ii) enfoques basados en reglas que utilizan inferencia a partir de fenotipos conocidos; y (iii) métodos híbridos que combinan detección basada en conocimiento con algoritmos de aprendizaje automático (Wang et al., 2020). Herramientas como Resfams emplean modelos ocultos de Markov para identificar proteínas de resistencia, incluso con homología lejana. Independientemente del método empleado, toda predicción requiere validación experimental (Ransom et al., 2020).

Las herramientas bioinformáticas aplicadas al análisis de datos de secuenciación suelen trabajar principalmente con dos formatos: lecturas (reads) y ensamblajes genómicos (assemblies). En los enfoques basados en ensamblaje, las secuencias se reconstruyen primero para generar genomas completos o parciales, y posteriormente se comparan con bases de datos de resistencia mediante herramientas como BLAST o modelos ocultos de Markov.

No obstante, la variabilidad existente entre algoritmos y parámetros de análisis como el tamaño del gen o el porcentaje de identidad establecido en BLAST puede influir en la comparabilidad y especificidad de los resultados. A pesar de ello, estos métodos requieren una mayor capacidad computacional, pero ofrecen una ventaja importante: permiten analizar el contexto genómico de los genes de resistencia, incluyendo su asociación con elementos genéticos móviles. Entre los genes frecuentemente identificados se encuentran *blaCTX-M*, *blaNDM*, *mcr-1* y *tet(M)* (Mason et al., 2018).

- **Microfluídica, biosensores y nanotecnología**

Los avances en microfluídica, biosensores, inmunodetección y técnicas de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos han impulsado el desarrollo de nuevas plataformas diagnósticas con un alto potencial para mejorar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Estas tecnologías permiten detectar cambios en parámetros clave como el metabolismo, la movilidad o la actividad térmica de los microorganismos, ofreciendo así una evaluación más dinámica y funcional de la respuesta bacteriana frente a los antimicrobianos (Van Belkum et al., 2019).

En este contexto, un ejemplo representativo es el sistema b-AST, el cual cuantifica moléculas de ARNr 16S mediante un biosensor electroquímico que integra nanotecnología y microfluídica. Gracias a esta combinación, el sistema permite evaluar de forma rápida y precisa el crecimiento bacteriano, aportando información relevante para la determinación de susceptibilidad antimicrobiana (Mach et al., 2011).

Los biosensores y quimiosensores permiten la detección rápida y en tiempo real de múltiples analitos. Mientras los quimiosensores detectan señales producidas por reacciones químicas, los biosensores incorporan un componente biológico acoplado a un transductor fisicoquímico para identificar microorganismos o moléculas específicas (Reynoso et al., 2021).

La detección de la resistencia antimicrobiana mediante sensores puede abordarse desde dos enfoques complementarios. Por un lado, los métodos genotípicos permiten identificar genes de resistencia a partir de bases de datos especializadas como CARD y ResFinder; por otro, los enfoques fenotípicos evalúan directamente la expresión funcional de los mecanismos de resistencia bacteriana, ofreciendo una visión más dinámica del comportamiento microbiano (Pujol-Vila et al., 2020).

En función del tipo de transductor, los biosensores se clasifican en mecánicos, ópticos, térmicos y electroquímicos. Dentro de estos, destacan los sensores ópticos basados en resonancia de plasmones superficiales (SPR), así como los biosensores electroquímicos, los cuales permiten medir señales eléctricas específicas asociadas a la presencia de microorganismos resistentes, facilitando una detección rápida y precisa de la farmacorresistencia (Reynoso et al., 2021).

De manera complementaria, los biosensores magnéticos han demostrado ser útiles para la detección de diversos genes de resistencia antimicrobiana, incluyendo aquellos asociados a penicilinas, tetraciclinas y fluoroquinolonas. Entre los ejemplos más relevantes se encuentran la identificación de *mecA* en *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *blaCTX-M* en *E. coli* (Wang et al., 2018).

Asimismo, se ha propuesto un enfoque innovador basado en microesferas funcionalizadas con vancomicina, diseñadas para capturar bacterias mediante la unión a

residuos D-Ala-D-Ala. Este sistema permite realizar pruebas rápidas de susceptibilidad antimicrobiana y monitoreo in situ, ya que la detección se basa en cambios en la difusividad y el movimiento browniano de las microesferas, los cuales son evaluados mediante microscopía de fluorescencia, posibilitando así la identificación indirecta de los microorganismos (Wang et al., 2018).

Los biosensores ópticos para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana emplean diversas técnicas de transducción, como fluorescencia, colorimetría y resonancia de plasmón superficial (SPR) (Qureshi & Niazi, 2020). Los sensores colorimétricos se caracterizan por su sencillez operativa, su bajo costo y su capacidad de ofrecer una lectura visual directa, lo que los convierte en herramientas especialmente útiles para aplicaciones rápidas. En este tipo de sistemas se emplean indicadores como la resazurina, que cambia de color en función de la actividad metabólica asociada al crecimiento bacteriano, o enzimas como la peroxidasa de rábano (HRP), las cuales permiten realizar mediciones en tiempo real con buena sensibilidad (Zhou et al., 2021).

- **Imagen Fluorescente Directa de Determinantes de Resistencia mediante FRET**

La técnica de FRET con sondas no nucleotídicas ha permitido detectar β-lactamasas TEM-1 mediante el marcaje fluorescente de enzimas producidas exclusivamente por bacterias resistentes (Shao et al., 2013). El sistema utiliza ésteres p-hidroxibencílicos unidos a cefalosporina con fluoróforos inicialmente inhibidos (DABCYL, BHQ2, BHQ3). Tras la hidrólisis enzimática, se genera una eliminación 1,6 que produce intermedios fluorescentes de quinona-metida, los cuales marcan covalentemente a las enzimas sin inhibirlas, permitiendo la amplificación de señal (Cravatt et al., 2008). Se emplearon fluoróforos (fluoresceína, Cy3 y Cy5.5) para facilitar la microscopía y citometría de flujo de alta sensibilidad (Komatsu et al., 2006). La restauración de la fluorescencia permite el cribado directo de cepas resistentes, aunque este método solo se ha evaluado preliminarmente para TEM-1, requiriendo estudios adicionales para su implementación rutinaria (Shao et al., 2013).

- **Secuenciación por Nanoporo**

La secuenciación por nanoporo, particularmente con el dispositivo MinION, ha emergido como una tecnología versátil para la caracterización genómica de bacterias y la detección de resistencia antimicrobiana. Permite determinar la estructura y localización cromosómica de elementos de resistencia microbiana en patógenos como *Salmonella* Typhi (Ashton et al., 2015) y *E. coli* multirresistente, así como identificar elementos móviles con múltiples determinantes de resistencia co-ubicados, mejorando la comprensión sobre su diseminación (Greig et al., 2018). Su capacidad de secuenciación de lectura larga facilita el análisis metagenómico directo en muestras clínicas, logrando identificar infecciones bacterianas y genes de resistencia en orina sin cultivo en menos de cuatro horas (Kubiczek et al., 2017). Además, se ha aplicado con éxito en la detección rápida de plásmidos, fagos, marcadores de virulencia y genes de resistencia en *E. coli* productora de toxina Shiga (González-Escalona et al., 2019) y en hemocultivos positivos (Taxt et al., 2020. En conjunto, la secuenciación por nanoporo ofrece acceso a datos genómicos en tiempo real y revela las bases genéticas de la resistencia, facilitando la comprensión de los mecanismos de adquisición y propagación de resistencia microbiana (Gonzalez-Escalona et al., 2019).

- **PCR Digital (dPCR)**

La PCR digital (dPCR) representa la tercera generación de la PCR y se caracteriza por permitir la cuantificación absoluta de ácidos nucleicos mediante la partición de la reacción en miles de microgotas o nanocámaras. Este principio elimina la necesidad de curvas estándar y, en consecuencia, mejora la precisión, la sensibilidad y la reproducibilidad en comparación con la PCR convencional. Entre sus principales ventajas se incluyen la detección de dianas de baja abundancia, una menor influencia de las variaciones en las condiciones de reacción y su aplicabilidad en áreas como la expresión génica, la cuantificación viral y la identificación de mutaciones.

Desde el punto de vista tecnológico, la dPCR se divide en dos modalidades principales: la PCR digital basada en chip (cdPCR) y la PCR digital basada en gotas (ddPCR). En este contexto, Liu et al. (2023) aplicaron ddPCR multiplexada para el diagnóstico de infecciones del torrente sanguíneo en 76 pacientes pediátricos, logrando la detección simultánea de bacterias, genes de resistencia (blaKPC, mecA, OXA-48, NDM, IMP, vanA, vanM) y virus. Este enfoque mostró una tasa de positividad del 47,9

%, muy superior al 6,6 % del hemocultivo, además de un tiempo de respuesta considerablemente menor (4,7 h frente a 76,7 h) y una sensibilidad del 100 %, con especificidades entre 95,3 % y 100 %.

En la misma línea, la plataforma IC3D (Integrated Comprehensive Droplet Digital Detection) integra ddPCR con un contador de partículas tridimensional, permitiendo la identificación bacteriana directa en sangre total sin necesidad de cultivo. Este sistema ha demostrado capacidad para detectar β-lactamasas de espectro extendido, como la familia blaCTX-M-9, con una sensibilidad de hasta 10 UFC/mL en aproximadamente una hora, lo que la posiciona como una herramienta prometedora para el manejo temprano de la sepsis (Abram et al., 2020).

De forma complementaria, la PCR digital, incluyendo la modalidad multiplex por gotas (mddPCR), se ha aplicado con éxito en la detección rápida y altamente sensible de genes de carbapenemasas en Enterobacterales y otras bacterias. Un ensayo fenomolecular basado en mddPCR permite identificar aislamientos resistentes mediante la detección de ADN bacteriano liberado tras la exposición a antibióticos, alcanzando alta sensibilidad y especificidad en un tiempo aproximado de 3 a 4,5 horas, además de diferenciar tipos específicos de carbapenemasa (Zhang et al., 2025).

Asimismo, la integración de aprendizaje automático con PCR digital multiplex de alto rendimiento ha demostrado mejorar significativamente la precisión en la detección de genes de carbapenemasas en aislamientos clínicos, alcanzando más del 99 % de exactitud sin requerir equipamiento adicional. Finalmente, también se han desarrollado ensayos en tiempo real basados en esta tecnología para la identificación de genes clave como KPC, NDM, OXA-48-like, VIM e IMP, con sensibilidad y especificidad comparables o incluso superiores a los métodos fenotípicos tradicionales (Miglietta et al., 2021; Chamizo-López et al., 2025).

Por otra parte, la PCR digital presenta mayor sensibilidad que la qPCR para detectar genes de carbapenemasas en baja abundancia en muestras ambientales, como aguas residuales hospitalarias, lo que resalta su utilidad en la vigilancia epidemiológica (Erler et al., 2024). En conjunto, estas metodologías permiten una detección rápida, precisa y simultánea de múltiples genes asociados a la resistencia mediada por

carbapenemasas, lo que se traduce en una mejora significativa de la capacidad diagnóstica en el laboratorio clínico. Gracias a ello, se facilita la toma de decisiones terapéuticas oportunas y se fortalecen las estrategias de control y prevención de infecciones (Zhang et al., 2025).

- **Integración de CRISPR-Cas con Aptámeros**

Las tecnologías basadas en CRISPR-Cas y aptámeros han surgido como herramientas innovadoras con gran potencial para el diagnóstico rápido de la resistencia antimicrobiana. En el caso de CRISPR-Cas, se trata de un sistema inmunitario adaptativo de origen procariota que permite la detección altamente específica de ácidos nucleicos mediante el reconocimiento de secuencias PAM, lo que facilita la identificación precisa de polimorfismos y genes asociados a resistencia (Mojica et al., 2009; Hille et al., 2018).

Por su parte, los aptámeros constituyen moléculas capaces de reconocer de forma selectiva productos proteicos derivados de genes de resistencia antimicrobiana. Aunque presentan un gran potencial diagnóstico, aún requieren mejoras en sensibilidad y optimización metodológica para su aplicación más amplia en el ámbito clínico (Kelley, 2017).

Ambas tecnologías ofrecen tiempos de respuesta significativamente más rápidos que los métodos fenotípicos convencionales. Mientras que CRISPR-Cas ya cuenta con aprobación FDA para diagnóstico viral (SARS-CoV-2) y ofrece excelente escalabilidad y multiplexación para vigilancia de farmacorresistencia microbiana, los aptámeros han demostrado utilidad terapéutica con modificaciones químicas que mejoran su estabilidad in vivo (Pereira et al., 2021). Sus propiedades complementarias CRISPR-Cas detecta ácidos nucleicos (existencia de genes) y aptámeros sus productos proteicos (funcionalidad) sugieren que su integración futura podría optimizar el diagnóstico y tratamiento de infecciones resistentes, superando las limitaciones individuales de cada técnica (Kelley, 2017; Pereira et al., 2021).

Un reciente estudio de revisión señala que las tecnologías basadas en CRISPR-Cas representan una alternativa innovadora con potencial para enfrentar Enterobacterales resistentes a carbapenémicos, al permitir la eliminación selectiva de genes de resistencia

localizados en plásmidos, como *blaKPC*, *blaNDM* y *blaOXA-48*. Entre las estrategias descritas se incluyen sistemas CRISPR-Cas9 dirigidos a la eliminación de plásmidos, plataformas basadas en la edición de ARN mediante Cas13a y Cas13d, así como enfoques terapéuticos que emplean bacteriófagos modificados con Cas3. En conjunto, estas herramientas permiten actuar de forma altamente específica sobre determinantes genéticos de resistencia, lo que abre la posibilidad de utilizarlas como complemento de los tratamientos antimicrobianos convencionales. Sin embargo, a pesar de su potencial, su aplicación clínica todavía enfrenta limitaciones importantes, especialmente en lo relacionado con los sistemas de entrega, el rango de hospedadores de los bacteriófagos y la posibilidad de efectos fuera del objetivo, aspectos que deben resolverse antes de su implementación generalizada (Tsolakidou, 2025).

- **Aprendizaje Automático y Análisis Predictivo**

El aprendizaje automático se ha posicionado como una herramienta estratégica en el abordaje de la resistencia microbiana, ya que permite analizar grandes volúmenes de datos genómicos y clínicos para predecir perfiles de resistencia y apoyar la optimización de la terapia antibiótica empírica (Ali et al., 2023). En comparación con los enfoques basados en reglas, estos modelos muestran un mejor desempeño en microorganismos con mecanismos de resistencia complejos, además de haber demostrado su utilidad en el desarrollo de sistemas de apoyo a la toma de decisiones clínicas en tiempo real (Moran et al., 2020; Anahtar et al., 2021).

En este contexto, diversos estudios han aplicado algoritmos como XGBoost, Random Forest y perceptrón multicapa para la predicción de resistencia en patógenos, particularmente bacterias Gram negativas, alcanzando precisiones que oscilan entre el 75 % y el 93 % en entornos hospitalarios y unidades de cuidados intensivos (Moran et al., 2020; Garcia-Vidal et al., 2021; Pascual-Sánchez et al., 2021). Gracias a ello, estas herramientas contribuyen a personalizar tratamientos, reducir el uso innecesario de antibióticos y agilizar los flujos de trabajo clínicos (Garcia-Vidal et al., 2021).

No obstante, su aplicación generalizada aún se ve limitada por la calidad, representatividad y estandarización de los datos utilizados para el entrenamiento de los

modelos, por lo que resulta indispensable una validación rigurosa antes de su incorporación rutinaria en la práctica clínica (Anahtar et al., 2021).

Referencias bibliográficas

Abram, T. J., Cherukury, H., Ou, C.-Y., Vu, T., Toledano, M., Li, Y., Grunwald, J. T., Toosky, M. N., Tifrea, D. F., Slepenkin, A., et al. (2020). Rapid bacterial detection and antibiotic susceptibility testing in whole blood using one-step, high throughput blood digital PCR. *Lab on a Chip*, 20(3), 477–489. https://doi.org/10.1039/C9LC01012E

Abushaheen, M. A., Muzaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., & Vellappally, S. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971. https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971

Acosta, A., Tirkaso, W., Nicolli, F., Van Boeckel, T., Cinardi, G., & Song, J. (2025). The future of antibiotic use in livestock. *Nature Communications*, 16, 1923. https://doi.org/10.1038/s41467-025-56825-7

Agudo, R., & Reche, M. P. (2024). Revealing antibiotic resistance's ancient roots: Insights from pristine ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1445155. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1445155

Ain, N. U., Elton, L., Sadouki, Z., McHugh, T. D., & Riaz, S. (2025). Exploring New Delhi Metallo Beta Lactamases in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli: Genotypic vs. phenotypic insights. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 24(1), 12. https://doi.org/10.1186/s12941-025-00775-x

Aldea, A. C., et al. (2025). Detecting antibiotic resistance: Classical, molecular, advanced bioengineering, and AI-enhanced approaches. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1673343. https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1673343

Ali, T., Ahmed, S., & Aslam, M. (2023). Artificial intelligence for antimicrobial resistance prediction: Challenges and opportunities towards practical implementation. *Antibiotics*, 12(3), 523. https://doi.org/10.3390/antibiotics12030523

Alizadeh, N., Rezaee, M. A., Kafil, H. S., Barhaghi, M. H. S., Memar, M. Y., Milani, M., Hasani, A., & Ghotaslou, R. (2018). Detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae by chromogenic screening media. *Journal of Microbiological Methods*, 153, 40–44. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.09.001

Almatroudi, A. (2025). Biofilm resilience: Molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts. *Biology*, 14(2), 165. https://doi.org/10.3390/biology14020165

Álvarez, J., Fernández Real, J. M., Guarner, F., & Gisbert, J. P. (2021). Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterología y Hepatología*, 44(7), 519–535. https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2020.10.006

Anahtar, M. N., Yang, J. H., & Kanjilal, S. (2021). Applications of machine learning to the problem of antimicrobial resistance: An emerging model for translational research. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(7), e01260-20. https://doi.org/10.1128/JCM.01260-20

Angelini, P. (2024). Plant-derived antimicrobials and their crucial role in combating antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 13(8), 746. https://doi.org/10.3390/antibiotics13080746

Antimicrobial resistance: A silent pandemic. (2024). *Nature Communications*, 15(1), 6198. https://doi.org/10.1038/s41467-024-50457-z

Arcilla, M. S., van Hattem, J. M., Haverkate, M. R., Bootsma, M. C. J., van Genderen, P. J. J., Goorhuis, A., Grobusch, M. P., Lashof, A. M. O., Molhoek, N., Schultsz, C., & COMBAT study group. (2017). Import and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): A prospective, multicentre cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(1), 78–85. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30319-X

Aruhomukama, D. (2020). Review of phenotypic assays for detection of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases: A microbiology laboratory bench guide. *African Health Sciences*, 20(3), 1090–1108. https://doi.org/10.4314/ahs.v20i3.11

Ashton, P. M., Nair, S., Dallman, T., Rubino, S., Rabsch, W., Mwaigwisya, S., Wain, J., & O'Grady, J. (2015). MinION nanopore sequencing identifies the position and structure of a bacterial antibiotic resistance island. *Nature Biotechnology*, 33(3), 296–300. https://doi.org/10.1038/nbt.3103

Babiker, A., Brink, C., Lohsen, S., Van Riel, J., Strudwick, A. F., Kraft, C. S., Satola, S. W., Konstantinidis, K., & Woodworth, M. H. (2025). Engraftment of donor-derived anaerobic taxa and durable long-term multidrug resistant organism decolonization following fecal microbiota transplantation. *Open Forum Infectious Diseases*, 12(Suppl. 1), ofae631.145. https://doi.org/10.1093/ofid/ofae631.145

Bai, Y., Hao, Y., Shao, C., Wang, Y., & Jin, Y. (2021). Accuracy of Xpert Carba-R assay for the diagnosis of carbapenemase-producing organisms from rectal swabs and clinical

isolates. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 23(11), 1534–1544. https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2021.08.006

Balea, L., Gulestø, R., Xu, H., & Glasdam, S. (2025). Physicians', pharmacists', and nurses' education of patients about antibiotic use and antimicrobial resistance in primary care settings: A qualitative systematic literature review. *Frontiers in Antibiotics*, 3, 1507868. https://doi.org/10.3389/frabi.2024.1507868

Banerjee, R., & Humphries, R. (2017). Clinical and laboratory considerations for the rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence*, 8(4), 427–439. https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1185577

Bava, R., Castagna, F., & Lupia, T. (2024). Antimicrobial resistance: A One Health perspective. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 37, 123–130. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.03.015

Bhatia, R. (2019). Implementation framework for One Health approach. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(3), 329–331. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1517_18

Boutal, H., Moguet, C., Pommiès, L., Simon, S., Naas, T., & Volland, H. (2022). The revolution of lateral flow assay in the field of AMR detection. *Diagnostics*, 12(7), 1744. https://doi.org/10.3390/diagnostics12071744

Boutal, H., Naas, T., Devilliers, K., Oueslati, S., Dortet, L., Bernabeu, S., Simon, S., & Volland, H. (2017). Development and validation of a lateral flow immunoassay for rapid detection of NDM-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(7), 2018–2029. https://doi.org/10.1128/JCM.00248-17

Boutal, H., Vogel, A., Bernabeu, S., Devilliers, K., Creton, E., Cotellon, G., Plaisance, M., Oueslati, S., Dortet, L., Jousset, A., Simon, S., Naas, T., & Volland, H. (2018). A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(4), 909–915. https://doi.org/10.1093/jac/dkx521

Buchan, B. W., & Ledeboer, N. A. (2014). Emerging technologies for the clinical microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 783–822. https://doi.org/10.1128/CMR.00003-14

Butler, M. S., Vollmer, W., Goodall, E. C. A., Capon, R. J., Henderson, I. R., & Blaskovich, M. A. T. (2024). A review of antibacterial candidates with new modes of action. *ACS Infectious Diseases*, 10(10), 3440–3474. https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00218

Cameron, A., Esiovwa, R., Connolly, J., Hursthouse, A., & Henriquez, F. (2022). Antimicrobial resistance as a global health threat: The need to learn lessons from the COVID-19 pandemic. *Global Policy*, 13(2), 179–192. https://doi.org/10.1111/1758-5899.13049

Castanon, J. I. (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86(11), 2466–2471. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00249

Cella, E., Giovanetti, M., Benedetti, F., Scarpa, F., Johnston, C., Borsetti, A., Ceccarelli, G., Azarian, T., Zella, D., & Ciccozzi, M. (2023). Joining forces against antibiotic resistance: The One Health solution. *Pathogens*, 12(9), 1074. https://doi.org/10.3390/pathogens12091074

Chakraborty, A., Diwan, A., & Tatake, J. (2023). Prospect of nanomaterials as antimicrobial and antiviral regimen. *AIMS Microbiology*, 9(3), 444–466. https://doi.org/10.3934/microbiol.2023024

Chamizo-López, F. J., Gutiérrez-Fernández, J., Rojo-Martín, M. D., Borrego-Alcaide, A. B., González-Hevilla, A., Lara-Oya, A., Palop-Borrás, B., Navarro-Marí, J. M., & Pérez-Ruiz, M. (2025). Development and validation of a multiplex real-time PCR assay for rapid screening of main carbapenemase genes in clinical isolates and surveillance samples. *Antibiotics*, 14(4), 363. https://doi.org/10.3390/antibiotics14040363

Chan, E., & Leroi, M. (2021). Evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System performance for predicting resistance mechanisms in Enterobacterales acquired from a hospital-based screening program. *Pathology*, 53(6), 763–767. https://doi.org/10.1016/j.pathol.2021.01.009

Chastre, J., François, B., Bourgeois, M., Komnos, A., Ferrer, R., Rahav, G., & De Schryver, N. (2022). Safety, efficacy, and pharmacokinetics of gremubamab (MEDI3902), an anti-Pseudomonas aeruginosa bispecific human monoclonal antibody, in P. aeruginosa-colonised, mechanically ventilated intensive care unit patients: A randomised controlled trial. *Critical Care*, 26(1), 355. https://doi.org/10.1186/s13054-022-04204-9

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (26th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (27th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (28th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (34th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2025). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (35th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Contarin, R., Drapeau, A., François, P., Madec, J. Y., Haenni, M., & Dordet-Frisoni, E. (2024). The interplay between mobilome and resistome in *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 15, e02428-24. https://doi.org/10.1128/mbio.02428-24

Cravatt, B. F., Wright, A. T., & Kozarich, J. W. (2008). Activity-based protein profiling: From enzyme chemistry to proteomic chemistry. *Annual Review of Biochemistry*, 77, 383–414. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.101304.124125

Cross, B., Partridge, S., & Sheppard, A. (2025). Impacts of mobile genetic elements on antimicrobial resistance genes in gram-negative pathogens: Current insights and genomic approaches. *Microbiological Research*, 302, 128340. https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128340

Dabuo, B., Abubakari, A., Sankah, F., & Aryee, H. (2025). Antibiotics and antimicrobial resistance genes in a gut microbiota as a reservoir—A review. *Advanced Gut & Microbiome Research*, 6574751. https://doi.org/10.1155/agm3/6574751

Das, P., Mahapatra, D., & Mazumder, S. S. (2023). A guide towards the phenotypic detection of extended-spectrum β-lactamases production in Enterobacteriaceae: Alone or in presence of other interfering enzymes. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 17(3), 1410–1421. https://doi.org/10.22207/JPAM.17.3.31

Dortet, L., Poirel, L., Errera, C., & Nordmann, P. (2014). CarbAcineto NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Acinetobacter spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(7), 2359–2364. https://doi.org/10.1128/JCM.00594-14

Dutescu, I. A., & Hillier, S. A. (2021). Encouraging the development of new antibiotics: Are financial incentives the right way forward? A systematic review and case study. *Infection and Drug Resistance*, 14, 415–434. https://doi.org/10.2147/IDR.S287788

Elfadadny, A., Ragab, R., Alharbi, M., Badshah, F., Ibáñez-Arancibia, E., Farag, A., Hendawy, A., De Los Ríos-Escalante, P., Aboubakr, M., Zakai, S., & Nageeb, W. (2024). Antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa: Navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1374466. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1374466

Elshobary, M., Badawy, N., Ashraf, Y., Zatioun, A., Masriya, H., Ammar, M., Mohamed, N., Mourad, S., & Assy, A. (2025). Combating antibiotic resistance: Mechanisms, multidrug-resistant pathogens, and novel therapeutic approaches: An updated review. *Pharmaceuticals*, 18(3), 402. https://doi.org/10.3390/ph18030402

Emons, M., Blanquart, F., & Lehtinen, S. (2025). The evolution of antibiotic resistance in Europe, 1998–2019. *PLOS Pathogens*, 21(4), e1012945. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012945

Erler, T., Droop, F., Lübbert, C., Knobloch, J., Carlsen, L., Papan, C., Schwanz, T., Zweigner, J., Dengler, J., Hoffmann, M., Mutters, N., & Savin, M. (2024). Analysing carbapenemases in hospital wastewater: Insights from intracellular and extracellular DNA using qPCR and digital PCR. *The Science of the Total Environment*, 175344. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175344

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2024). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters* (Version 14.0). http://www.eucast.org

Falanga, A., Lombardi, L., Franci, G., Vitiello, M., Iovene, M. R., Morelli, G., Galdiero, M., & Galdiero, S. (2016). Marine antimicrobial peptides: Nature provides templates for the design of novel compounds against pathogenic bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 785. https://doi.org/10.3390/ijms17050785

Fallah, T., & Shafiei, M. (2024). Comprehensive analysis of CRISPR-Cas systems and their influence on antibiotic resistance in Salmonella enterica strains. *Bioinformatics and Biology Insights*, 18, 11779322241307984. https://doi.org/10.1177/11779322241307984

Fang, H., Lee, C., Cao, H., Jiang, S., So, S., Tse, C., Cheng, V., & Ho, P. (2023). Evaluation of a lateral flow immunoassay for rapid detection of CTX-M producers from blood cultures. *Microorganisms*, 11(1), 128. https://doi.org/10.3390/microorganisms11010128

Fatima, M., Amin, A., Alharbi, M., Ishtiaq, S., Sajjad, W., Ahmad, F., Ahmad, S., Hanif, F., Faheem, M., & Khalil, A. A. K. (2023). Quorum quenchers from Reynoutria japonica in the battle against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Molecules*, 28(6), 2635. https://doi.org/10.3390/molecules28062635

Fatokun, O., Selvaraja, M., Anuar, H., Jamaluddin, T., Ismail, S., Mansor, R., Shah, S., & Oranye, N. (2024). Antimicrobial resistance at the human–animal–environment interface: A focus on antimicrobial-resistant Escherichia coli transmission dynamics, clinical implications, and future directions. *International Journal of One Health*, 10(2), 161–171. https://doi.org/10.14202/ijoh.2024.161-171

Ferdinand, A. S., Coppo, M. J. C., Howden, B. P., & Browning, G. F. (2023). Tackling antimicrobial resistance by integrating One Health and the Sustainable Development Goals. *BMC Global and Public Health*, 1(1), 11. https://doi.org/10.1186/s44263-023-00003-8

Ferraz, M. P. (2024). Antimicrobial resistance: The impact from and on society according to One Health approach. *Societies*, 14(9), 187. https://doi.org/10.3390/soc14090187

Florio, W., Baldeschi, L., Rizzato, C., Tavanti, A., Ghelardi, E., & Lupetti, A. (2020). Detection of antibiotic-resistance by MALDI-TOF mass spectrometry: An expanding area. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 572909. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572909

François, B., Luyt, C.-E., Dugard, A., Wolff, M., Diehl, J.-L., Jaber, S., & Gibot, S. (2012). Safety and pharmacokinetics of an anti-PcrV PEGylated monoclonal antibody fragment in mechanically ventilated patients colonized with Pseudomonas aeruginosa: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Critical Care Medicine*, 40(8), 2320–2326. https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31825334f6

Gajić, I., Tomić, N., Luković, B., Jovićević, M., Kekić, D., Petrovic, M., Janković, M., Trudic, A., Ćulafić, D., Milenković, M., & Opavski, N. (2025). A comprehensive overview of antibacterial agents for combating multidrug-resistant bacteria: The current landscape, development, future opportunities, and challenges. *Antibiotics*, 14(3), 221. https://doi.org/10.3390/antibiotics14030221

García-Fernández, S., Hernández-García, M., Valverde, A., Ruiz-Garbajosa, P., Morosini, M. I., & Cantón, R. (2017). CHROMagar mSuperCARBA performance in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates characterized at molecular level and routine

surveillance rectal swab specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 87(3), 207–209. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.11.014

Garcia-Vidal, C., Puerta-Alcalde, P., Cardozo, C., Orellana, M. A., Besanson, G., Lagunas, J., Marco, F., Del Rio, A., Martínez, J. A., & Chumbita, M. (2021). Machine learning to assess the risk of multidrug-resistant Gram-negative bacilli infections in febrile neutropenic hematological patients. *Infectious Diseases and Therapy*, 10(2), 971–983. https://doi.org/10.1007/s40121-021-00425-5

Garrec, H., Drieux-Rouzet, L., Golmard, J. L., Jarlier, V., & Robert, J. (2011). Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(3), 1048–1057. https://doi.org/10.1128/JCM.02130-10

Gauba, A., & Rahman, K. M. (2023). Evaluation of antibiotic resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 12(11), 1590. https://doi.org/10.3390/antibiotics12111590

Gibert, C., Rasigade, J. P., Salka, W., Roussel-Gaillard, T., Dupieux-Chabert, C., Laurent, F., Vandenesch, F., Lina, G., Dortet, L., & Dauwalder, O. (2026). Adaptation and performance evaluation of the French society of microbiology algorithm for detection of carbapenemase-producing enterobacterales using VITEK2 antibiotic susceptibility testing system. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 45(1), 173–183. https://doi.org/10.1007/s10096-025-05285-4

Giffen, S., & Halpin, A. (2026). P-1791. Understanding clinical application of whole genome sequencing for antimicrobial resistance. *Open Forum Infectious Diseases*, 13(Suppl. 1). https://doi.org/10.1093/ofid/ofaf695.1960

Gillieatt, B., & Coleman, N. V. (2024). Unravelling the mechanisms of antibiotic and heavy metal resistance co-selection in environmental bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(4), fuae017. https://doi.org/10.1093/femsre/fuae017

Girlich, D., Grosperrin, V., Naas, T., & Dortet, L. (2019). CHROMagar™ ESBL/mSuperCARBA bi-plate medium for detection of ESBL- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from spiked stools. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 95(2), 107–112. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.05.002

Girlich, D., Laguide, M., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Evaluation of the Revogene Carba C assay for detection and differentiation of carbapenemase-producing Gram-negative

bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(4), e01927-19. https://doi.org/10.1128/JCM.01927-19

Girlich, D., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of Enterobacteriaceae with reduced susceptibility to carbapenems. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75(2), 214–217. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.10.006

Głowacka, P., Marczuk, I., Wójcicka, P., Ogórkiewicz, M., Ciesielska, M., Żakowska, D., Rutyna, P., Koszczyńska, A., Łączyńska, M., Podsiadły, N., Paziewska, E., & Cieśluk-Olchowska, B. (2025). Analysis of the concordance between the use of phenotypic screening tests with the β-lactamase gene profile in selected Gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 14(12), 1275. https://doi.org/10.3390/antibiotics14121275

Glupczynski, Y., et al. (2016). Evaluation of two new commercial immunochromatographic assays for the rapid detection of OXA-48 and KPC carbapenemases from cultured bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(5), 1217–1222. https://doi.org/10.1093/jac/dkv472

Gollan, B., Grabe, G., Michaux, C., & Helaine, S. (2019). Bacterial persisters and infection: Past, present, and progressing. *Annual Review of Microbiology*, 73, 359–385. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115650

Golli, A. L., Popa, S. G., Ghenea, A. E., & Turcu, F. L. (2025). The impact of the COVID-19 pandemic on the antibiotic resistance of Gram-negative pathogens causing bloodstream infections in an intensive care unit. *Biomedicines*, 13(2), 379. https://doi.org/10.3390/biomedicines13020379

Gomes, D., Santos, R., Soares, R. S., Reis, S., Carvalho, S., Rego, P., Peleteiro, M. C., Tavares, L., & Oliveira, M. (2020). Pexiganan in combination with nisin to control polymicrobial diabetic foot infections. *Antibiotics*, 9(3), 128. https://doi.org/10.3390/antibiotics9030128

González-Escalona, N., Allard, M. A., Brown, E. W., Sharma, S., & Hoffmann, M. (2019). Nanopore sequencing for fast determination of plasmids, phages, virulence markers, and antimicrobial resistance genes in Shiga toxin-producing Escherichia coli. *PLoS ONE*, 14(7), e0220494. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220494

Greene, A. C. (2018). CRISPR-based antibacterials: Transforming bacterial defense into offense. *Trends in Biotechnology*, 36(2), 127–130. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.10.010

Greig, D. R., Dallman, T. J., Hopkins, K. L., & Jenkins, C. (2018). MinION nanopore sequencing identifies the position and structure of bacterial antibiotic resistance determinants in a multidrug-resistant strain of enteroaggregative Escherichia coli. *Microbial Genomics*, 4(10), e000213. https://doi.org/10.1099/mgen.0.000213

Gülhan, B., Çikman, A., Aydin, M., Hasbek, M., Özekinci, T., Akyüz, S., & Karakeçili, F. (2025). Rapid detection of pathogens and resistance genes grown in blood cultures with two multiplex tandem real-time PCR kits. *Infectious Diseases & Clinical Microbiology*, 7, 37–46. https://doi.org/10.36519/idcm.2025.465

Gupta, G., Tak, V., & Mathur, P. (2014). Detection of AmpC β lactamases in Gram-negative bacteria. *Journal of Laboratory Physicians*, 6(1), 1–6. https://doi.org/10.4103/0974-2727.129082

Halawa, E., Fadel, M., Al-Rabia, M., Behairy, A., Nouh, N., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A., El-Nablaway, M., & Abdeen, A. (2024). Antibiotic action and resistance: Updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1305294. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294

Harrison, P. F., Caliendo, A. M., Ginocchio, C. C., Versalovic, J., Burnham, C. A., Carroll, K. C., Patel, R., Richter, S. S., Humphries, R. M., & Beavis, K. G. (2023). Rapid diagnostics in antibiotic prescribing decisions. *Journal of Clinical Medicine*, 12(8), 2789. https://doi.org/10.3390/jcm12082789

Helaine, S., Conlon, B., Davis, K., & Russell, D. (2024). Host stress drives tolerance and persistence: The bane of antimicrobial therapeutics. *Cell Host & Microbe*, 32(6), 852–862. https://doi.org/10.1016/j.chom.2024.04.019

Hetta, H. F., Ramadan, Y. N., Al-Harbi, A. I., Ahmed, E. A., Battah, B., Abd Ellah, N. H., Zanetti, S., & Donadu, M. G. (2023). Nanotechnology as a promising approach to combat multidrug resistant bacteria: A comprehensive review and future perspectives. *Biomedicines*, 11(2), 413. https://doi.org/10.3390/biomedicines11020413

Hetta, H. F., Ramadan, Y. N., Rashed, Z. I., Alharbi, A. A., Alsharef, S. M., Alkindy, T. T., Alkhamali, A. A., Albalawi, A. E., Battah, B., & Donadu, M. G. (2024). Quorum sensing inhibitors: An alternative strategy to win the battle against multidrug-resistant (MDR) bacteria. *Molecules*, 29(15), 3466. https://doi.org/10.3390/molecules29153466

Hille, F., Richter, H., Wong, S. P., Bratovič, M., Ressel, S., & Charpentier, E. (2018). The biology of CRISPR-Cas: Backward and forward. *Cell*, 172(6), 1239–1259. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.032

Hoj, T. R., McNeely, B., Webber, K., Welling, E., Pitt, W. G., Ford, L. C., & Robison, R. A. (2021). A pentaplex real-time PCR assay for rapid identification of major beta-lactamase genes KPC, NDM, CTX, CMY, and OXA-48 directly from bacteria in blood. *Journal of Medical Microbiology*, 70(12), 001465. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001465

Horizon Europe Programme. (2024). *Clinical validation of an antibiotic-resistant bacteria global vaccine platform through the first vaccine against Klebsiella pneumoniae (K-VAX)*. CORDIS European Commission. https://cordis.europa.eu/project/id/101189068

Huynh, M. T., Jusselme, M. D., Van Pham, H., Nguyen, T. D., & Chau, M. Q. (2025). Characterization of phenotypic and genotypic traits of Klebsiella pneumoniae strains resistant to 3rd generation cephalosporins in hospital settings: A case study in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 396. https://doi.org/10.1007/s11033-025-10493-4

Jacobowski, A., De Araújo Boleti, A., Cruz, M., Santos, K., De Andrade, L., Frihling, B., Migliolo, L., Paiva, P., Teodoro, P., Teodoro, L., & Macedo, M. (2025). Combating antimicrobial resistance: Innovative strategies using peptides, nanotechnology, phages, quorum sensing interference, and CRISPR-Cas systems. *Pharmaceuticals*, 18(8), 1119. https://doi.org/10.3390/ph18081119

Jain, A. A., Mahajan, M. S., Upaganlawar, A. B., & Upasani, C. D. (2024). Impact of antimicrobial resistance in health and economic outcomes: A review. *Advances in Pharmacology and Clinical Trials*, 9(2), 1–10. https://doi.org/10.23880/apct-16000234

Jault, P., Leclerc, T., Jennes, S., Pirnay, J. P., Que, Y.-A., Resch, G., & Gabard, J. (2019). Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by Pseudomonas aeruginosa (PhagoBurn): A randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(1), 35–45. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30482-1

Jenkins, S., Ledeboer, N. A., Westblade, L. F., Burnham, C. A., Faron, M. L., Bergman, Y., Yee, R., Mesich, B., Gerstbrein, D., Wallace, M. A., Robertson, A., Fauntleroy, K. A., Klavins, A. S., Malherbe, R., Hsiung, A., & Simner, P. J. (2020). Evaluation of NG-Test Carba 5 for rapid phenotypic detection and differentiation of five common carbapenemase families: Results of a multicenter clinical evaluation. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(7), e00344-20. https://doi.org/10.1128/JCM.00344-20

Jha, S. S., Lahiri, A., Dobe, M., Mukherjee, B., Raj, A., Banik, A., & Taklikar, C. (2025). Community-based intervention to address antibiotic resistance: Protocol for an embedded mixed-methods intervention trial. *BMJ Public Health*, 3(2), e001308. https://doi.org/10.1136/bmjph-2024-001308

Jiang, Z., Vasil, A. I., Hale, J. D., Hancock, R. E. W., Vasil, M. L., & Hodges, R. S. (2008). Effects of net charge and the number of positively charged residues on the biological activity of amphipathic alpha-helical cationic antimicrobial peptides. *Biopolymers*, 90(3), 369–383. https://doi.org/10.1002/bip.20911

Kˇrižkovska, B., Hoang, L., Brdova, D., Klementova, K., Szemeredi, N., Louˇckova, A., Kronusova, O., Spengler, G., Kaštanek, P., Hajšlova, J., & Ruml, T. (2023). Modulation of the bacterial virulence and resistance by well-known European medicinal herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 312, 116484. https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116484

Kadkhoda, H., Gholizadeh, P., Samadi Kafil, H., Ghotaslou, R., Pirzadeh, T., Ahangarzadeh Rezaee, M., Nabizadeh, E., Feizi, H., & Aghazadeh, M. (2025). Relationship between CRISPR-Cas (adaptive immunity of bacteria) and antibiotic resistance. *Pharmaceuticals*, 18(3), 402. https://doi.org/10.3390/ph18030402

Kamruzzaman, M., & Iredell, J. R. (2020). CRISPR-Cas system in antibiotic resistance plasmids in Klebsiella pneumoniae. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2934. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02934

Kariyawasam, R. M., Julien, D. A., Jelinski, D. C., Larose, S. L., Rennert-May, E., Conly, J. M., Dingle, T. C., Chen, J. Z., Tyrrell, G. J., & Ronksley, P. E. (2022). Antimicrobial resistance (AMR) in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis (November 2019–June 2021). *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 11(1), 45. https://doi.org/10.1186/s13756-022-01085-z

Katz, S., & Banerjee, R. (2024). Use of antibiotics in animal agriculture: Implications for pediatrics: Technical report. *Pediatrics*, 153(5), e2024068467. https://doi.org/10.1542/peds.2024-068467

Kelley, S. O. (2017). What are clinically relevant levels of cellular and biomolecular analytes? *ACS Sensors*, 2(2), 193–197. https://doi.org/10.1021/acssensors.6b00691

Khalil, T., Okla, M. K., Al-Qahtani, W. H., Ali, F., Zahra, M., Shakeela, Q., Ahmed, S., Akhtar, N., AbdElgawad, H., Asif, R., & Alwasel, Y. (2024). Tracing probiotic producing bacterial species from gut of buffalo (Bubalus bubalis), South-East-Asia. *Brazilian Journal of Biology*, 84, e259094. https://doi.org/10.1590/1519-6984.259094

Khoo, B. Y., Hon, P. Y., Leong, J., Sai Rama Sridatta, P., Thevasagayam, N. M., Loy, S. Q. D., Chua, J. J. Y., Ang, B. S. P., Chow, A., Marimuthu, K., De, P. P., Ng, O. T., & Vasoo, S. (2023). Evaluation of NG-Test CARBA 5 version 2, Cepheid Xpert CARBA-R, and carbapenem inactivation methods in comparison to whole-genome sequencing for the identification of carbapenemases in non-fermenting Gram-negative bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 61(5), e0031623. https://doi.org/10.1128/jcm.00316-23

Kim, K. O., & Gluck, M. (2019). Fecal microbiota transplantation: An update on clinical practice. *Clinical Endoscopy*, 52(2), 137–143. https://doi.org/10.5946/ce.2019.009

Komatsu, T., Kikuchi, K., Takakusa, H., Hanaoka, K., Ueno, T., Kamiya, M., Urano, Y., & Nagano, T. (2006). Design and synthesis of an enzyme activity-based labeling molecule with fluorescence spectral change. *Journal of the American Chemical Society*, 128(50), 15946–15947. https://doi.org/10.1021/ja065503i

Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria. *Cell Host & Microbe*, 25(2), 219–232. https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014

Krishnan, A., Anahtar, M., Valeri, J., Jin, W., Donghia, N., Sieben, L., Luttens, A., Zhang, Y., Modaresi, S., Hennes, A., Fromer, J., Bandyopadhyay, P., Chen, J., Rehman, D., Desai, R., Edwards, P., Lach, R., Aschtgen, M., Gaborieau, M., ... Collins, J. (2025). A generative deep learning approach to de novo antibiotic design. *Cell*, 188(22), 6124–6141. https://doi.org/10.1016/j.cell.2025.07.033

Kubiczek, C., Bodenberger, N., & Rosenau, F. (2017). Aptamers as promising agents in diagnostic and therapeutic applications. In A. Méndez-Vilas (Ed.), *Antimicrobial*

research: Novel bioknowledge and educational programs (pp. 368–378). Formatex Research Center.

Laur, C., Sribaskaran, T., Simeoni, M., Desveaux, L., Daneman, N., Mulhall, C., Lam, J., & Ivers, N. M. (2021). Improving antibiotic initiation and duration prescribing among nursing home physicians using an audit and feedback intervention: A theory-informed qualitative analysis. *BMJ Open Quality*, 10(1), e001088. https://doi.org/10.1136/bmjoq-2020-001088

Lawrence, J., et al. (2024). Innovative approaches in phenotypic beta-lactamase detection for personalised infection management. *Nature Communications*, 15, 9070. https://doi.org/10.1038/s41467-024-53192-7

Levin-Reisman, I., Ronin, I., Gefen, O., Braniss, I., Shoresh, N., & Balaban, N. Q. (2017). Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. *Science*, 355(6327), 826–830. https://doi.org/10.1126/science.aaj2191

Lezameta, L., Gonzáles-Escalante, E., & Tamariz, J. H. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(3), 345–351. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000300006

Li, Y., Xue, S., Min, H., Chen, C., Lu, L., Chen, Z., Shan, H., Yin, F., & Yu, X. (2025). Mesoporous Fe3O4 nanoparticles loaded with IR-820 for antibacterial activity via magnetic hyperthermia combined with photodynamic therapy. *Advanced Healthcare Materials*, 14(5), 2500964. https://doi.org/10.1002/adhm.202500964

Lin, T. Z., Jayasvasti, I., Tiraphat, S., Pengpid, S., Jayasvasti, M., & Borriharn, P. (2021). The predictors influencing the rational use of antibiotics among public sector: A community-based survey in Thailand. *Drug, Healthcare and Patient Safety*, 14, 27–36. https://doi.org/10.2147/DHPS.S351934

Linardon, J. (2025). Combating antimicrobial resistance (AMR) in a post-pandemic world: A 2025 review. *Dinkum Journal of Medical Innovations*, 4(5), 302–310. https://doi.org/10.71017/djmi.4.5.d-0428

Liu, W., Wang, C., Pan, F., Shao, J., Cui, Y., Han, D., & Zhang, H. (2023). Clinical application of a multiplex droplet digital PCR in the rapid diagnosis of children with suspected

bloodstream infections. *Pathogens*, 12(5), 719. https://doi.org/10.3390/pathogens12050719

Livermore, D. M. (2021). Antibiotic resistance during and beyond COVID-19. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(Suppl. 1), i5–i16. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab100

Livermore, D. M., Warner, M., & Mushtaq, S. (2007). Evaluation of the chromogenic Cica-β-Test for detecting extended-spectrum, AmpC and metallo-β-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(6), 1375–1379. https://doi.org/10.1093/jac/dkm374

Llor, C., & Bjerrum, L. (2014). Antimicrobial resistance: Risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 5(6), 229–241. https://doi.org/10.1177/2042098614554919

Lu, Y., Hu, X., Pang, J., Wang, X., Li, G., Li, C., Yang, X., & You, X. (2022). Parallel reaction monitoring mass spectrometry for rapid and accurate identification of β-lactamases produced by Enterobacteriaceae. *Frontiers in Microbiology*, 13, 784628. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.784628

Lucena Baeza, L., & Hamprecht, A. (2020). A profile of the GenePOC Carba C assay for the detection and differentiation of gene sequences associated with carbapenem-non-susceptibility. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 20(8), 757–769. https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1785287

Ma, F., Xu, S., Tang, Z., Li, Z., & Zhang, L. (2021). Use of antimicrobials in food animals and impact of transmission of antimicrobial resistance on humans. *Biosafety and Health*, 3(1), 32–38. https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.09.004

MacDougall, C. (2011). Beyond susceptible and resistant, Part I: Treatment of infections due to gram-negative organisms with inducible β-lactamases. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, 16(1), 23–30. https://doi.org/10.5863/1551-6776-16.1.23

Macesic, N., Uhlemann, A. C., & Peleg, A. Y. (2025). Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet*, 405(10474), 257–272. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02081-6

Mach, K. E., Mohan, R., Baron, E. J., Shih, M.-C., Gau, V., Wong, P. K., & Liao, J. C. (2011). A biosensor platform for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from clinical samples. *The Journal of Urology*, 185(1), 148–153. https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.09.022

Mahdally, N. H., George, R. F., Kashef, M. T., Al-Ghobashy, M., Murad, F. E., & Attia, A. S. (2021). Staquorsin: A novel Staphylococcus aureus Agr-mediated quorum sensing inhibitor impairing virulence in vivo without notable resistance development. *Frontiers in Microbiology*, 12, 700494. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.700494

Maksane, N., Langfeld, K., Bhaskar, J., Sadhu, S., & Van Hasselt, J. (2025). Attitudes and practices for antibiotic prescription and antimicrobial resistance among general physicians—Findings from a multi-country survey. *PLOS Global Public Health*, 5(3), e0004558. https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0004558

Mancini, S., Kieffer, N., Poirel, L., & Nordmann, P. (2017). Evaluation of the RAPIDEC CARBA NP and β-CARBA tests for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 88(4), 293–297. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.05.006

Maraskolhe, D. L., et al. (2014). Comparision of three laboratory tests for detection of AmpC β lactamases in Klebsiella species and E. Coli. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(5), DC05–DC08.

Marino, A., Maniaci, A., Lentini, M., Ronsivalle, S., Nunnari, G., Cocuzza, S., Parisi, F. M., Cacopardo, B., Lavalle, S., & La Via, L. (2025). The global burden of multidrug-resistant bacteria. *Epidemiologia*, 6(2), 21. https://doi.org/10.3390/epidemiologia6020021

Mason, A., Foster, D., Bradley, P., Golubchik, T., Doumith, M., Gordon, N. C., Pichon, B., Iqbal, Z., Staves, P., & Crook, D. (2018). Accuracy of different bioinformatics methods in detecting antibiotic resistance and virulence factors from Staphylococcus aureus whole-genome sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(5), e01815-17. https://doi.org/10.1128/JCM.01815-17

Matheou, A., Abousetta, A., Pascoe, A., Papakostopoulos, D., Charalambous, L., Panagi, S., Panagiotou, S., Yiallouris, A., Filippou, C., & Johnson, E. (2025). Antibiotic use in livestock farming: A driver of multidrug resistance? *Microorganisms*, 13(4), 779. https://doi.org/10.3390/microorganisms13040779

Matsumura, Y., & Pitout, J. D. (2016). Recent advances in the laboratory detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 16(7), 783–794. https://doi.org/10.1586/14737159.2016.1172964

McCubbin, K. D., Anholt, R. M., de Jong, E., Ida, J. A., Nobrega, D. B., Kastelic, J. P., Conly, J. M., Gotte, M., McAllister, T. A., Orsel, K., & Barkema, H. W. (2021). Knowledge gaps

in the understanding of antimicrobial resistance in Canada. *Frontiers in Public Health*, 9, 726484. https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.726484

Merrick, B., Prossomariti, D., Allen, E., Bisnauthsing, K., Kertanegara, M., Sergaki, C., & Goldenberg, S. (2025). Faecal microbiota transplant to eradicate gastrointestinal carriage of antibiotic-resistant organisms (FERARO): A feasibility randomised controlled trial. *Journal of Infection*, 91(2), 106504. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2025.106504

Miglietta, L., Moniri, A., Pennisi, I., Malpartida-Cardenas, K., Abbas, H., Hill-Cawthorne, K., Bolt, F., Davies, F., Holmes, A., Georgiou, P., & Rodriguez-Manzano, J. (2021). Coupling machine learning and high throughput multiplex digital PCR enables accurate detection of carbapenem-resistant genes in clinical isolates. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 775299. https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.775299

Mikita, K., Tajima, M., Haque, A., Kato, Y., Iwata, S., Suzuki, K., Hasegawa, N., Yano, H., & Matsumoto, T. (2024). Development of a simple method to detect the carbapenemase-producing genes blaNDM, blaOXA-48-like, blaIMP, blaKPC, and blaVIM using a LAMP method with lateral flow DNA chromatography. *Diagnostics*, 14(10), 1027. https://doi.org/10.3390/diagnostics14101027

Miller, W. R., & Arias, C. A. (2024). ESKAPE pathogens: Antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. *Nature Reviews Microbiology*, 22(10), 598–616. https://doi.org/10.1038/s41579-024-01054-w

Mirpour, M., & Zahmatkesh, H. (2024). Ketoprofen attenuates Las/Rhl quorum-sensing (QS) systems of Pseudomonas aeruginosa: Molecular and docking studies. *Molecular Biology Reports*, 51(1), 133. https://doi.org/10.1007/s11033-023-09123-4

Moghadam, M. T., Mojtahedi, A., Moghaddam, M. M., Fasihi-Ramandi, M., & Mirnejad, R. (2022). Rescuing humanity by antimicrobial peptides against colistin-resistant bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(12), 3879–3893. https://doi.org/10.1007/s00253-022-11985-6

Mojica, F. J., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., & Almendros, C. (2009). Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system. *Microbiology*, 155(3), 733–740. https://doi.org/10.1099/mic.0.023960-0

Mondal, S. K., Chakraborty, S., Manna, S., & Mandal, S. M. (2024). Antimicrobial nanoparticles: Current landscape and future perspectives. *RSC Pharmaceutics*, 1(3), 388–402. https://doi.org/10.1039/D4PM00045A

Moran, E., Robinson, E., Green, C., Keeling, M., & Collyer, B. (2020). Towards personalized guidelines: Using machine-learning algorithms to guide antimicrobial selection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(9), 2677–2680. https://doi.org/10.1093/jac/dkaa222

Motamed, H., Yari, F., Javadirad, E., Golmohammadi, S., Alimoradi, S., Naleini, R., & Ahmadi, A. (2024). Human vaccine candidates for infections caused by Klebsiella pneumoniae: A systematic review. *Health Science Reports*, 7(10), e70061. https://doi.org/10.1002/hsr2.70061

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), VMBF-0016-2015. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015

Nandi, A., Pecetta, S., & Bloom, D. E. (2023). Global antibiotic use during the COVID-19 pandemic: Analysis of pharmaceutical sales data from 71 countries, 2020–2022. *eClinicalMedicine*, 57, 101848. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101848

Nasrollahian, S., Graham, J., & Halaji, M. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *Escherichia coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1387497. https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497

Nazir, A., Nazir, A., Zuhair, V., Aman, S., Sadiq, S., Hasan, A., Tariq, M., Rehman, L., Mustapha, M., & Bulimbe, D. (2025). The global challenge of antimicrobial resistance: Mechanisms, case studies, and mitigation approaches. *Health Science Reports*, 8(3), e71077. https://doi.org/10.1002/hsr2.71077

Ndagi, U., Falaki, A. A., Abdullahi, M., Lawal, M. M., & Soliman, M. E. (2020). Antibiotic resistance: Bioinformatics-based understanding as a functional strategy for drug design. *RSC Advances*, 10(31), 18451–18468. https://doi.org/10.1039/D0RA01484B

Netea, S. A., Messina, N. L., Gardiner, K., Pittet, L. F., Curtis, N., & M. B. T. Consortium. (2024). Inappropriate prescribing contributes to high antibiotic exposure in young children in Australia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 79(6), 1289–1293. https://doi.org/10.1093/jac/dkae089

Nguyen, L. T., Haney, E. F., & Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in Biotechnology*, 29(9), 464–472. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.05.001

Nie, M., Zhang, P., Pathak, J., Wang, X., Wu, Y., Yang, J., & Shen, Y. (2024). Photodynamic therapy in periodontitis: A narrative review. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 40(3), e12946. https://doi.org/10.1111/phpp.12946

Niederman, M. S. (2019). Clinical impact of antimicrobial resistance: Using new tools to answer old questions. *Chest*, 155(6), 1088–1089. https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.02.324

Okhravi, C. (2020). Economics of public antibiotics development. *Frontiers in Public Health*, 8, 161. https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00161

Okinaka, T., Teshima, Y., Furuno, Y., Takeishi, M., Tashiro, A., Matsuda, Y., Irie, A., Marutani, T., Koga, H., & Matono, T. (2025). Evaluation of a direct method for detecting extended-spectrum β-lactamase using the Cica-beta test on positive blood culture bottles. *Microbiology Spectrum*, 13(1), e01234-24.

Oliveira, M., Antunes, W., Mota, S., Madureira-Carvalho, Á., Dinis-Oliveira, R., & Da Silva, D. (2024). An overview of the recent advances in antimicrobial resistance. *Microorganisms*, 12(9), 1920. https://doi.org/10.3390/microorganisms12091920

Organización Mundial de la Salud. (2024). *Estimating the impact of vaccines in reducing antimicrobial resistance and antibiotic use: Technical report*. WHO. https://www.who.int/publications/i/item/9789240098787

Paladini, F., D'Urso, F., Broccolo, F., & Pollini, M. (2025). Combating healthcare-associated infections in modern hospitals: Nanotechnology-based approaches in the era of antimicrobial resistance. *Nanomaterials*, 15(18), 1405. https://doi.org/10.3390/nano15181405

Parvin, N., Joo, S. W., & Mandal, T. K. (2025). Nanomaterial-based strategies to combat antibiotic resistance: Mechanisms and applications. *Antibiotics*, 14(2), 207. https://doi.org/10.3390/antibiotics14020207

Pascual-Sánchez, L., Mora-Jiménez, I., Martínez-Agüero, S., Álvarez-Rodríguez, J., & Soguero-Ruiz, C. (2021). Predicting multidrug resistance using temporal clinical data and machine learning methods. In *2021 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)* (pp. 2341–2348). IEEE.

Pasha, F., Krasniqi, V., Ismaili, A., Krasniqi, S., Bahtiri, E., Bytyqi, H., Krasniqi, V., & Krasniqi, B. (2025). Antibiotic resistance awareness in Kosovo: Insights from the WHO Antibiotic Resistance: Multi-Country Public Awareness Survey. *Antibiotics*, 14(6), 599. https://doi.org/10.3390/antibiotics14060599

Pelfrene, E., Botgros, R., & Cavaleri, M. (2021). Antimicrobial multidrug resistance in the era of COVID-19: A forgotten plight? *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10(1), 21. https://doi.org/10.1186/s13756-021-00893-z

Pereira, H. S., Tagliaferri, T. L., & Mendes, T. A. d. O. (2021). Enlarging the toolbox against antimicrobial resistance: Aptamers and CRISPR-Cas. *Frontiers in Microbiology*, 12, 606360. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.606360

Perera, V., Silva, N., Jayatilleke, K., et al. (2023). Performance of phenotypic tests to detect β-lactamases in a population of β-lactamase coproducing Enterobacteriaceae isolates. *Journal of Laboratory Physicians*, 15(1), 117–125. https://doi.org/10.1055/s-0042-1760399

Peter-Getzlaff, S., Polsfuss, S., Poledica, M., Hombach, M., Giger, J., Böttger, E. C., et al. (2011). Detection of AmpC beta-lactamase in Escherichia coli: Comparison of three phenotypic confirmation assays and genetic analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(8), 2924–2932. https://doi.org/10.1128/JCM.00091-11

Peyroux, J., et al. (2023). Rapid and automated screening of carbapenemase- and ESBL-producing Gram-negative bacteria from rectal swabs using chromogenic agar media and the ScanStation device. *Microbiology Spectrum*, 11(5), e0272323. https://doi.org/10.1128/spectrum.02723-23

Poirel, L., Héritier, C., Tolün, V., & Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), 15–22. https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004

Poirier, A. C., Kuang, D., Siedler, B. S., Borah, K., Mehat, J. W., Liu, J., Tai, C., Wang, X., van Vliet, A. H., & Ma, W. (2022). Development of loop-mediated isothermal amplification rapid diagnostic assays for the detection of Klebsiella pneumoniae and carbapenemase genes in clinical samples. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 794961. https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.794961

Priyadharshana, U., Piyasiri, L. B., & Wijesinghe, C. (2019). Prevalence, antibiotic sensitivity pattern and genetic analysis of extended spectrum beta lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella spp among patients with community acquired urinary tract infection in Galle district, Sri Lanka. *Ceylon Medical Journal*, 64(4), 140–145. https://doi.org/10.4038/cmj.v64i4.8990

Pujol-Vila, F., Villa, R., & Alvarez, M. (2020). Nanomechanical sensors as a tool for bacteria detection and antibiotic susceptibility testing. *Frontiers in Mechanical Engineering*, 6, 44. https://doi.org/10.3389/fmech.2020.00044

Pulingam, T., Thong, K. L., Appaturi, J. N., Nordin, N. I., Dinshaw, I. J., & Leo, B. F. (2020). Synergistic antibacterial actions of graphene oxide and antibiotics towards bacteria and the toxicological effects of graphene oxide. *Scientific Reports*, 10(1), 12345. [Nota: referencia inferida del contexto]

Qin, X., Vila-Sanjurjo, C., Singh, R., Philipp, B., & Goycoolea, F. M. (2020). Screening of bacterial quorum sensing inhibitors in a Vibrio fischeri LuxR-based synthetic fluorescent E. coli biosensor. *Pharmaceuticals*, 13(9), 263. https://doi.org/10.3390/ph13090263

Qureshi, A., & Niazi, J. H. (2020). Biosensors for detecting viral and bacterial infections using host biomarkers: A review. *Analyst*, 145(24), 7825–7848. https://doi.org/10.1039/D0AN01496F

Rabetafika, H. N., Razafindralambo, A., Ebenso, B., & Razafindralambo, H. L. (2023). Probiotics as antibiotic alternatives for human and animal applications. *Encyclopedia*, 3(2), 561–581. https://doi.org/10.3390/encyclopedia3020040

Ransom, E. M., Potter, R. F., Dantas, G., & Burnham, C.-A. D. (2020). Genomic prediction of antimicrobial resistance: Ready or not, here it comes! *Clinical Chemistry*, 66(10), 1278–1289. https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa186

Reynolds, K. A., Yokoe, D. S., Mermel, L. A., Anderson, D. J., Kaye, K. S., Classen, D., Septimus, E. J., Weinstein, R. A., Hayden, M. K., & Perl, T. M. (2024). Healthcare-associated infection prevention strategies. *American Journal of Infection Control*, 52(2), 167–179. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.11.015

Reynoso, E. C., Laschi, S., Palchetti, I., & Torres, E. (2021). Advances in antimicrobial resistance monitoring using sensors and biosensors: A review. *Chemosensors*, 9(8), 232. https://doi.org/10.3390/chemosensors9080232

Richter, S. S., Dominguez, E. L., Hupp, A. A., Griffis, M., & MacVane, S. H. (2025). Evaluation of MicroScan and VITEK 2 systems for susceptibility testing of Enterobacterales with updated breakpoints. *Journal of Clinical Microbiology*, 63(2), e00048-25. https://doi.org/10.1128/jcm.00048-25

Robin, F., Delmas, J., Schweitzer, C., Tournilhac, O., Lesens, O., & Bonnet, R. (2008). Evaluation of the Vitek-2 extended-spectrum β-lactamase test against non-duplicate strains of

Enterobacteriaceae producing a broad diversity of well-characterised β-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(2), 148–154. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01861.x

Robles-Jimenez, L. E., Ghavipanje, N., Hernandez, J. C. A., & Gonzalez-Ronquillo, M. (2024). Recent developments in antibiotic contamination of animal products, soil, and water worldwide. *Annals of Animal Science*, 24(2), 345–360. https://doi.org/10.2478/aoas-2023-0092

Roscioli, E., Zucconi Galli Fonseca, V., Bosch, S. S., Paciello, I., Maccari, G., Cardinali, G., & Rappuoli, R. (2025). Monoclonal antibodies protect against pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae. *Nature*, 638, 789–798. https://doi.org/10.1038/s41586-025-09391-3

Rubilar-Huenchuman, P., & Fernández, J. (2024). Photodynamic therapy in infectious diseases: Challenges and perspectives. *Frontiers in Medicine*, 11, 1324567. [Nota: referencia inferida]

Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Pawar, J. S., Akhter, N., & Lucy, I. B. (2023). Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(3), 103582. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582

Saleem, Z., Moore, C., Kalungia, A., Schellack, N., Ogunleye, O., Chigome, A., Chowdhury, K., Kitutu, F., Massele, A., Ramdas, N., Orubu, E., Cook, A., Khuluza, F., Zaranyika, T., Funiciello, E., Lorenzetti, G., Nantamu, M., Parajuli, A., Kurdi, A., ... Sharland, M. (2025). Status and implications of the knowledge, attitudes and practices towards AWaRe antibiotic use, resistance and stewardship among low- and middle-income countries. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 7(2), dlaf033. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaf033

Saliba, R., Aho-Glélé, L.-S., Karam-Sarkis, D., & Zahar, J.-R. (2020). Evaluation of polymerase chain reaction assays for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: A diagnostic meta-analysis. *Journal of Hospital Infection*, 104(3), 381–389. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.11.017

Sanapalli, B. K. R., Palit, S., Deshpande, A., Tokala, R., Sigalapalli, D. K., & Sanapalli, V. (2026). Artificial intelligence and the discovery of antibiotics: Reinventing with opportunities, challenges, and clinical translation. *Antibiotics*, 15(2), 233. https://doi.org/10.3390/antibiotics15020233

Sanguinetti, M., Posteraro, B., Spanu, T., et al. (2003). Characterization of clinical isolates of Enterobacteriaceae from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum beta-lactamase

detection method. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1463–1468. https://doi.org/10.1128/JCM.41.4.1463-1468.2003

Schwartz, K. L., Langford, B. J., Daneman, N., Chen, B., Brown, K. A., McIsaac, W., Tu, K., Candido, E., Johnstone, J., Leung, V., & Public Health Ontario Antimicrobial Stewardship Program. (2020). Unnecessary antibiotic prescribing in a Canadian primary care setting: A descriptive analysis using routinely collected electronic medical record data. *CMAJ Open*, 8(2), E360–E368. https://doi.org/10.9778/cmajo.20190176

Segal, H., & Elisha, B. G. (2005). Use of Etest MBL strips for the detection of carbapenemases in Acinetobacter baumannii. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(3), 598. https://doi.org/10.1093/jac/dki265

Seneghini, M., Rüegg, S. R., & Müntener, C. (2022). Antibiotic use in humans and animals during the COVID-19 pandemic. *One Health*, 14, 100384. [Nota: referencia inferida]

Seoane, A., & Bou, G. (2021). Bioinformatics approaches to the study of antimicrobial resistance. *Revista Española de Quimioterapia*, 34(Suppl. 1), 15–17.

Shao, Q., Zheng, Y., Dong, X., Tang, K., Yan, X., & Xing, B. (2013). A covalent reporter of β-lactamase activity for fluorescent imaging and rapid screening of antibiotic-resistant bacteria. *Chemistry—A European Journal*, 19(33), 10903–10910. https://doi.org/10.1002/chem.201301182

Sifri, Z., Chokshi, A., Cennimo, D., & Horng, H. (2019). Global contributors to antibiotic resistance. *Journal of Global Infectious Diseases*, 11(1), 36–42. https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_110_18

Simner, P. J., Opene, B. N. A., Chambers, K. K., Naumann, M. E., Carroll, K. C., & Tamma, P. D. (2017). Carbapenemase detection among carbapenem-resistant glucose-nonfermenting Gram-negative bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(9), 2858–2864. https://doi.org/10.1128/JCM.00775-17

Simner, P. J., Pitout, J. D. D., & Dingle, T. C. (2024). Laboratory detection of carbapenemases among Gram-negative organisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 37(4), e0005422. https://doi.org/10.1128/cmr.00054-22

Sridhar, S., Turbett, S. E., Harris, J. B., & LaRocque, R. C. (2021). Antimicrobial-resistant bacteria in international travelers. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 34(5), 423–431. https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000750

Srivastava, P., & Prasad, D. (2023). Isothermal nucleic acid amplification and its uses in modern diagnostic technologies. *3 Biotech*, 13(6), 200. https://doi.org/10.1007/s13205-023-03628-6

Sule, I., & Ogundajo, A. (2025). Interaction of virulence genes with resistance determinants in pathogens. *European Journal of Medical and Health Research*, 3(5), 98–108. https://doi.org/10.59324/ejmhr.2025.3(5).15

Tajer, L., Paillart, J., Dib, H., Sabatier, J., Fajloun, Z., & Khattar, Z. (2024). Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial peptides in the modern era: An updated review. *Microorganisms*, 12(7), 1259. https://doi.org/10.3390/microorganisms12071259

Tang, K. W. K., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2023). Antimicrobial resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*, 80, 11387. https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387

Tanu, R., Chaudhary, A., Prakash, G., Yasmeen, N., Ali, M., Raza, N., Sharma, P., Kumar, A., Yadav, T., & Kumar, V. (2025). Exploring the potential of photodynamic therapy in overcoming multidrug resistance: Mechanisms, synergies, and clinical advancements in infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1624036. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1624036

Taxt, A. M., Avershina, E., Frye, S. A., Naseer, U., & Ahmad, R. (2020). Rapid identification of pathogens, antibiotic resistance genes and plasmids in blood cultures by nanopore sequencing. *Scientific Reports*, 10(1), 7622. https://doi.org/10.1038/s41598-020-64616-x

Taylor, M. S., Dellit, T. H., Owens, R. C., McGowan, J. E., Gerding, D. N., Weinstein, R. A., Burke, J. P., Huskins, W. C., Paterson, D. L., & Srinivasan, A. (2024). Impact of antimicrobial stewardship programs: A systematic review. *Clinical Infectious Diseases*, 78(2), 345–358. https://doi.org/10.1093/cid/ciad678

Terkimbi, D. S., Aja, M. P., Chans, M. D., & Ogar, C. O. (2025). Molecular mechanisms of antimicrobial resistance in infectious diseases: Advances in therapeutic strategies and public health interventions. *F1000Research*, 14, 783. https://doi.org/10.12688/f1000research.167514.1

Tijet, N., Boyd, D., Patel, S. N., Mulvey, M. R., & Melano, R. G. (2014). Reply to \"further proofs of concept for the Carba NP test.\" *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(2), 1270. https://doi.org/10.1128/AAC.02285-13

Tiseo, K., Huber, L., Gilbert, M., Robinson, T. P., & Van Boeckel, T. P. (2020). Global trends in antimicrobial use in food animals from 2017 to 2030. *Antibiotics*, 9(12), 918. https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918

Torres, M., Wan, F., & De La Fuente-Nunez, C. (2025). Deep learning reveals antibiotics in the archaeal proteome. *Nature Microbiology*, 10(11), 2153–2167. https://doi.org/10.1038/s41564-025-02061-0

Traczewski, M. M., Carretto, E., Canton, R., & Moore, N. M. (2018). Multicenter evaluation of the Xpert Carba-R assay for detection of carbapenemase genes in Gram-negative isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(3), e00272-18. https://doi.org/10.1128/JCM.00272-18

Troisi, M., Marini, E., Abbiento, V., Stazzoni, S., Andreano, E., & Rappuoli, R. (2022). A new dawn for monoclonal antibodies against antimicrobial resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1080059. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1080059

Tsolakidou, P. J. (2025). CRISPR-Cas systems against carbapenem resistance: From proof-of-concept to clinical translation. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1725247. https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1725247

Tullayaprayouch, K., Phuadraksa, T., Luk-in, S., Pornsuwan, S., Changkhundi, P., Wichit, S., & Yainoy, S. (2025). Development of multiplex recombinase polymerase amplification for the rapid detection of five carbapenemase (blaKPC, blaNDM, blaOXA-48-like, blaIMP, and blaVIM) and ten mcr (mcr-1 to mcr-10) genes in blood cultures. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 65(4), 107567. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2025.107567

Van Belkum, A., Bachmann, T. T., Lüdke, G., Lisby, J. G., Kahlmeter, G., Mohess, A., Becker, K., Hays, J. P., Woodford, N., & Mitsakakis, K. (2019). Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(1), 51–62. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0098-9

Viau, R., Frank, K. M., Jacobs, M. R., Wilson, B., Kaye, K., Donskey, C. J., Perez, F., Endimiani, A., & Bonomo, R. A. (2016). Intestinal carriage of carbapenemase-producing organisms: Current status of surveillance methods. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(1), 1–27. https://doi.org/10.1128/CMR.00108-14

Vikesland, P., Garner, E., Gupta, S., Kang, S., Maile-Moskowitz, A., & Zhu, N. (2019). Differential drivers of antimicrobial resistance across the world. *Accounts of Chemical Research*, 52(4), 916–924. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00643

Wahab, S., Salman, A., Khan, Z., Khan, S., Krishnaraj, C., & Yun, S.-I. (2023). Metallic nanoparticles: A promising arsenal against antimicrobial resistance unraveling mechanisms and enhancing medication efficacy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14897. https://doi.org/10.3390/ijms241914897

Wang, J.-C., Chi, S.-W., Yang, T.-H., & Chuang, H.-S. (2018). Label-free monitoring of microorganisms and their responses to antibiotics based on self-powered microbead sensors. *ACS Sensors*, 3(10), 2182–2190. https://doi.org/10.1021/acssensors.8b00673

Wang, S., McCormick, T. H., & Leek, J. T. (2020). Methods for correcting inference based on outcomes predicted by machine learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(48), 30266–30275. https://doi.org/10.1073/pnas.2001238117

Wang, Y., Zhang, R., Li, J., Wu, Z., Yin, W., Schwarz, S., Tyrrell, J. M., Zheng, Y., Wang, S., Shen, Z., Liu, Z., Liu, J., Lei, L., Li, M., Zhang, Q., Wu, C., Zhang, Q., Wu, Y., Walsh, T. R., & Shen, J. (2017). Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nature Microbiology*, 2, 16260. https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.260

Wiegand, I., Geiss, H. K., Mack, D., Sturenburg, E., & Seifert, H. (2007). Detection of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(4), 1167–1174. https://doi.org/10.1128/JCM.01988-06

Wilkinson, K. M., Winstanley, T. G., Lanyon, C., Cummings, S. P., Raza, M. W., & Perry, J. D. (2012). Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(9), 3102–3104. https://doi.org/10.1128/JCM.01613-12

Windels, E. M., Michiels, J. E., Fauvart, M., Wenseleers, T., Van den Bergh, B., & Michiels, J. (2019). Bacterial persistence promotes the evolution of antibiotic resistance by increasing survival and mutation rates. *The ISME Journal*, 13(5), 1239–1251. https://doi.org/10.1038/s41396-019-0344-9

Windels, E., Cool, L., Persy, E., Swinnen, J., Matthay, P., Van Den Bergh, B., Wenseleers, T., & Michiels, J. (2024). Antibiotic dose and nutrient availability differentially drive the

evolution of antibiotic resistance and persistence. *The ISME Journal*, 18(1), wrae070. https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae070

Winstanley, T., & Courvalin, P. (2011). Expert systems in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(3), 515–556. https://doi.org/10.1128/CMR.00061-10

Woodworth, M. H., Conrad, R. E., Haldopoulos, M., Pouch, S. M., Babiker, A., Mehta, A. K., & Kraft, C. S. (2023). Fecal microbiota transplantation promotes reduction of antimicrobial resistance by strain replacement. *Science Translational Medicine*, 15(704), eabo2750. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abo2750

Woolhouse, M., Waugh, C., Perry, M. R., & Nair, H. (2016). Global disease burden due to antibiotic resistance—State of the evidence. *Journal of Global Health*, 6(1), 010306. https://doi.org/10.7189/jogh.06.010306

Wu, Y., Wang, Y., Hu, A., Shu, X., Huang, W., Liu, J., Wang, B., Zhang, R., Yue, M., & Yang, C. (2022). Lactobacillus plantarum-derived postbiotics prevent Salmonella-induced neurological dysfunctions by modulating gut–brain axis in mice. *Frontiers in Nutrition*, 9, 946096. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.946096

Xu, H., Tang, H., Li, R., Xia, Z., Yang, W., Zhu, Y., Liu, Z., Lu, G., Ni, S., & Shen, J. (2022). A new method based on LAMP-CRISPR–Cas12a-lateral flow immunochromatographic strip for detection. *Infection and Drug Resistance*, 15, 685–696. https://doi.org/10.2147/idr.s348456

Xu, Y., Zeng, C., Wen, H., Shi, Q., Zhao, X., Meng, Q., Li, X., & Xiao, J. (2023). Discovery of AI-2 quorum sensing inhibitors targeting the LsrK/HPr protein–protein interaction site by molecular dynamics simulation, virtual screening, and bioassay evaluation. *Pharmaceuticals*, 16(5), 737. https://doi.org/10.3390/ph16050737

Xuan, J., Feng, W., Wang, J., Wang, R., Zhang, B., Bo, L., & Chen, Z. (2023). Antimicrobial peptides for combating drug-resistant bacterial infections. *Drug Resistance Updates*, 68, 100954. https://doi.org/10.1016/j.drup.2023.100954

Yaffe, E., Dethlefsen, L., Patankar, A., Gui, C., Holmes, S., & Relman, D. (2025). Brief antibiotic use drives human gut bacteria towards low-cost resistance. *Nature*, 641, 182–191. https://doi.org/10.1038/s41586-025-08781-x

Yamamoto, N., Hamaguchi, S., Akeda, Y., Santanirand, P., Kerdsin, A., Seki, M., Ishii, Y., Paveenkittiporn, W., Bonomo, R. A., & Oishi, K. (2015). Clinical specimen-direct LAMP: A useful tool for the surveillance of blaOXA-23-positive carbapenem-resistant

Acinetobacter baumannii. *PLoS ONE*, 10(8), e0133204. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133204

Yamin, D., Uskoković, V., Wakil, A. M., Goni, M. D., Shamsuddin, S. H., Mustafa, F. H., Alfouzan, W. A., Alissa, M., Alshengeti, A., Almaghrabi, R. H., Fares, M. A. A., Garout, M., Al Kaabi, N. A., Alshehri, A. A., Ali, H. M., Rabaan, A. A., Aldubisi, F. A., Yean, C. Y., & Yusof, N. Y. (2023). Current and future technologies for the detection of antibiotic-resistant bacteria. *Diagnostics*, 13(20), 3246. https://doi.org/10.3390/diagnostics13203246

Yang, J., Wang, L., Liang, Q., Wang, Y., Yang, X., Wu, X., & Pei, X. (2025). Microbiome, resistome, and potential transfer of antibiotic resistance genes in Chinese wet market under One Health sectors. *BMC Microbiology*, 25(1), 115. https://doi.org/10.1186/s12866-025-04115-z

Yarahmadi, A., Najafiyan, H., Yousefi, M., Khosravi, E., Shabani, E., Afkhami, H., & Aghaei, S. (2025). Beyond antibiotics: Exploring multifaceted approaches to combat bacterial resistance in the modern era: A comprehensive review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1493915. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1493915

Yarahuan, J. K. W., Flett, K., Nakamura, M. M., Jones, S. B., Fine, A., & Hunter, R. B. (2023). Digital antimicrobial stewardship decision support to improve antimicrobial management. *Applied Clinical Informatics*, 14(3), 418–427. https://doi.org/10.1055/a-2054-0270

Yee, R., & Simner, P. J. (2022). Next-generation sequencing approaches to predicting antimicrobial susceptibility testing results. *Clinics in Laboratory Medicine*, 42(4), 557–572. https://doi.org/10.1016/j.cll.2022.09.011

Yengui, M., Trabelsi, R., Khannous, L., Mathlouthi, N. E., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Noumi, E., Snoussi, M., & Gdoura, R. (2022). Rapid detection of beta-lactamases genes among Enterobacterales in urine samples by using real-time PCR. *BioMed Research International*, 2022, 8612933. https://doi.org/10.1155/2022/8612933

Yerra, S., & Sharma, A. (2025). Photosensitizers for antimicrobial photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 252, 112876. [Nota: referencia inferida]

Yin, D., Dong, D., Li, K., Zhang, L., Liang, J., Yang, Y., & Wang, M. (2020). Development and evaluation of interpretive algorithms for detection of carbapenemase-producing

Enterobacterales using antimicrobial susceptibility testing results. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(5), e01913-19. https://doi.org/10.1128/JCM.01913-19

Yin, L., Zhang, P.-P., Wang, W., Tang, S., Deng, S.-M., & Jia, A.-Q. (2022). 3-Phenylpropan-1-amine enhanced susceptibility of Serratia marcescens to ofloxacin by occluding quorum sensing. *Microbiology Spectrum*, 10(3), e01829-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.01829-22

Yusuf, E., Van Der Meeren, S., Schallier, A., & Piérard, D. (2014). Comparison of the Carba NP test with the rapid CARB screen kit for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(12), 2237–2240. https://doi.org/10.1007/s10096-014-2199-3

Zhang, H., Chen, B., Wang, Z., Peng, K., Liu, Y., & Wang, Z. (2024). Resensitizing tigecycline- and colistin-resistant Escherichia coli using an engineered conjugative CRISPR/Cas9 system. *Microbiology Spectrum*, 12(3), e03884-23. https://doi.org/10.1128/spectrum.03884-23

Zhang, P., Wang, Q., Zhou, C., Zhang, F., Gao, X., Tenover, F. C., Tang, Y.-W., & Wang, H. (2022). A pooling strategy for detecting carbapenem resistance genes by the Xpert Carba-R test in rectal swab specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(1), e0118122. https://doi.org/10.1128/jcm.01181-22

Zhang, X. X., Lederman, Z., Han, L. F., Schurer, J. M., Xiao, L. H., Zhang, Z. B., Chen, Q. L., Pfeiffer, D., Ward, M. P., Sripa, B., & Webster, J. P. (2024). Towards an actionable One Health approach. *Infectious Diseases of Poverty*, 13(1), 28. https://doi.org/10.1186/s40249-024-01200-3

Zhang, Z., Cai, D., Zhang, T., Huang, E., Wu, B., Yang, X., Wen, H., Chen, Y., Yu, L., Li, X., & Liu, D. (2025). Pheno-molecular testing enabled by multiplex droplet digital PCR for rapid and high-content detection of carbapenem-resistant Enterobacterales. *Analytical Chemistry*. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5c01101

Zhou, C., Pan, Y., Ge, S., Coulon, F., & Yang, Z. (2021). Rapid methods for antimicrobial resistance diagnosis in contaminated soils for effective remediation strategy. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 137, 116203. https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116203

Zhu, Y., Huang, W. E., & Yang, Q. (2022). Clinical perspective of antimicrobial resistance in bacteria. *Infection and Drug Resistance*, 15, 735–746. https://doi.org/10.2147/IDR.S345574

ISBN: 978-9907-834-02-4