

RESISTÓMICA ESTRUCTURAL

CARACTERIZACIÓN DE DETERMINANTES GENÉTICOS Y
FENOTIPADO RÁPIDO DE LA SUSCEPTIBILIDAD
ANTIMICROBIANA



Deyaneira Dayana Cevallos Arteaga

ISBN: 978-9907-818-60-4





Resistómica Estructural: Caracterización de Determinantes Genéticos y Fenotipado Rápido de la Susceptibilidad Antimicrobiana.

AUTORA

Deyaneira Dayana Cevallos Arteaga

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3661-0022>

Correo electrónico institucional: deyaneira.cevallos@upec.edu.ec

Filiación institucional: Universidad Politécnica Estatal del Carchi

Editorial “ACACFESA SAS”

La presente obra fue revisada por 2 pares académicos externos ciegos conforme al proceso editorial de ACACFESA SAS.

Los rigurosos procedimientos editoriales de ACACFESA SAS garantizan la selección de manuscritos por sus aportes significativos al conocimiento y cualidades científicas.

Editorial: ACACFESA SAS.

Sello editorial: 978-9907-818

Teléfono: (+593) 998955446

Web: <https://acacfesa.com/editorial/index.php/1>

ISBN: 978-9907-818-60-4

Doi: <https://doi.org/10.70577/r5e78073/ACACFESA.EDITORIAL>

Año: Septiembre 2026

Aviso Legal

El contenido de esta obra, que incluye ilustraciones, textos, tablas, gráficos, cuadros y referencias bibliográficas, es responsabilidad única del autor o autores. Lo que se ha dicho, los criterios y los datos no reflejan necesariamente la posición institucional ni el pensamiento de la Editorial ACACFESA SAS.

Derechos de Autor ©

Este documento se publica conforme los términos y condiciones de la EDITORIAL ACACFESA SAS

Esta obra está bajo una licencia internacional



Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0

La "Editorial ACACFESA SAS " y todos sus autores tienen la propiedad única de los derechos de autor y de propiedad intelectual e industrial relacionados con el contenido de esta publicación. La reproducción total o parcial de esta obra, su almacenamiento en sistemas informáticos, su tratamiento digital y cualquier tipo de distribución, transmisión o comunicación pública por medios electrónicos, ópticos, mecánicos, químicos, fotográficos o de grabación están prohibidos. Esto se encuentra bajo las sanciones que establece la legislación vigente a menos que se cuente con la autorización previa y por escrito de los titulares del copyright.

Queda excluido únicamente el uso con fines académicos o de investigación científica, siempre que no busque objetivos comerciales y se ejecute sin remuneración, debiendo mencionarse en todo momento a la fuente editorial correspondiente. Los autores son los únicos responsables de las opiniones expresadas en los diferentes capítulos, las cuales no necesariamente representan el punto de vista institucional de la editorial.

Constancia de Arbitraje

La Editorial ACACFESA SAS, certifica que este libro es el resultado de un estudio llevado a cabo por los autores, el cual fue evaluado por jurados expertos bajo el sistema de Pares Externos, tanto en contenido como en forma. Asimismo, se llevó a cabo un análisis del método de investigación, paradigma y enfoque; a partir de la matriz epistémica adoptada por los autores, utilizando las normas APA, Séptima Edición y el proceso de antiplagio en línea turniting para asegurar que la obra fuera científica.

Revisor par externo 1

Lema Balla Juan Carlos

Revisor par externo 2

Alexandra Catalina Almeida López

Prologo

La resistencia antimicrobiana representa uno de los mayores desafíos científicos y sanitarios del siglo XXI. El incremento sostenido de microorganismos capaces de evadir la acción de los tratamientos convencionales ha convertido un recurso que revolucionó la medicina moderna en una herramienta cuya eficacia enfrenta una amenaza sin precedentes. En este contexto, comprender los mecanismos biológicos que sustentan la resistencia bacteriana constituye una necesidad estratégica para la investigación, el diagnóstico clínico y la salud pública.

La Resistómica Estructural: Caracterización de Determinantes Genéticos y Fenotipado rápido de la Susceptibilidad Antimicrobiana representa una visión de conjunto que se aleja de la descripción habitual de los genes de resistencia para centrarse en la estructura dinámica del resistoma como objeto de estudio, el rol del mobiloma, la transferencia horizontal de los genes y las complejas interacciones moleculares que favorecen la continua adaptación de los patógenos, que están bajo la presión selectiva de los antimicrobianos.

Una de los principales aportes de esta obra radica en la articulación de saberes de diferentes disciplinas, tal como la microbiología clínica, la biología molecular, la genómica, la bioinformática, la epidemiología y la inteligencia artificial, que permiten ofrecer un panorama de las herramientas que están modificando el diagnóstico microbiológico actual. Tecnologías como la secuenciación de genoma completo (WGS), la espectrometría de masas MALDI-TOF o los modelos predictivos basados en deep learning son parte de una nueva década de estrategias con orientaciones en la medicina de precisión.

A lo largo de los capítulos, el libro presenta un análisis exhaustivo de los procesos que explican la emergencia y diseminación de la resistencia, desde la dinámica de las porinas y las bombas de eflujo hasta la plasticidad genética conferida por plásmidos, integrones, transposones y bacteriófagos. Estos mecanismos son considerados como elementos inter vinculados dentro de una red evolutiva bastante compleja que pone de manifiesto la necesidad de enfoques integrados de vigilancia, prevención e intervención bajo la perspectiva One Health.

Otro aspecto destacable reside en el sólido respaldo bibliográfico que sustenta el contenido. La incorporación de evidencia científica reciente permite reflejar el estado actual del conocimiento y proporcionar una base confiable para investigadores, docentes, profesionales del laboratorio

clínico, microbiólogos, infectólogos y estudiantes de las ciencias de la salud interesados en profundizar en las nuevas fronteras del diagnóstico microbiológico.

Más allá del interés técnico, el documento invita reflexionar sobre la responsabilidad colectiva que conlleva el enfrentamiento de la resistencia antimicrobiana. Comprender el resistoma es una tarea que va más allá de los hospitales, siendo necesario reconocer la interdependencia que existe entre la salud humana, animal, ambiental y la contribución al desarrollo de sistemas de vigilancia de la genómica que sean capaces de anticipar la aparición de nuevos mecanismos de resistencia antes que supongan un compromiso a las opciones terapéuticas disponibles.

Esta obra constituye una valiosa contribución al fortalecimiento del conocimiento científico en un campo de extraordinaria relevancia global. Su contenido establece un puente entre la investigación de frontera y la práctica clínica, al ofrecer herramientas conceptuales y metodológicas que enriquecen la formación académica y respaldan la toma de decisiones fundamentadas en evidencia.

Este libro se posiciona, por su profundidad analítica, actualidad científica y modo de abordarlo desde diferentes ramas del conocimiento, como una obra de referencia para investigadores, profesionales de la salud, docentes y estudiantes que quieren comprender la complejidad de la resistencia antimicrobiana y los avances que están definiendo el diagnóstico microbiológico en la era de la medicina de la precisión.

Índice de contenido

Índice de contenido	vii
Capítulo 1: Arquitectura del Resistoma y Dinámica de la Transferencia Horizontal de Genes (HGT).....	3
1.1. Estratigrafía del resistoma intrínseco vs. adquirido en patógenos ESKAPE	3
1.2. Mecanismos moleculares de conjugación plasmídica y sistemas de secreción tipo IV	5
1.3. Integrones y transposones: La plasticidad del mobiloma bajo presión selectiva	6
1.4. Cinética de la transferencia de genes de resistencia en biopelículas maduras	7
1.5. Impacto de los bacteriófagos en la movilización de determinantes genéticos	8
1.6. Recombinación homóloga y heteróloga en la evolución de carbapenemasas	9
1.7. Coste adaptativo y estabilidad de los plásmidos multirresistentes	10
1.8. Sistemas de toxina-antitoxina y el mantenimiento de la carga genética de resistencia	11
1.9. Transferencia interespecífica de genes de resistencia en el microbioma humano	11
1.10. Modelado estocástico de la propagación de determinantes genéticos en nichos clínicos	12
1.11. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	13
Capítulo 2: Fisiopatología de la Envoltura Celular: Dinámica de Porinas y Bombas de Eflujo	15
2.1. Biofísica del paso de solutos a través de porinas OmpC y OmpF	15
2.2. Mecanismos de subexpresión y cierre de porinas bajo exposición a carbapenémicos	16
2.3. Estructura y función de las bombas de eflujo RND en bacilos Gram negativos	18
2.4. Sinergia entre la impermeabilidad de membrana y la hiperproducción de bombas..	19
2.5. Regulación transcripcional de los sistemas de flujo activo (MarA, SoxS, RarA)	20

2.6.	Mecanotransducción de la pared celular tras el daño por polimixinas	21
2.7.	Dinámica del complejo AcrAB-TolC	21
2.8.	Impacto de las mutaciones en los sistemas de dos componentes (PhoP/PhoQ)	22
2.9.	Energética de la resistencia	23
2.10.	Modificación del sitio diana en el lipopolisacárido mediante mcr-1 y variantes ..	24
2.11.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	25
Capítulo 3: Proteostasis de las Betalactamasas.....		27
3.1.	Clasificación estructural de Ambler revisada bajo espectrometría de masas.....	27
3.2.	Evolución de las cefalosporinasas de espectro extendido (BLEE) en el siglo XXI..	30
3.3.	Interacción betalactámico-inhibidor: Mecanismos de resistencia a avibactam y vaborbactam	31
3.4.	Cinética enzimática Michaelis-Menten aplicada a la predicción de fallo terapéutico	32
3.5.	Influencia del número de copias génicas en el fenotipo de resistencia	33
3.6.	Detección de heteroresistencia mediada por la expresión diferencial de betalactamasas	34
3.7.	Análisis del interactoma betalactamasa-PBP (Penicillin-Binding Proteins).....	35
3.8.	Estabilidad enzimática en el espacio periplasmático bajo estrés oxidativo	36
3.9.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	38
SECCIÓN II: TECNOLOGÍAS DE FENOTIPADO RÁPIDO.....		39
Capítulo 4: Espectrometría de Masas en Tándem para Hidrólisis Enzimática Directa		39
4.1.	Espectrometría de masas MALDI-TOF aplicada al seguimiento de la degradación de antibióticos	39
4.2.	Identificación de picos de hidrólisis de carbapenémicos en menos de 60 minutos ..	40
4.3.	Espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para la cuantificación de bombas de eflujo.....	41
4.4.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	42
4.5.	Detección directa de modificaciones de lípido A en casos de resistencia a colistina	43

4.6. Uso de biomarcadores proteicos específicos para la discriminación de cepas epidémicas.....	44
4.7. Automatización del procesamiento de muestras de hemocultivo para MALDI-TOF.	45
4.8. Diferenciación de sub-clones bacterianos mediante perfiles de espectrometría de alta resolución	46
4.9.Integración de la proteómica "top-down" en el flujo de trabajo del laboratorio clínico	47
4.10.Estandarización de protocolos de extracción para la detección rápida de enzimas	48
4.11.Impacto de la espectrometría en la reducción del tiempo hacia la terapia dirigida	49
4.12. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	50
Capítulo 5: Citometría de Flujo y Microfluídica en el Fenotipado Cinético	52
5.1.Principios de la citometría de flujo para evaluar la viabilidad bacteriana en tiempo real	52
5.2. Análisis del potencial de membrana mediante sondas fluorescentes bajo presión antibiótica.....	53
5.3. Microfluídica de gota única para la determinación rápida de la CMI.....	54
5.4. Citometría de flujo multiespectral aplicada al estudio de la persistencia bacteriana	55
5.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	56
5.6. Monitorización del daño celular por aminoglucósidos mediante análisis de dispersión de luz	57
5.7. Plataformas de microfluídica digital para el cribado de combinaciones sinérgicas..	58
5.8. Evaluación de la tasa de crecimiento bacteriano mediante sensores ópticos de alta sensibilidad.....	59
5.9. Detección de heteroresistencia poblacional en dispositivos microfluídicos	60
5.10. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	61
5.11. Cuantificación de la acumulación intracelular de antibióticos en células individuales	62

5.12. Integración de microfluídica con microscopía de lapso de tiempo para fenotipado dinámico.....	63
5.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	64
Capítulo 6: Diagnóstico Molecular Directo y Secuenciación de Nanoporos	66
6.1. Secuenciación de lectura larga para la reconstrucción completa de plásmidos	66
6.2. Identificación de determinantes de resistencia directamente desde muestras clínicas	67
6.3. Algoritmos de llamada de bases (basecalling) de alta fidelidad para detección de SNPs	68
6.4. Diferenciación entre ADN libre, ADN de células muertas y ADN de patógenos viables	69
6.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	70
6.6. Uso de la secuenciación de nanoporos para la vigilancia filogenómica en tiempo real	71
6.7. Detección de mutaciones raras en genes de ARN ribosómico (resistencia a oxazolidinonas)	72
6.8. Metagenómica clínica aplicada al diagnóstico de infecciones polimicrobianas	74
6.9. Validación de la secuenciación rápida frente a las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos.....	75
6.10. Integración de la bioinformática en el borde (edge computing) para laboratorios periféricos.....	76
6.11. Protocolos de preparación de librerías ultra-rápidos para entornos de cuidados críticos	77
6.12. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	78
SECCIÓN III: APLICACIONES CLÍNICAS: OPTIMIZACIÓN TERAPÉUTICA EN PATÓGENOS MDRO Y VIGILANCIA DE BROTES NOSOCOMIALES.....	80
Capítulo 7: Patógenos ESKAPE y Estrategias de Tratamiento Basadas en el Resistoma	80
7.1. Manejo de <i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente	80
7.2. Optimización de dosis en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> según el perfil de porinas.....	81

7.3.	Tratamiento de enterobacterias productoras de KPC y NDM.....	82
7.4.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	83
7.5.	Resistencia a ceftarolina y daptomicina en <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	84
7.6.	Uso de nuevos inhibidores de betalactamasas basados en el perfil molecular del paciente.....	86
7.7.	Terapia dirigida para enterococos resistentes a vancomicina (VRE).....	87
7.8.	Correlación entre el perfil de resistencia y el out-of-range farmacocinético	88
7.9.	Abordaje terapéutico de infecciones por <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	89
7.10.	Importancia de la monitorización de fármacos (TDM) en patógenos con CMI elevada	90
7.11.	Efecto del inóculo y su relación con los resultados clínicos en MDRO.....	91
7.12.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras	92
Capítulo 8: Modelado PK/PD Basado en la CMI Genotípica y Metabólica.....		94
8.1.	Predicción del éxito terapéutico integrando la CMI genotípica en modelos poblacionales.....	94
8.2.	Simulaciones de Monte Carlo para la optimización de regímenes de infusión extendida	95
8.3.	Relación entre la carga genética de resistencia y la probabilidad de alcanzar el objetivo (PTA).....	96
8.4.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	97
8.5.	Ajuste de dosis basado en la metabolómica del patógeno bajo exposición antibiótica	98
8.6.	PK/PD de antibióticos en compartimentos biológicos difíciles: LCR y tejido óseo	99
8.7.	Impacto de la disfunción renal en el aclaramiento de antibióticos de última línea.....	100
8.8.	Modelado de la respuesta bacteriana dinámica mediante el uso de microfluídica cinética	101
8.9.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	103

8.10.	Influencia de la unión a proteínas plasmáticas en la actividad de los nuevos betalactámicos	104
8.11.	Estrategias de "ataque frontal" (front-loading) para prevenir la selección de resistencias	105
8.12.	Personalización de la terapia en el paciente séptico mediante farmacometría digital	106
8.13.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	107
Capítulo 9: Vigilancia Filogenómica y Control de Brotes en la Era Digital.....		109
9.1.	Rastreo de rutas de transmisión nosocomial mediante análisis de genoma completo (WGS)	109
9.2.	Identificación de clones de alto riesgo y linajes emergentes a nivel global.....	110
9.3.	Uso de la filogenómica para diferenciar brotes puntuales de endemicidad hospitalaria	111
9.4.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	112
9.5.	Vigilancia proactiva del mobiloma en la unidad de cuidados intensivos.....	113
9.6.	Integración de datos geoespaciales con perfiles de resistencia genética.....	114
9.7.	Detección de transmisión de plásmidos entre diferentes especies bacterianas en el hospital	116
9.8.	Papel de las superficies inertes y el equipo médico en la diseminación de MDRO	117
9.9.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras.....	118
9.10.	Implementación de tableros de control (dashboards) epidemiológicos en tiempo real	119
9.11.	Bioinformática forense aplicada a la investigación de brotes infecciosos	120
9.12.	Impacto de las medidas de higiene en la dinámica poblacional del resistoma hospitalario.....	121
9.13.	Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	122
SECCIÓN IV: GOBERNANZA ANTIMICROBIANA, IA PREDICTIVA Y EL ECOSISTEMA ONE HEALTH 2026.....		124
Capítulo 10: Inteligencia Artificial Predictiva y Sistemas de Soporte a la Decisión.....		124

10.1. Algoritmos de aprendizaje profundo para la predicción de la susceptibilidad desde el espectro de masas	124
10.2.Sistemas de alerta temprana basados en redes neuronales para la detección de MDRO	125
10.3. IA para el diseño de terapias antibióticas personalizadas en tiempo real	126
10.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	127
10.5. Procesamiento de lenguaje natural (PLN) para la vigilancia de antibióticos en historias clínicas	128
10.6.Modelos predictivos de riesgo de infección por bacterias multirresistentes al ingreso	129
10.7. Uso de la visión computacional en la interpretación automatizada de pruebas de susceptibilidad	130
10.8. Ética y transparencia en los algoritmos de decisión clínica para enfermedades infecciosas	132
10.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	133
10.10. Validación clínica de herramientas de soporte a la decisión asistidas por IA	134
10.11. Reducción de la variabilidad clínica mediante protocolos automatizados de administración	135
10.12. Integración de datos multiómicos en plataformas de inteligencia sanitaria	136
10.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	137
Capítulo 11: Programas PROA 2.0: Gobernanza y Administración de Antimicrobianos	139
11.1. Evolución de los equipos PROA hacia la gestión de datos genómicos	139
11.2.Indicadores de calidad en la administración de antibióticos de última generación	140
11.3.Economía de la salud aplicada a la implementación de tecnologías de diagnóstico rápido	141
11.4. Estrategias de comunicación para la desescalada antibiótica basada en mNGS .	142
11.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	143

11.6. Impacto de la regulación internacional en la disponibilidad de nuevos antibióticos	144
11.7. Políticas de acceso y equidad en el diagnóstico de precisión microbiológico	145
11.8. Educación médica continua en resistómica estructural para prescriptores.....	146
11.9. Modelos de reembolso hospitalario para pruebas de diagnóstico molecular avanzado.....	147
11.10. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	148
11.11. Gobernanza clínica para la restricción de fármacos de reserva (AWaRe de la OMS)	150
11.12. Papel del farmacéutico clínico en la optimización terapéutica del paciente con MDRO	151
11.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	152
Capítulo 12: El Ecosistema One Health 2026: Vigilancia Ambiental y Sostenibilidad.....	154
12.1. Flujo de genes de resistencia entre el entorno agrícola, animal y humano	154
12.2. Vigilancia del resistoma en aguas residuales urbanas y hospitalarias	155
12.3. Impacto del cambio climático en la propagación de patógenos resistentes	156
12.4. Regulación del uso de antibióticos en la industria ganadera y acuicultura	157
12.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	158
12.6. Detección de residuos de antibióticos en el medio ambiente mediante sensores biotecnológicos.....	159
12.7. Nefrología y ecología: El impacto ambiental de los residuos de fármacos nefrotóxicos	160
12.8. Sostenibilidad del laboratorio de microbiología frente al uso de plásticos y reactivos	161
12.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	162
12.10. Hacia un tratado global de vigilancia genómica de la resistencia	163
12.11. Educación comunitaria en el uso responsable de antimicrobianos desde una visión sistémica.....	165

12.12. Visión 2030: De la resistómica estructural a la erradicación de la sepsis prevenible	166
12.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras ...	167
Bibliografía	169
Glosario.....	178

Índice de figuras

Figura 1. Arquitectura de la envoltura celular	15
Figura 2. Estructura de la porina OmpF	17
Figura 3. Bomba de eflujo tipo RND.....	18

Introducción

La resistencia antimicrobiana ha dejado de ser un fenómeno restringido a lo microbiano para transformarse en un proceso más complicado que la medicina contemporánea ha de asumir. La capacidad de las bacterias de adquirir, recombinar y transmitir determinantes genéticos de resistencia ha cambiado muy profundamente la utilidad de las pruebas a las que se puede someter a una bacteria, disminuyendo la utilidad de los procedimientos clínicos más básicos, como una operación o una transfusión y ha aumentado la carga sanitaria en todo el mundo, se debe empezar a comprender el fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos de un modo que vaya más allá de la mera identificación de genes de resistencia. Este escenario exige una comprensión los genes de resistencia como un sistema académico y científico que pone en juego procesos evolutivos, ecológicos y moleculares entrelazados.

En el marco de esta perspectiva, se presenta la resistómica estructural, un área que articula la caracterización del resistoma con el análisis funcional de los mecanismos celulares responsables que las bacterias sobrevivan a la presión antimicrobiana. Esta visión incluye el estudio de la estructura genómica de los microorganismos, el movimiento de los elementos genéticos, las modificaciones de la envoltura celular, las redes regulatorias y las interacciones hacen que la resistencia emerja de comunidades microbianas complejas, en lugar de constituir una característica propia de ciertos patógenos.

La presente obra desarrolla este paradigma desde una visión integradora que articula la biología molecular, la microbiología clínica, la genómica, la bioinformática y las tecnologías diagnósticas de última generación. El contenido examina con profundidad los procesos que gobiernan la transferencia horizontal de genes, la función del mobiloma, la participación de plásmidos, integrones, transposones y bacteriófagos en la propagación de la resistencia, así como la fisiopatología de la envoltura celular, incluyendo la dinámica de porinas, bombas de eflujo y sistemas regulatorios que condicionan la respuesta bacteriana frente a múltiples familias de antimicrobianos.

Un pilar esencial del libro gira en torno al análisis del fenotipado rápido de la susceptibilidad antimicrobiana, cuyo desarrollo ha cambiado profundamente los diagnósticos microbiológicos de la actualidad. La llegada de instrumentos como la espectrometría de masas MALDI-TOF, la secuenciación de genoma completo (WGS), la reacción en cadena de la polimerasa o los modelos de inteligencia artificial aplicados al análisis genómico permiten

acercarse a un diagnóstico de precisión ortodoxo capaz de predecir perfiles de resistencia con gran validez, fomentando la toma de decisiones clínicas y los sistemas de vigilancia epidemiológica.

De igual modo, la obra incluye el enfoque One Health como principio único para entender cómo la circulación de los determinantes genéticos de resistencia celebra una interacción constante entre los ecosistemas humano, animal y el medio ambiente. Desde este enfoque, la vigilancia del genoma, la gestión racional del antimicrobiano y el desarrollo de tecnologías predictivas son componentes inseparables de una estrategia global para evitar que la resistencia progrese en entornos clínicos y comunitarios.

Destinada no solo a investigadores/as, sino también a profesionales del laboratorio clínico, microbiólogos/as, infectólogos/as, docentes y estudiantes de las ciencias de la salud, esta publicación permite contar con una base científica de conceptos, pero también de avances, que ayudan a discriminar y comprender los mecanismos que favorecen la resistencia antimicrobiana y las herramientas que posibilitan cambiar el diagnóstico microbiológico. Su contenido también se enfoca de una crítica sobre la evidencia reciente, pero contribuye a construir un marco de referencia que permita apoyar en la investigación, la formación académica y el apoyo para reforzar las estrategias, mecanismos de vigilancia y control de un reto extremadamente importante de la salud global contemporánea.

SECCIÓN I: MECÁNICA MOLECULAR DE LA RESISTENCIA: RESISTOMA, MOBILOMA Y FISIOPATOLOGÍA CELULAR

Capítulo 1:

Arquitectura del Resistoma y Dinámica de la Transferencia Horizontal de Genes (HGT)

1.1. Estratigrafía del resistoma intrínseco vs. adquirido en patógenos ESKAPE

La arquitectura genómica de los patógenos que integran el acrónimo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter*) representa una de las fronteras más complejas en la medicina contemporánea, donde la estratigrafía de la resistencia no es un fenómeno monolítico, sino una superposición de capacidades evolutivas (Gaubá y Rahman, 2023). El resistoma intrínseco constituye la base basal de esta estructura, integrando rasgos filogenéticos fijos que han evolucionado no necesariamente como respuesta a la presión antibiótica antrópica, sino como mecanismos de supervivencia en nichos ecológicos competitivos (Y et al., 2025). En organismos como *Pseudomonas aeruginosa*, esta estratificación basal es particularmente robusta, manifestándose a través de una permeabilidad de la membrana externa que es aproximadamente cien veces inferior a la observada en *Escherichia coli*, lo que restringe el radio hidrodinámico de entrada para moléculas hidrofílicas como los betalactámicos (W et al., 2024). Este fenómeno de exclusión estérica se complementa con la presencia constitutiva de sistemas de eflujo multidrogas de la familia RND (*Resistance-Nodulation-Division*), que actúan como nanomaquinarias de extrusión activa, capaces de reconocer y expulsar sustratos estructuralmente disímiles antes de que alcancen su diana intracelular (W et al., 2024).

Por otro lado, el resistoma adquirido representa la plasticidad genómica en respuesta a la selección antibiótica, donde los patógenos ESKAPE demuestran una capacidad superior para integrar material genético exógeno (Elshobary et al., 2025). Esta estratificación se caracteriza por la adquisición de determinantes específicos, como las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas, que neutralizan de manera enzimática los antibióticos de último recurso. Investigaciones recientes en el contexto clínico ecuatoriano han evidenciado que aislados de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* presentan perfiles multigénicos

donde coexisten variantes de *blaCTX-M*, *blaTEM* y *blaSHV*, lo que refleja una acumulación estratigráfica de genes de resistencia que saturan las opciones terapéuticas. Esta convergencia de mecanismos no es aleatoria; patógenos como *K. pneumoniae* actúan como reservorios críticos de plásmidos que facilitan la diseminación de carbapenemasas tipo KPC, comprimiendo la eficacia de los carbapenémicos a niveles de susceptibilidad residual.

La fisiopatología celular de esta dicotomía intrínseco-adquirida se manifiesta en la remodelación de la envoltura celular (Gauba y Rahman, 2023). Mientras que la resistencia intrínseca utiliza la arquitectura basal de porinas como OmpC y OmpF, la resistencia adquirida a menudo implica la inactivación mutacional de estos canales o su reemplazo por variantes con menor conductancia. En *Escherichia coli*, por ejemplo, la regulación transcripcional mediada por sistemas de dos componentes como EnvZ-OmpR permite una transición adaptativa entre porinas en respuesta a cambios en la osmolaridad o la presencia de estrés antibiótico, lo que constituye una estrategia de resistencia adaptativa que modula el flujo de entrada de fármacos (Gauba y Rahman, 2023). Además, la hiperactividad de las bombas de eflujo, como el complejo AcrAB-TolC, correlaciona positivamente con incrementos en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de carbapenémicos, sugiriendo que la sobreexpresión de estos componentes intrínsecos potencia la eficacia de las carbapenemasas adquiridas (Jaiswal et al., 2022).

La relevancia clínica de esta estratigrafía es absoluta, ya que el fenotipado rápido depende de la comprensión de estas interacciones (Tamami et al., 2025). La integración de métodos como la espectrometría de masas MALDI-TOF y el análisis genotípico mediante PCR permite una caracterización precisa que supera las limitaciones del cultivo convencional. Como señalan (Bilal et al., 2025), el uso de algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) sobre datos de secuenciación de genoma completo (WGS) permite predecir fenotipos de resistencia con una precisión superior al 95%, identificando marcadores críticos que subyacen a la multirresistencia en patógenos como *Acinetobacter baumannii*. Esta capacidad predictiva es fundamental en entornos de cuidados intensivos, donde la detección de genes como *blaOXA-23* o *blaNDM* debe guiar la terapia empírica de manera inmediata para reducir las tasas de mortalidad, que se proyectan alcanzar los 10 millones de defunciones anuales para mediados de siglo si no se implementan medidas de control de precisión (Y et al., 2025).

1.2. Mecanismos moleculares de conjugación plasmídica y sistemas de secreción tipo IV

La dinámica de la Transferencia Horizontal de Genes (HGT) es el motor principal de la expansión del mobiloma, siendo la conjugación plasmídica el mecanismo más eficaz para la diseminación masiva de determinantes de resistencia entre taxones bacterianos incluso filogenéticamente distantes (Michaelis y Grohmann, 2023). Este proceso molecular es mediado por el Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS), una nanomaquinaria proteica transenvoltura que facilita el transporte unidireccional de ácidos nucleicos desde una célula donante a una receptora (Michaelis y Grohmann, 2023). La conjugación se inicia con el reconocimiento del sitio *oriT* (origen de transferencia) por un complejo nucleoproteico denominado relaxosoma, donde la enzima relaxasa cataliza una mella específica en la cadena de ADN, uniéndose covalentemente al extremo 5' para guiar el complejo a través del canal de secreción. Este mecanismo no solo es vital para plásmidos autónomos, sino también para los elementos integrativos y conjugativos (ICEs), que tras su escisión cromosómica, secuestran la maquinaria de transferencia para su propagación horizontal.

La eficiencia de este proceso se ve drásticamente potenciada en el contexto de los biofilms, que actúan como "hotspots" o epicentros de intercambio. La proximidad física extrema entre las células dentro de la matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) reduce las barreras mecánicas para la formación de pares de apareamiento y aumenta la probabilidad de eventos de transferencia exitosos (Michaelis y Grohmann, 2023). En estas comunidades sésiles, los plásmidos conjugativos a menudo aumentan su número de copias y se mantienen con una estabilidad superior en comparación con las poblaciones planctónicas, funcionando como sumideros de plásmidos que preservan el arsenal genético de resistencia incluso en ausencia de presión selectiva directa. Además, la coexistencia de múltiples especies en biofilms polimicrobianos, como los encontrados en dispositivos médicos o heridas crónicas, facilita que patógenos como *Staphylococcus aureus* adquieran determinantes de resistencia de especies comensales mediante transformación natural o mediada por vesículas de membrana externa.

El papel de los T4SS se extiende más allá de la mera transferencia de ADN, participando en la translocación de factores de virulencia que exacerban la patogenicidad de organismos ESKAPE (Michaelis y Grohmann, 2023). Estos sistemas son mosaicos estructurales que varían entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, adaptándose a las diferencias en la composición de la pared celular para asegurar la integridad de la unión intercelular durante la

transferencia. En entornos hospitalarios, la diseminación de plásmidos de amplio rango de hospederos, como los pertenecientes a los grupos de incompatibilidad IncP, IncW e IncH, permite que genes críticos como *mcr-1* (resistencia a colistina) o metalo-betalactamasas tipo NDM se propaguen desde reservorios ambientales o animales hacia patógenos humanos. Este flujo transfronterizo de material genético subraya la necesidad de una vigilancia bajo el enfoque "One Health", integrando la salud humana, animal y ambiental (Tamami et al., 2025).

Desde una perspectiva analítica avanzada, la topología de los datos genómicos (TDA) y la homología persistente han emergido como herramientas fundamentales para capturar estos eventos de HGT no jerárquicos (Guerrero et al., 2025). A diferencia de los modelos filogenéticos arbóreos tradicionales, que asumen una herencia vertical, la TDA puede identificar "agujeros" o desviaciones en la estructura de los datos que corresponden a transferencias horizontales de grandes regiones genómicas, como plásmidos de la familia IncF. Esta capacidad de inferir HGT a partir de la mera presencia o ausencia de genes en el resistoma, sin necesidad de secuencias de ADN completas, permite mapear la evolución de brotes nosocomiales con una resolución sin precedentes. Según la argumentación de detección de estos agujeros topológicos revela conexiones sinópticas entre aislados de diferentes géneros, como *Escherichia* y *Klebsiella*, confirmando que el mobiloma compartido es el principal determinante de la crisis global de resistencia antimicrobiana.

En conclusión, la mecánica molecular de la resistencia en los patógenos ESKAPE es un sistema dinámico donde la arquitectura del resistoma se redefine constantemente por la actividad del mobiloma (Gauba y Rahman, 2023). La estratigrafía genómica revela que la resistencia no es solo un rasgo individual, sino una propiedad emergente de comunidades microbianas complejas y de la circulación global de elementos genéticos móviles (Denk y Wood, 2023). La implementación de estrategias de administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship) y el desarrollo de nuevas moléculas antibacterianas, como los péptidos antimicrobianos (AMPs) que despolarizan la membrana citoplasmática, deben fundamentarse en esta comprensión profunda de la mecánica molecular para contener eficazmente la diseminación de la resistencia y asegurar la viabilidad de los tratamientos médicos en el futuro (Y. et al., 2025).

1.3. Integrones y transposones: La plasticidad del mobiloma bajo presión selectiva

La evolución genómica bacteriana no es un proceso estático, sino una orquestación sofisticada de reordenamientos genéticos donde los integrones y transposones actúan como los

arquitectos primarios de la plasticidad fenotípica (Michaelis y Grohmann, 2023). El integrón, particularmente el de clase 1, funciona como una plataforma de captura genética de alta eficiencia que utiliza una integrasa específica (IntI1) para reconocer e incorporar casetes de genes de resistencia mediante eventos de recombinación en sitios específicos denominados *attI*. Este mecanismo permite a los patógenos "almacenar" determinantes genéticos, como los genes *sulI* para sulfonamidas o *tetA* para tetraciclinas, facilitando una respuesta adaptativa inmediata ante la exposición a fármacos (Franklin et al., 2024). Bajo el prisma de la fisiopatología molecular, la presencia de la integrasa IntI1 no solo es un marcador de resistencia, sino un indicador de presión antrópica, ya que su abundancia correlaciona directamente con entornos contaminados por residuos industriales y agropecuarios.

La dinámica de los transposones complementa esta arquitectura al proporcionar la movilidad física necesaria para translocar estos bloques genéticos entre el cromosoma bacteriano y los plásmidos (Michaelis y Grohmann, 2023). Esta transferencia no es un evento azaroso, sino un proceso impulsado por la selección purificadora y diversificadora. En contextos clínicos, se ha observado que la co-localización de genes que codifican para betalactamasas de espectro extendido (BLEE) con determinantes de resistencia a metales pesados en un mismo transposón crea un fenómeno de co-selección, donde incluso la exposición a contaminantes ambientales no antibióticos mantiene la virulencia y la multiresistencia de la población bacteriana. Como bien señalan (Elbehiry et al., 2025), esta convergencia genética en plásmidos mosaico comprime las opciones terapéuticas de último recurso, transformando bacterias comensales en patógenos refractarios a múltiples familias de antimicrobianos.

1.4. Cinética de la transferencia de genes de resistencia en biopelículas maduras

La transición del estado planctónico al estilo de vida sésil en biopelículas altera radicalmente la cinética de la Transferencia Horizontal de Genes (HGT), convirtiendo a estas estructuras en verdaderos epicentros de diversificación genómica. La matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) desempeña un papel dual, por un lado, actúa como un reservorio físico que estabiliza el ADN extracelular (eDNA), protegiéndolo de la degradación por nucleasas y facilitando la transformación natural; por otro, mantiene una proximidad celular extrema que optimiza la formación de puentes de conjugación mediada por el sistema de secreción tipo IV (T4SS) (Michaelis y Grohmann, 2023). En biopelículas maduras, la tasa de transferencia plasmídica puede ser hasta mil veces superior a la observada en cultivos

líquidos, debido a que la heterogeneidad metabólica y los gradientes de oxígeno crean nichos donde las células donantes y receptoras persisten en un estado de alta receptividad genética.

Desde una perspectiva de cinética molecular, las biopelículas funcionan como "sumideros de plásmidos", donde los elementos genéticos móviles se conservan incluso en ausencia de una presión selectiva directa, actuando como una memoria genética de la comunidad (Michaelis y Grohmann, 2023). Esta retención a largo plazo se debe a que la estructura tridimensional de la biopelícula minimiza el costo biológico (fitness cost) asociado a la replicación de plásmidos de alto peso molecular. Investigaciones metagenómicas globales han confirmado que los resistomas de biopelículas en ecosistemas acuáticos y entornos hospitalarios muestran una mayor diversidad de genes de resistencia compartidos en comparación con las poblaciones de vida libre, lo que subraya la eficiencia de la biopelícula como catalizador de la crisis global de resistencia. La relevancia clínica es devastadora, las infecciones asociadas a dispositivos médicos, como catéteres o prótesis, no solo resisten la penetración del fármaco por la barrera física de la EPS, sino que evolucionan genéticamente *in situ* hacia fenotipos de resistencia extrema (Elshobary et al., 2025).

1.5. Impacto de los bacteriófagos en la movilización de determinantes genéticos

Los bacteriófagos representan una de las fuerzas evolutivas más infravaloradas pero potentes en la diseminación de la resistencia antimicrobiana a través de la transducción (Elshobary et al., 2025). A diferencia de la conjugación, que requiere contacto físico directo, la transducción mediada por fagos permite el transporte de material genético a través de grandes distancias y entornos hostiles, dado que las partículas virales son altamente estables frente a variaciones de pH y temperatura (Michaelis y Grohmann, 2023). Se distinguen tres mecanismos críticos, la transducción generalizada, la especializada y la recientemente caracterizada transducción lateral. Esta última es particularmente alarmante, ya que permite la encapsidación de fragmentos cromosómicos de hasta 100 kb que flanquean el sitio de integración del profago, facilitando la transferencia masiva de islas de patogenicidad y grupos de genes de resistencia de una sola vez.

El impacto ecológico de los fagos como vehículos de resistencia es absoluto en entornos acuáticos y residuales, donde la densidad de partículas virales puede alcanzar los 10^{31} (Michaelis y Grohmann, 2023). Se ha demostrado que los fagos pueden actuar como reservorios ambientales de genes de resistencia, transportando genes como *mcr-1* (resistencia a colistina) o metalo-betalactamasas tipo NDM entre especies bacterianas distantes, como

aquellas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y géneros ambientales como *Aeromonas* (Michaelis & Grohmann, 2023). Como argumentan (Elshobary et al., 2025), la sinergia fago-antibiótico es una espada de doble filo, mientras que la fagoterapia emerge como una alternativa viable para eliminar patógenos multirresistentes, los mismos fagos pueden exacerbar el problema al movilizar determinantes genéticos si no se seleccionan variantes estrictamente líticas. En consecuencia, la vigilancia del viroma ambiental es un componente ineludible de cualquier estrategia "One Health" diseñada para contener la propagación de la resistencia.

1.6. Recombinación homóloga y heteróloga en la evolución de carbapenemasas

La evolución de las carbapenemasas representa el pináculo de la ingeniería genética bacteriana, impulsada por procesos incesantes de recombinación homóloga y heteróloga (Liu et al., 2025). En patógenos como *Klebsiella pneumoniae*, la emergencia del linaje altamente exitoso ST11-KL64 es un ejemplo paradigmático de este fenómeno; este clon se originó a partir del linaje KL47 a través de un evento de recombinación homóloga masiva que alteró su envoltura capsular, confiriéndole una mayor capacidad de evasión inmunológica y competitividad *in vitro* (Liu et al., 2025). Este tipo de reordenamiento no solo altera el fenotipo de virulencia, sino que facilita la integración de plásmidos que portan genes *blaKPC-2* y *blaNDM-1*, consolidando cepas que son simultáneamente hipervirulentas y multirresistentes (Liu et al., 2025).

La recombinación heteróloga, por su parte, permite la formación de plásmidos mosaico donde casetes de resistencia de diversos orígenes filogenéticos se ensamblan bajo un mismo promotor, a menudo mediado por secuencias de inserción como IS26. Estos eventos de recombinación generan arquitecturas genómicas complejas donde las metalo-betalactamasas coexistir con determinantes de resistencia a colistina (*mcr*) en una sola plataforma móvil (Elbehiry et al., 2025). La fisiopatología de estas cepas recombinantes se caracteriza por un incremento en la concentración mínima inhibitoria (CMI) que desafía incluso a los inhibidores de betalactamasas de nueva generación. Como explican (Hala et al., 2024), la dinámica evolutiva de clones emergentes como el ST2096 demuestra que la adquisición de mutaciones en genes reguladores como *mgrB* potencia la resistencia conferida por la recombinación, creando un ciclo de retroalimentación positiva que asegura la fijación de estos linajes en el entorno hospitalario bajo una intensa presión selectiva (Hala et al., 2024). En conclusión, la mecánica molecular de la resistencia es un sistema de plasticidad extrema donde la

recombinación redefine constantemente el límite de la supervivencia bacteriana (Liu et al., 2025).

1.7. Coste adaptativo y estabilidad de los plásmidos multirresistentes

La integración de plásmidos multirresistentes en el ecosistema genómico bacteriano no es un evento exento de consecuencias bioenergéticas, sino que impone una carga metabólica significativa, conceptualizada como el coste adaptativo. Este fenómeno se fundamenta en la divergencia de recursos celulares, donde la maquinaria de replicación, transcripción y traducción de la célula hospedadora es secuestrada para el mantenimiento de estos elementos extracromosómicos. En patógenos de alta prioridad como *Klebsiella pneumoniae*, la presencia de plásmidos de gran tamaño, como los pertenecientes al grupo de incompatibilidad IncF, puede alterar la homeostasis proteica, compitiendo con genes cromosómicos esenciales por la disponibilidad de complejos de ARN polimerasa y ribosomas (Tamami et al., 2025). La evaluación de esta carga metabólica se realiza habitualmente mediante el análisis de las cinéticas de crecimiento y la medición de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) en condiciones de competencia, donde se observa que, en ausencia de presión selectiva, las cepas que portan plásmidos tienden a ser desplazadas por sus contrapartes isogénicas libres de estos elementos debido a una menor tasa de replicación celular (Michaelis y Grohmann, 2023).

Sin embargo, la estabilidad de estos plásmidos en las poblaciones clínicas se mantiene mediante procesos de evolución compensatoria (Michaelis y Grohmann, 2023). A través de mutaciones puntuales tanto en el cromosoma como en el plásmido, las bacterias logran mitigar el impacto negativo del nuevo material genético, optimizando la interacción entre los factores de replicación del huésped y el plásmido (Denk y Wood, 2023). Investigaciones recientes sugieren que el estilo de vida sésil en biopelículas actúa como un factor determinante en la preservación de esta carga genética, funcionando como "sumideros de plásmidos" donde la proximidad física y la heterogeneidad metabólica minimizan el coste de. Como argumentan Michaelis y Grohmann, (2023), las biopelículas permiten que los plásmidos persistan incluso en nichos ambientales donde la concentración de antibióticos es subinhibitoria, sirviendo como una memoria genética que asegura la resiliencia de la comunidad ante futuros desafíos farmacológicos.

1.8. Sistemas de toxina-antitoxina y el mantenimiento de la carga genética de resistencia

El mantenimiento de los determinantes de resistencia en condiciones de inestabilidad segregacional es orquestado de manera magistral por los sistemas de toxina-antitoxina (TA). Estas nanomaquinarias moleculares, clasificadas en múltiples tipos según la naturaleza de sus componentes, aseguran la persistencia plasmídica a través de un mecanismo de "matanza post-segregacional" (Michaelis y Grohmann, 2023). El sistema funciona mediante la producción de una toxina estable que interfiere con procesos celulares vitales (como la síntesis de proteínas o la replicación del ADN) y una antitoxina inestable que neutraliza su efecto (Michaelis & Grohmann, 2023). Cuando una célula hija no hereda el plásmido durante la división, la antitoxina se degrada rápidamente, permitiendo que la toxina residual induzca la muerte celular o un estado de latencia metabólica, eliminando así a las células libres de plásmidos de la población (Michaelis & Grohmann, 2023). Esta estrategia es fundamental para la estabilidad de plásmidos multirresistentes en patógenos ESKAPE, asegurando que la carga genética de resistencia, como los genes *bla_{NDM}* o *mcr-1*, no se pierda incluso en entornos hospitalarios con protocolos de administración de antimicrobianos estrictos (Elshobary et al., 2025).

Desde la perspectiva de la fisiopatología celular, los sistemas TA no solo garantizan la herencia vertical, sino que también modulan la formación de células persistentes (Elshobary et al., 2025). Estas células, que se encuentran en un estado de quiescencia reversible, presentan una tolerancia extrema a los antibióticos independientemente de su composición genotípica, lo que permite la supervivencia de la comunidad bacteriana ante tratamientos prolongados (Elshobary et al., 2025). La sobreexpresión de sistemas TA en biopelículas maduras correlaciona con un incremento en la densidad de persistentes, lo que complica la erradicación de infecciones crónicas asociadas a dispositivos médicos. El análisis de estos sistemas mediante técnicas de metatranscriptómica ha revelado que la regulación de los módulos TA es altamente sensible al estrés oxidativo y a la privación de nutrientes, lo que sugiere que las bacterias utilizan estos sistemas como sensores.

1.9. Transferencia interespecífica de genes de resistencia en el microbioma humano

El microbioma humano, particularmente el nicho intestinal, constituye un epicentro dinámico para la transferencia interespecífica de determinantes de resistencia, actuando como un centro de intercambio global (X et al., 2025). Investigaciones metagenómicas masivas han

demostrado que aproximadamente el 85% de los genes de resistencia (ARGs) identificados en el microbioma humano se comparten con hábitats externos, incluyendo suelos agrícolas, aguas residuales y ecosistemas animales. Este flujo genético transfronterizo es impulsado por eventos de Transferencia Horizontal de Genes (HGT) que superan las barreras filogenéticas, permitiendo que bacterias comensales, como las de los filos *Bacteroidota* y *Bacillota*, actúen como reservorios permanentes de resistencia para patógenos oportunistas como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Tamami et al., 2025). La eficiencia de esta transferencia se ve potenciada por la alta densidad celular y la abundancia de elementos genéticos móviles, donde los plásmidos de amplio rango de hospederos facilitan el cruce de fronteras taxonómicas que antes se consideraban infranqueables

La relevancia de este intercambio interespecífico radica en la formación de un "núcleo de resistoma" compartido, donde genes antiguos que evolucionaron en bacterias del suelo para la autoprotección han sido cooptados por la microbiota humana bajo la presión de la era antibiótica (Elbehiry et al., 2025). La detección de variantes de betalactamasas tipo CTX-M y genes de resistencia a la colistina (*mcr*) en aislados de origen comunitario subraya que el microbioma humano no es solo un receptor pasivo, sino un motor de diversificación (Tamami Tualombo et al., 2025). Como bien señalan (J et al., 2022), la actividad antropogénica masiva ha intensificado estas rutas de transmisión cruzada, sugiriendo que la vigilancia debe integrarse bajo un enfoque "One Health" que considere al ser humano como un nodo central en una red global de diseminación de resistencia. Este fenómeno tiene implicaciones críticas para la terapia empírica, ya que el estado del resistoma intestinal puede predecir el éxito o fracaso del tratamiento ante una infección sistémica secundaria.

1.10. Modelado estocástico de la propagación de determinantes genéticos en nichos clínicos

La predicción de la diseminación de la resistencia antimicrobiana ha evolucionado hacia el uso de modelos estocásticos y topológicos avanzados que permiten capturar la naturaleza no lineal de los eventos de HGT (Bilal et al., 2025). El empleo del Análisis de Datos Topológicos (TDA) y la homología persistente ha permitido identificar estructuras circulares o "agujeros" en los conjuntos de datos genómicos, los cuales representan desviaciones de la herencia vertical tradicional asociadas a transferencias masivas de plásmidos o islas genómicas. A diferencia de los modelos filogenéticos lineales, estos enfoques topológicos pueden inferir eventos de HGT a partir de matrices de presencia-ausencia de genes, proporcionando una

resolución superior para mapear brotes nosocomiales donde el material genético se mueve rápidamente entre especies disímiles. Esta metodología es particularmente eficaz para analizar la dinámica de clones emergentes como el ST2096 de *K. pneumoniae*, permitiendo reconstruir redes de transmisión en entornos de cuidados intensivos con una precisión superior al 90% (Guerrero et al., 2025).

Paralelamente, la integración de algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) y redes neuronales convolucionales sobre datos de secuenciación de genoma completo (WGS) permite predecir fenotipos de resistencia a partir de patrones crípticos en el mobiloma (Bilal et al., 2025). Estos modelos pueden procesar miles de variantes genéticas de alta dimensionalidad, como polimorfismos de nucleótido único (SNPs), para identificar marcadores moleculares de resistencia que eluden el análisis manual. Como argumentan Bilal et al., (2025), el modelado de la propagación en nichos clínicos debe considerar variables no genómicas, como el movimiento de pacientes entre salas y el uso de antimicrobianos a nivel de unidad, para generar sistemas de alerta temprana eficaces. El uso de simulaciones de Monte Carlo y modelos basados en agentes permite testear escenarios contrafácticos, como el impacto de cambios en los protocolos de desinfección sobre la prevalencia de genes como *blaOXA-23* en bioaerosoles, proporcionando una base científica para el diseño de políticas de control de infecciones basadas en datos.

1.11. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual crisis de resistencia antimicrobiana se encuentra en una encrucijada donde persisten controversias críticas sobre el papel de ciertos reservorios ambientales, como los bacteriófagos y las vesículas de membrana externa (Elshobary et al., 2025). Mientras que algunos estudios sugieren que los fagos actúan como reservorios masivos de genes de resistencia en entornos acuáticos, otros análisis críticos indican que la abundancia de estos genes en el viroma ambiental podría estar sobreestimada debido a contaminaciones con ADN bacteriano durante los procesos de secuenciación. Esta discrepancia subraya la necesidad de estandarizar los protocolos bioinformáticos y de laboratorio para asegurar que las políticas de salud pública se basen en evidencia empírica robusta. Asimismo, la correlación genotipo-fenotipo sigue siendo imperfecta; la mera presencia de un gen de resistencia detectado por PCR o WGS no siempre se traduce en un fenotipo resistente, debido a factores como la baja expresión génica, mutaciones en los sitios de unión de cebadores o la modulación transcripcional mediada por sistemas de dos componentes (Tamami, 2025).

Hacia el futuro, la Resistómica Estructural debe transitar hacia la integración de datos multiómicos en tiempo real (Bilal et al., 2025). La perspectiva futura se centra en el desarrollo de gemelos digitales (digital twins) de administración de antimicrobianos que combinen modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) con el perfil genómico del resistoma del paciente (Bilal et al., 2025). Este enfoque permitiría una terapia de precisión que minimice la selección de resistencia colateral (Elbehiry et al., 2025). Además, la implementación de tecnologías basadas en CRISPR-Cas para la eliminación selectiva de plásmidos de resistencia dentro del microbioma humano emerge como una alternativa prometedora frente a la escasez de nuevos antibióticos de amplio espectro (Elshobary et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia requiere una transformación del paradigma clínico, donde el diagnóstico microbiológico no sea solo una herramienta reactiva, sino el núcleo operativo de una red de vigilancia genómica global integrada bajo el enfoque de "One Health".

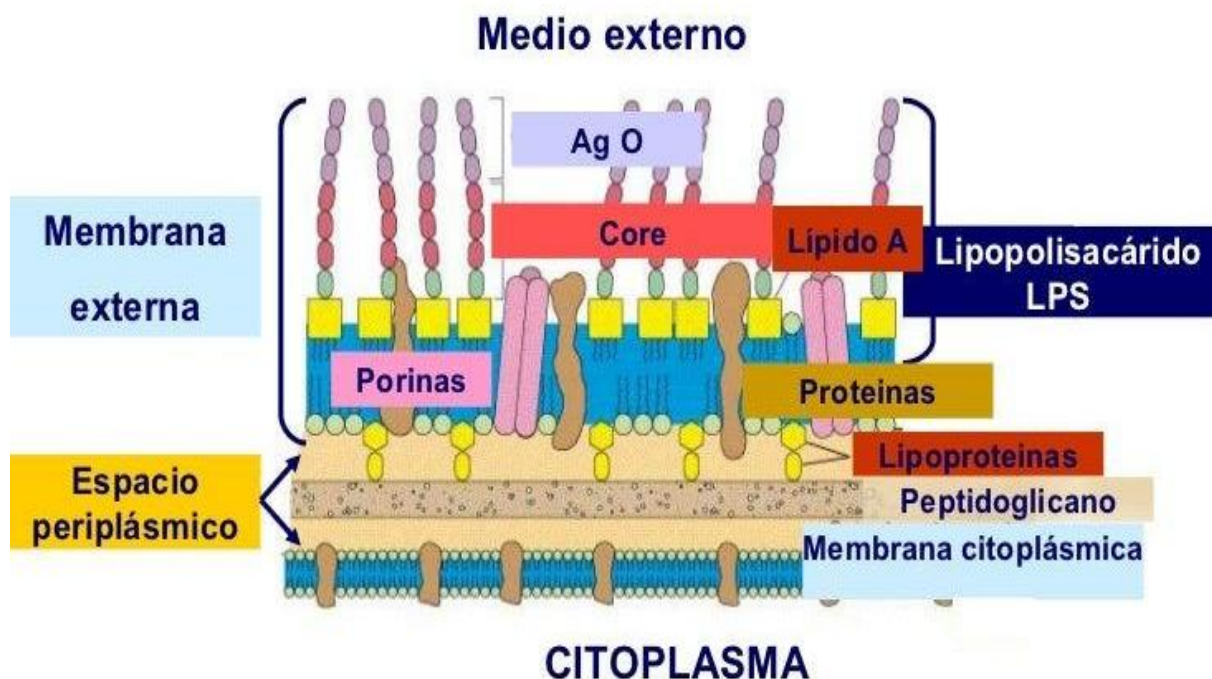
Capítulo 2:

Fisiopatología de la Envoltura Celular: Dinámica de Porinas y Bombas de Eflujo

2.1. Biofísica del paso de solutos a través de porinas OmpC y OmpF

La envoltura celular bacteriana es la primera barrera fisiológica que puede determinar el éxito o el fracaso de una acción antimicrobiana, Al no ser una estructura pasiva sino de un sistema dinámico que regula el ingreso y la expulsión de moléculas, percibe los cambios ambientales activos y permite la marcha respuestas adaptativas que favorecen la supervivencia del microorganismo al estrés farmacológico. La organización molecular de esta envoltura celular bacteriana establece la permeabilidad de la célula, la eficacia de los sistemas de transporte y la posibilidad de desarrollar mecanismos de resistencia que limitan la concentración intracelular de los antibióticos.

Figura 1.
Arquitectura de la envoltura celular



Fuente: Tomado de Outer Membrane Porins Contribute to Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria.

La permeabilidad selectiva de la membrana externa en las enterobacterias, particularmente en modelos de estudio como *Escherichia coli*, no es un proceso de difusión

pasiva simple, sino una orquestación biofísica mediada por nanoconductos proteicos conocidos como porinas (Gauba y Rahman, 2023). Las porinas mayoritarias, OmpC y OmpF, se estructuran como homotrómeros donde cada monómero constituye un barril beta compuesto por 16 hebras antiparalelas, definiendo un poro lleno de agua que atraviesa la barrera lipídica (Gauba y Rahman, 2023). La biofísica de la translocación a través de estos canales está limitada por un umbral de exclusión molecular, generalmente restringido a moléculas con una masa inferior a los 600 Daltons, lo que impone una barrera estérica insalvable para muchos agentes citotóxicos de gran tamaño (Korczak et al., 2024). Sin embargo, la discriminación no es solo volumétrica; existe una selectividad electrostática crítica donde OmpC y OmpF muestran una preferencia intrínseca por solutos hidrofílicos con carga catiónica, facilitando la entrada de nutrientes esenciales pero también de antibióticos betalactámicos y fluoroquinolonas.

La dinámica operativa entre OmpC y OmpF está regulada por condiciones de estrés ambiental y osmolaridad, un fenómeno mediado por el sistema de dos componentes EnvZ-OmpR (Gauba y Rahman, 2023). Bajo condiciones de baja osmolaridad, la bacteria favorece la expresión de OmpF, cuyo radio hidrodinámico es ligeramente superior, optimizando la captación de nutrientes en entornos diluidos (Gauba & Rahman, 2023). Por el contrario, en entornos de alta presión osmótica similares al tracto gastrointestinal humano se produce una transición hacia la expresión predominante de OmpC, que posee un canal más restrictivo y una mayor densidad de carga negativa en su interior, lo que reduce la velocidad de influjo de moléculas potencialmente nocivas. Esta remodelación de la envoltura celular es una respuesta adaptativa sofisticada; como bien argumentan (Grobeisen et al., 2025), las bacterias no solo alteran el número de canales, sino que utilizan ARN no codificantes como *micF* y *micC* para silenciar de manera post-transcripcional la síntesis de una porina mientras activan la otra, modulando así el flujo total de antibióticos hacia el espacio periplasmático.

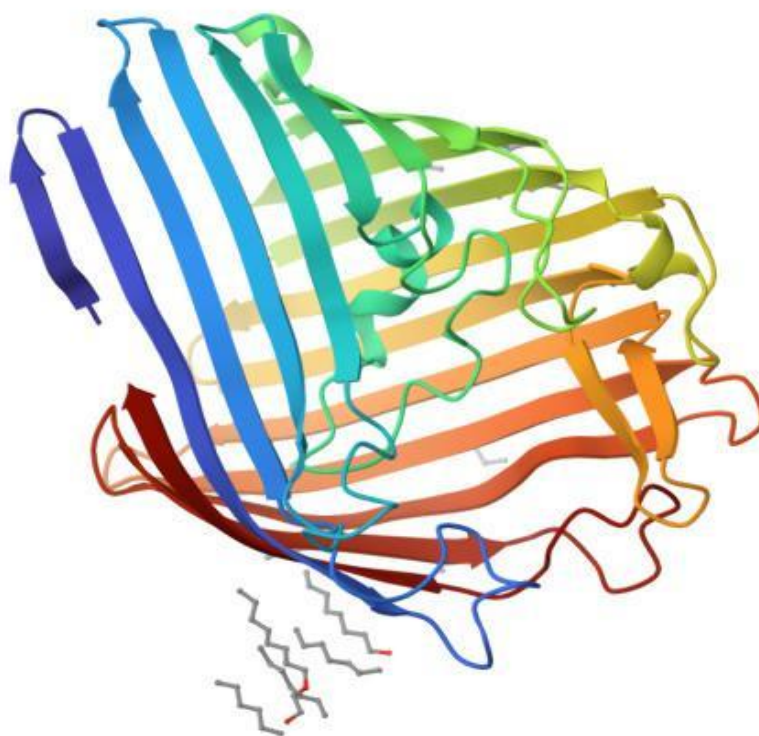
2.2. Mecanismos de subexpresión y cierre de porinas bajo exposición a carbapenémicos

La exposición sostenida a antibióticos de último recurso, específicamente los carbapenémicos, desencadena una respuesta fisiopatológica de confinamiento genómico, caracterizada por la subexpresión drástica o la pérdida funcional de porinas específicas (Y. Wu et al., 2025). En patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, el canal OprD actúa como la principal vía de entrada para imipenem y meropenem; por tanto, la inactivación mutacional del marco de lectura abierto (ORF) de *oprD* o la represión de su promotor resultan en un fenotipo de resistencia a carbapenémicos de alta relevancia clínica. Este fenómeno de subexpresión no

es estático, sino que está finamente sintonizado por redes regulatorias complejas que incluyen factores sigma como SigX y RpoN, y sistemas de transducción de señales que responden a la presencia de metales pesados como el zinc (Zn^{2+}) a través del sistema CzcS/CzcR, el cual reprime directamente la transcripción de *oprD*.

Figura 2.

Estructura de la porina OmpF



Fuente: Tomado de Interplay between porin deficiency, fitness, and virulence (2025)

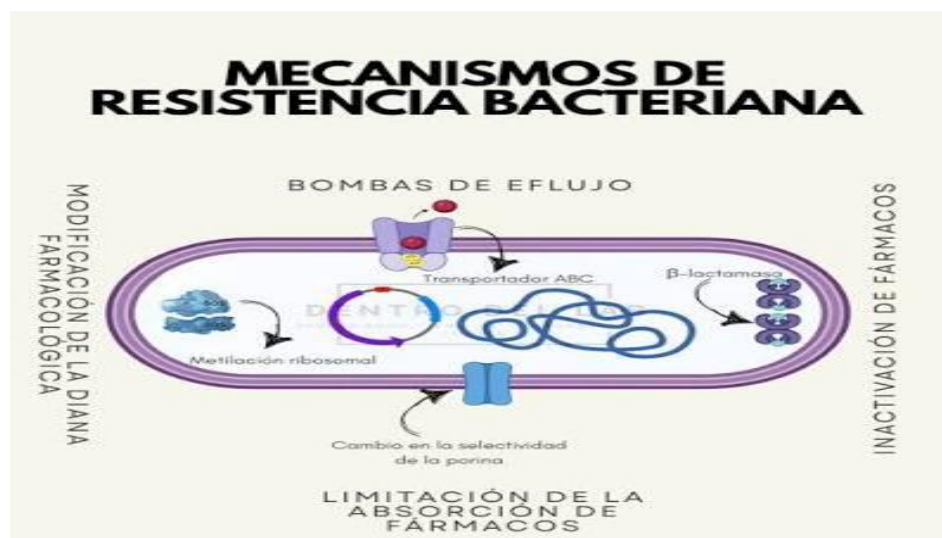
En el contexto de las Enterobacteriaceae, la resistencia mediada por porinas implica frecuentemente la pérdida de OmpK35 y OmpK36 en *Klebsiella pneumoniae* (Gaubá y Rahman, 2023). Las investigaciones de (Grobeisen-Duque et al., 2025) han demostrado que la emergencia de clones multirresistentes, como el linaje ST258, está vinculada a inserciones de dipéptidos (glicina-aspartato) en el bucle extracelular 3 de OmpK36, lo que constriñe físicamente el poro y reduce la susceptibilidad a carbapenémicos sin necesidad de producir carbapenemasas (Grobeisen et al., 2025). Además, la subexpresión de estas porinas suele coexistir con la hiperproducción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), creando un efecto de saturación periplasmática donde la mínima cantidad de antibiótico que logra atravesar la membrana externa es neutralizada enzimáticamente antes de alcanzar las proteínas ligadoras

de penicilina (PBP) (Korczak et al., 2024). Esta sinergia de mecanismos, confirmada por estudios de expresión génica diferencial (RT-qPCR), revela que la bacteria prioriza la integridad de su homeostasis interna sobre la velocidad de crecimiento, aceptando el costo de fitness asociado a la restricción de nutrientes.

2.3. Estructura y función de las bombas de eflujo RND en bacilos Gram negativos

Las bombas de eflujo de la familia Resistencia-Nodulación-División (RND) representan el componente más versátil y potente del arsenal de resistencia intrínseca en bacilos Gram negativos. Estas nanomaquinarias se organizan como un complejo tripartito transenvoltura que abarca desde la membrana citoplasmática hasta la membrana externa, permitiendo la expulsión directa de sustratos al entorno extracelular sin paso intermedio por el periplasma (Elshobary et al., 2025). El prototipo funcional, el sistema AcrAB-TolC en *E. coli* o MexAB-OprM en *P. aeruginosa*, consta de tres piezas fundamentales, un transportador de la membrana interna (AcrB/MexB) que reconoce el sustrato, una proteína de fusión de membrana (AcrA/MexA) que actúa como adaptador periplasmático, y un canal de membrana externa (TolC/OprM) que sirve como conducto de salida (Y et al., 2025). La fuerza motriz de este proceso es el gradiente electroquímico de protones (fuerza motriz de protones), donde el antiporte de H^+ impulsa cambios conformacionales masivos en el dominio de unión del transportador para acomodar y extruir moléculas estructuralmente disímiles (Korczak et al., 2024).

Figura 3.
Bomba de eflujo tipo RND



Fuente: Tomado de Advances in methods and concepts provide new insight into antibiotic fluxes across the bacterial membrane (2024)

La excepcionalidad de las bombas RND radica en su promiscuidad de sustrato, siendo capaces de reconocer desde colorantes y detergentes hasta múltiples clases de antibióticos como tetraciclinas, fluoroquinolonas, macrólidos y betalactámicos (Elshobary et al., 2025). Estudios recientes mediante criomicroscopía electrónica han revelado la existencia de múltiples bolsillos de unión dentro de la proteína AcrB, incluyendo un bolsillo proximal para moléculas de gran masa molecular y un bolsillo distal para fármacos más pequeños, lo que explica la capacidad de estos sistemas para conferir un fenotipo de multirresistencia de amplio espectro (Zhang et al., 2025). La regulación de estos sistemas es redundante e incluye represores locales como MexR y reguladores globales de la familia AraC/XylS como MarA y RamA, que coordinan la respuesta al estrés celular activando el eflujo ante la detección de señales tóxicas o cambios en la integridad de la membrana.

2.4. Sinergia entre la impermeabilidad de membrana y la hiperproducción de bombas

La crisis terapéutica en los patógenos ESKAPE no emana de mecanismos aislados, sino de la convergencia sinérgica entre la restricción del influjo y la amplificación del eflujo (Gauba y Rahman, 2023). Esta sinergia, a menudo denominada "defensa de dos frentes", altera radicalmente la farmacodinámica de los antibióticos en el sitio de acción (Gauba y Rahman, 2023). Cuando una bacteria reduce la expresión de porinas mayoritarias, como OmpF, disminuye la concentración basal de antibiótico en el periplasma; simultáneamente, la hiperactividad de bombas como AcrAB-TolC reduce activamente cualquier acumulación residual (Jaiswal et al., 2022). Como bien señalan (Jaiswal et al., 2022), se ha documentado una correlación positiva significativa ($p < 0.001$) entre el incremento de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de imipenem y la sobreexpresión de los genes *acrA* y *acrB* en aislados clínicos, evidenciando que el eflujo activo potencia el fracaso terapéutico incluso en ausencia de carbapenemasas adquiridas (Jaiswal et al., 2022).

Fisiopatológicamente, esta interacción crea un estado de tolerancia persistente que facilita la supervivencia bacteriana bajo presiones farmacológicas que teóricamente deberían ser letales (Elshobary et al., 2025). En aislados de *Acinetobacter baumannii*, la coexistencia de la porina mutada CarO y la hiperepresión de la bomba AdeABC permite que el patógeno soporte concentraciones de carbapenémicos hasta 128 veces superiores al punto de corte de susceptibilidad (Gauba y Rahman, 2023). Esta sinergia tiene una relevancia clínica absoluta, ya que el fenotipado rápido mediante MALDI-TOF o secuenciación de genoma completo debe ahora considerar no solo la detección de genes de resistencia (genotipo), sino también la

cuantificación de la expresión de estos determinantes estructurales (Tamami et al., 2025). En conclusión, la envoltura celular es un sistema dinámico de control de flujo que requiere el desarrollo de adyuvantes inhibidores de bombas de eflujo (EPIs) y potenciadores de la permeabilidad para restaurar la eficacia de los antimicrobianos convencionales y contener la progresión de la resistencia multidrogas.

2.5. Regulación transcripcional de los sistemas de flujo activo (MarA, SoxS, RarA)

La orquestación de la resistencia multidrogas en las Enterobacteriaceae no depende únicamente de la adquisición de genes exógenos, sino de una sofisticada red de regulación transcripcional global que reprograma la fisiología de la envoltura celular (Y. Wu et al., 2025). En el centro de esta red se encuentran los reguladores de la familia AraC/XylS, específicamente MarA, SoxS y RarA, que actúan como nodos de integración para diversas señales de estrés ambiental y farmacológico. El activador MarA (*Multiple Antibiotic Resistance*) es el paradigma de este control; tras la detección de compuestos inductores o señales de daño celular, MarA se une a secuencias de ADN específicas denominadas "marboxes" situadas en las regiones promotoras de los operones del eflujo activo. Esta unión cataliza la sobreexpresión del complejo AcrAB-TolC, una nanomaquinaria capaz de extruir una vasta gama de antibióticos estructuralmente heterogéneos, desde tetraciclinas hasta fluoroquinolonas, antes de que logren su interacción con dianas citoplasmáticas .

Desde una perspectiva de fisiopatología molecular, la activación de MarA y su homólogo SoxS (inducido por el estrés oxidativo y la acumulación de radicales superóxido) no solo potencia el eflujo, sino que induce una restricción coordinada del influjo (Gaubá y Rahman, 2023). Este fenómeno se logra mediante la activación transcripcional del ARN antisentido MicF, el cual se hibrida con el ARNm de la porina mayoritaria OmpF, bloqueando su traducción y reduciendo drásticamente la permeabilidad de la membrana externa a solutos hidrofílicos. Por otro lado, el regulador RarA, frecuentemente identificado en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, ejerce un control análogo pero genéticamente independiente, activando la expresión del eflujo mediado por OqxAB y potenciando la resistencia a la tigeciclina y la nitrofurantoína (Korczak et al., 2024). Como bien argumentan esta redundancia regulatoria asegura que, ante cualquier perturbación de la homeostasis interna, la bacteria pueda transitar hacia un fenotipo defensivo de bajo influjo y alto eflujo, lo que constituye la base de la multirresistencia intrínseca y adaptativa (Y et al., 2025).

2.6. Mecanotransducción de la pared celular tras el daño por polimixinas

La integridad de la membrana externa en bacilos Gram negativos está sustentada por puentes iónicos entre las moléculas de lipopolisacárido (LPS) y cationes divalentes como el magnesio (Mg^{2+}) y el calcio (Ca^{2+}) (Gauba y Rahman, 2023). Las polimixinas, como la colistina, actúan mediante un mecanismo de desplazamiento competitivo de estos cationes, lo que genera una desestabilización física del LPS y una alteración de la tensión superficial de la membrana (Y et al., 2025). Este evento no es solo un daño pasivo; desencadena una respuesta de mecanotransducción mediada por sistemas de señales que detectan la deformación de la envoltura y la pérdida del gradiente electroquímico. En *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, el daño provocado por polimixinas es censado por el sistema de dos componentes PmrA/PmrB, el cual se activa ante la detección de cambios en la composición lipídica y el estrés de la envoltura (Gauba y Rahman, 2023).

La relevancia clínica de esta mecanotransducción radica en la remodelación química del Lípido A (Gauba & Rahman, 2023). Tras la señalización de PmrAB, se activa el operón *arnBCADTEF*, responsable de la síntesis y adición de 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (L-Ara4N) a los grupos fosfato del Lípido A (Gauba y Rahman, 2023). Esta modificación reduce la carga aniónica neta de la superficie bacteriana, eliminando la atracción electrostática necesaria para que las polimixinas se unan a su diana, lo que confiere una resistencia de alto nivel. Además, investigaciones recientes sugieren que esta respuesta de mecanotransducción está conectada con la formación de vesículas de membrana externa (OMVs), que actúan como "señuelos" para secuestrar antibióticos en el entorno extracelular y proteger a la comunidad bacteriana del daño letal (Gauba y Rahman, 2023). Esta capacidad de respuesta adaptativa convierte a la pared celular en un sensor dinámico que reconfigura su arquitectura molecular en tiempo real para contrarrestar la agresión farmacológica.

2.7. Dinámica del complejo AcrAB-TolC

El complejo AcrAB-TolC representa el epítome de la ingeniería molecular bacteriana, funcionando como una bomba de eflujo tripartita que conecta el citoplasma directamente con el entorno exterior. La arquitectura atómica de este sistema revela un diseño asimétrico donde la proteína de la membrana interna, AcrB, opera mediante un mecanismo de rotación conformacional cíclica (Korczak et al., 2024). Cada uno de los tres monómeros de AcrB transita por tres estados distintos, Acceso (L), Unión (T) y Extrusión (O) Durante la fase de

acceso, el antibiótico es capturado desde el periplasma o la interfase de la membrana interna; en la fase de unión, la molécula se aloja en un bolsillo distal de alta afinidad; finalmente, la transición al estado de extrusión provoca un cambio conformacional masivo impulsado por la fuerza motriz de protones (PMF), que propulsa al fármaco a través del adaptador periplasmático AcrA y hacia el conducto de salida de la membrana externa, TolC (Y. Wu et al., 2025).

La traslación de este mecanismo a la clínica es directa y alarmante; la hiperactividad de AcrAB-TolC es el principal determinante del fracaso terapéutico frente a antibióticos de "última trinchera". Estudios de expresión génica han demostrado una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles de transcripción de *acrA* y *acrB* y los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) frente a carbapenémicos en aislados de origen animal y humano ($p < 0.001$). Estos hallazgos respaldan la participación de la sobreexpresión de las bombas de eflujo en el incremento de la resistencia a estos antimicrobianos, en interacción con otros mecanismos, como la disminución de la permeabilidad de la membrana externa. Como señalan (Jaiswal et al., 2022), esta bomba no solo reduce la concentración intracelular del fármaco, sino que su sobreexpresión compensa la pérdida de porinas, creando un efecto sinérgico que satura las opciones terapéuticas (Y et al., 2025). El desarrollo de inhibidores de bombas de eflujo (EBIs) que bloqueen específicamente el canal de TolC o interfieran con la rotación de AcrB se perfila como una estrategia fundamental para resensibilizar a los patógenos ESKAPE y restaurar la eficacia de los antimicrobianos convencionales.

2.8. Impacto de las mutaciones en los sistemas de dos componentes (PhoP/PhoQ)

El sistema de dos componentes PhoP/PhoQ es el regulador maestro de la virulencia y la resistencia a péptidos antimicrobianos en una amplia variedad de patógenos Gram negativos (Gauba y Rahman, 2023). La quinasa sensora PhoQ detecta niveles limitantes de cationes divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+}) en el entorno, lo que activa la fosforilación del regulador de respuesta PhoP, induciendo la transcripción de genes involucrados en la estabilidad de la membrana (Gauba & Rahman, 2023). Sin embargo, el impacto clínico más devastador de este sistema surge de mutaciones en genes reguladores que conducen a una activación constitutiva de la vía PhoPQ. Un ejemplo paradigmático es la inactivación mutacional del gen *mgrB* en *Klebsiella pneumoniae*, la cual anula el bucle de retroalimentación negativa sobre PhoQ, manteniendo al sistema en un estado de hiperactivación permanente.

Fisiopatológicamente, esta hiperactivación de PhoPQ induce una remodelación masiva del LPS mediante la activación del sistema *pmr* y la sobreexpresión de la porina OprH, lo que bloquea los sitios de unión para la colistina (Gauba & Rahman, 2023). El impacto de estas mutaciones es bifásico, por un lado, confieren una resistencia extrema a polimixinas, eliminando uno de los últimos recursos terapéuticos disponibles; por otro, se asocian con un fenotipo de hipervirulencia, ya que las modificaciones en el LPS permiten al patógeno evadir la detección por parte de los receptores tipo Toll (TLR4) del sistema inmunitario del huésped y resistir la eliminación por macrófagos. Como destacan Gauba y Rahman, (2023), el estudio de las mutaciones en PhoP/PhoQ es crítico para el fenotipado rápido, ya que la detección de variantes de *mgrB* mediante secuenciación de genoma completo puede predecir el éxito de la terapia con colistina antes de obtener los resultados del antibiograma convencional, permitiendo una intervención clínica de precisión en unidades de cuidados intensivos.

2.9. Energética de la resistencia

La homeostasis iónica y la transducción de energía a través de la membrana citoplasmática constituyen el núcleo operativo de la supervivencia bacteriana, donde el gradiente electroquímico de protones, o fuerza motriz de protones (PMF), actúa como el combustible metabólico primordial para los mecanismos de resistencia (Y. Wu et al., 2025). En los patógenos Gram negativos, la PMF se compone de dos componentes interconectados, el gradiente de potencial eléctrico ($\Delta\psi$) y el gradiente de pH químico (ΔpH), los cuales son generados por la cadena de transporte de electrones durante la respiración celular (Korczak et al., 2024). Esta energía potencial es secuestrada por los transportadores secundarios, específicamente las bombas de eflujo de la familia Resistencia-Nodulación-División (RND), que operan mediante un mecanismo de antiporte estrictamente dependiente de la entrada de protones hacia el citoplasma para impulsar la extrusión de xenobióticos hacia el espacio extracelular (Elshobary et al., 2025).

La bioenergética de este proceso es extraordinariamente costosa; se estima que la expulsión de una sola molécula de antibiótico puede requerir el flujo transmembrana de múltiples protones, lo que impone una carga metabólica o coste de fitness que compite directamente con la síntesis de ATP y otros procesos biosintéticos esenciales (Y. Wu et al., 2025). Como explican Gauba y Rahman, (2023), esta dependencia energética explica por qué la hiperactividad de las bombas de eflujo, como el sistema AcrAB-TolC en *Escherichia coli* o MexAB-OprM en *Pseudomonas aeruginosa*, suele estar bajo un control transcripcional

represivo extremadamente estricto, activándose únicamente ante la detección de estrés en la envoltura o señales de toxicidad intracelular (Gauba & Rahman, 2023). La alteración de la PMF mediante agentes desacopladores, como el cianuro de carbonilo m-clorofenilhidrazona (CCCP), ha demostrado una reducción drástica en los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para carbapenémicos y quinolonas, confirmando que, sin la integridad del gradiente electroquímico, la maquinaria estructural del eflujo queda funcionalmente paralizada.

Desde una perspectiva de fisiopatología celular, la dinámica de la PMF no es solo un motor de eflujo, sino un determinante de la susceptibilidad basal (Gauba y Rahman, 2023). En condiciones de hipoxia o limitación de nutrientes, donde la generación de la PMF se ve comprometida, las bacterias pueden transitar hacia estados de latencia metabólica o persistencia, donde el eflujo activo disminuye, pero la permeabilidad de la membrana también se reduce, creando un fenotipo de tolerancia que elude la acción de antibióticos bactericidas dependientes de la división celular (Elshobary et al., 2025). Investigaciones recientes han revelado que ciertos péptidos antimicrobianos (AMPs), como la arkillina, ejercen su efecto citotóxico precisamente mediante la despolarización masiva de la membrana citoplasmática, anulando el gradiente electroquímico y provocando el colapso instantáneo de todas las nanomaquinarias dependientes de la PMF, incluyendo los sistemas de transporte de nutrientes y las bombas de resistencia multidrogas (Y. Wu et al., 2025).

2.10. Modificación del sitio diana en el lipopolisacárido mediante *mcr-1* y variantes

La remodelación química de la membrana externa representa una de las estrategias de evasión más sofisticadas contra los antibióticos de "último recurso", específicamente las polimixinas (colistina), cuya diana primaria es la carga negativa del Lípido A dentro del lipopolisacárido (LPS). El mecanismo molecular fundamental de esta resistencia es la neutralización de la carga aniónica neta de la superficie bacteriana, lo que anula la atracción electrostática necesaria para que la molécula catiónica de la colistina se inserte y desestabilice la bicapa lipídica (Gauba y Rahman, 2023). Esta modificación es orquestada por la enzima fosfoetanolamina transferasa, codificada por el gen de transferencia horizontal *mcr-1* y sus crecientes variantes genómicas (*mcr-2* a *mcr-10*), que cataliza la adición de un grupo fosfoetanolamina (pEtN) a la posición 1' o 4' del Lípido A (Elshobary et al., 2025).

La emergencia del gen *mcr-1* en plásmidos de amplio rango de hospederos, como los de la familia IncI2 e IncX4, ha transformado la resistencia a colistina de un fenómeno

mutacional raro a una amenaza epidemiológica global de diseminación masiva. Como señalan (Elbehiry et al., (2025), la co-localización de *mcr-I* con otros determinantes críticos, como las metalo-betalactamasas tipo NDM o genes de resistencia a tigeciclina (*tet(X)*), en plataformas móviles compartidas facilita la emergencia de clones de "superresistencia" que son refractarios a prácticamente todo el arsenal terapéutico actual (Tamami et al., 2025). En el contexto clínico ecuatoriano, aunque la detección de genes *mcr* es aún emergente en comparación con las carbapenemasas, la presión selectiva ejercida por el uso de colistina en la industria agropecuaria actúa como un motor incesante para su integración en el resistoma humano a través de la cadena alimentaria.

Fisiopatológicamente, la resistencia mediada por *mcr-I* compite con los mecanismos cromosómicos de modificación del LPS, como los controlados por los sistemas de dos componentes PmrA/PmrB y PhoP/PhoQ (Gauba y Rahman, 2023). Mientras que los sistemas cromosómicos suelen inducir la adición de 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (L-Ara4N), la cual confiere niveles de resistencia significativamente superiores a los de la fosfoetanolamina, el gen *mcr-I* ofrece una ventaja evolutiva clave, su bajo coste adaptativo (Gauba & Rahman, 2023). A diferencia de las mutaciones en *mcrB* o *phoQ*, que pueden comprometer la virulencia o la respuesta al estrés osmótico, la expresión plasmídica de *mcr-I* permite a patógenos como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* mantener una alta competitividad *in vivo* mientras conservan el fenotipo resistente (Y. Wu et al., 2025). Esta dualidad entre la plasticidad del mobiloma y la estabilidad fenotípica subraya la urgencia de desarrollar métodos de diagnóstico molecular rápido, como la PCR en tiempo real y el fenotipado por espectrometría de masas, para detectar estas modificaciones químicas del LPS antes de que la falla terapéutica sea irreversible.

2.11. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual comprensión de la mecánica molecular de la resistencia se enfrenta a controversias críticas respecto a la predictibilidad de los fenotipos a partir de los datos genotípicos (Tamami et al., 2025). Una de las mayores disputas radica en el papel de los genes de resistencia "silentes" o crípticos detectados mediante secuenciación de genoma completo (WGS), los cuales no siempre se traducen en un fracaso clínico detectable en el antibiograma convencional. Como argumentan Bilal et al.,(2025), la mera presencia de un gen como *blaOXA-48* o *mcr-I* puede no ser suficiente para conferir resistencia si no coexiste con mutaciones compensatorias en porinas o sobreexpresión de bombas de eflujo, lo que cuestiona

la validez de basar las decisiones terapéuticas únicamente en perfiles moleculares sin una validación fenotípica funcional (Jaiswal et al., 2022). Esta brecha entre genotipo y fenotipo subraya la necesidad de integrar la transcriptómica y la proteómica en la vigilancia rutinaria para cuantificar la expresión real de estos determinantes bajo estrés antibiótico.

Otra área de intenso debate es el impacto real de los reservorios ambientales en la salud humana bajo el enfoque "One Health" (Q. Zhang et al., 2023). Si bien es indiscutible que los genes de resistencia fluyen entre suelos, animales y humanos, la magnitud de la contribución de la contaminación ambiental (por ejemplo, el vertido de aguas residuales hospitalarias) a la mortalidad nosocomial sigue siendo difícil de cuantificar con precisión estocástica (Zhang et al., 2025). El uso de herramientas de Topología de Datos (TDA) y homología persistente, como proponen Guerrero et al.,(2025), emerge como una solución metodológica para identificar estas rutas de transmisión no lineales y "agujeros" en la estructura del mobiloma global, permitiendo mapear la evolución de plásmidos multirresistentes con una resolución que supera los modelos filogenéticos tradicionales.

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en el desarrollo de terapias disruptivas que trasciendan los antibióticos convencionales (Elshobary et al., 2025). La aplicación de sistemas CRISPR-Cas9 para la eliminación selectiva de plásmidos portadores de *mcr-1* o carbapenemasas dentro del microbioma del paciente representa una frontera prometedora de la medicina de precisión. Paralelamente, el uso de nanobióticos y nanopartículas metálicas que interfieran específicamente con la fuerza motriz de protones ofrece una vía para resensibilizar a patógenos multirresistentes, convirtiendo a las bombas de eflujo en dianas terapéuticas directas. En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis del paradigma diagnóstico y clínico, donde la Resistómica Estructural sea el pilar fundamental para el diseño de estrategias de control globales, asegurando que la innovación tecnológica supere la velocidad de la evolución bacteriana (Elshobary et al., 2025).

Capítulo 3:

Proteostasis de las Betalactamasas

3.1. Clasificación estructural de Ambler revisada bajo espectrometría de masas

La arquitectura taxonómica de las betalactamasas ha evolucionado desde una descripción puramente funcional hacia un entendimiento profundo de su filogenia molecular, siendo la clasificación de Ambler el estándar de oro en la microbiología clínica contemporánea (Elshobary et al., 2025). Este esquema organiza a las enzimas en cuatro grupos cardinales (A, B, C y D), basándose exclusivamente en las secuencias de aminoácidos conservadas y en la naturaleza química de su centro catalítico. Mientras que las clases A, C y D emplean un residuo de serina para orquestar la hidrólisis del fármaco, la clase B se distingue por ser una familia de metaloenzimas dependientes de cationes divalentes para su operatividad. Como señalan Tamami et al., (2025), esta diferenciación no es meramente académica, sino que determina la eficacia de los inhibidores de betalactamasas y guía la selección de la terapia empírica en cuadros de sepsis nosocomial.

La integración de la espectrometría de masas MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*) ha revolucionado la validación de esta clasificación al permitir una caracterización proteómica en tiempo real que supera la resolución de las pruebas bioquímicas convencionales (Tamami et al., 2025). Mediante esta técnica, se analiza la huella peptídica de los aislados clínicos, lo que garantiza una identificación de especie con un índice de confianza o "score" superior a 2.0, fundamental para distinguir entre patógenos ESKAPE que portan diferentes clases de Ambler (Tamami Tualombo et al., 2025). El refinamiento de este método analítico permite incluso detectar la actividad hidrolítica directa al observar el cambio en la masa molecular del antibiótico tras la apertura del anillo betalactámico, proporcionando una correlación instantánea entre la estructura proteica y el fenotipo de resistencia.

Los mecanismos celulares que mantienen la funcionalidad de las proteínas, la síntesis, el plegamiento, la estabilidad y la degradación constituyen la proteostasis, la cual se asocia también a la cantidad y estabilidad de las β -lactamasas en el espacio periplasmático, lo que han expuesto Elshobary et al. (2025). Se destaca que la localización genética de los determinantes de resistencia puede llegar a limitar su expresión y su transferencia. Las β -lactamasas de clase A, como TEM, SHV y CTX-M, son frecuentemente plasmídicas u otros elementos genéticos móviles, lo que favorece su transferencia horizontal entre bacterias (Elshobary et al., 2025). En

contraposición, muchas β -lactamasas de clase C tienen un origen cromosómico, aunque algunos genes pueden transferirse a elementos extracromosómicos. Esta movilidad genética puede propagar mecanismos de resistencia, incluso de múltiples resistencias. En definitiva, la estabilidad, localización y expresión de las β -lactamasas promueven estar antes de que los antibióticos β -lactámicos alcancen su principal diana, las proteínas ligadoras de penicilina; PBP.

Mecanismos de catálisis en serino-betalactamasas (KPC, OXA-48)

La fisiopatología molecular de las serino-betalactamasas, específicamente las de clases A (KPC) y D (OXA-48), se fundamenta en un mecanismo de catálisis covalente bifásica que inactiva de manera irreversible al antimicrobiano. El proceso se inicia con el ataque nucleofílico del grupo hidroxilo de la serina en el sitio activo sobre el carbono del carbonilo del anillo betalactámico. Este evento bioquímico rompe el enlace amida cíclico y genera un intermediario acil-enzima de alta estabilidad. Posteriormente, una molécula de agua, activada por residuos de aminoácidos adyacentes que actúan como bases generales, hidroliza el enlace éster del intermediario, liberando el antibiótico inactivo y restaurando la funcionalidad de la enzima para un nuevo ciclo catalítico (Elshobary et al., 2025).

Dentro de este grupo, las enzimas del tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) representan el paradigma de la versatilidad hidrolítica, siendo capaces de degradar penicilinas, cefalosporinas de todas las generaciones y, crucialmente, carbapenémicos. La relevancia clínica de KPC es absoluta; en regiones como Latinoamérica, su prevalencia en aislados de *K. pneumoniae* ha transformado infecciones comunes en desafíos terapéuticos casi intratables, proyectando una mortalidad significativa si no se emplean inhibidores de nueva generación como el avibactam. Por su parte, la familia OXA-48 (clase D) presenta una bioquímica distintiva; aunque su afinidad por las cefalosporinas es relativamente baja, posee una actividad hidrolítica robusta contra los carbapenémicos y muestra una alarmante resistencia a la inhibición por ácido clavulánico (Tamami et al., 2025).

La dinámica de estas enzimas en el entorno clínico ecuatoriano, analizada mediante técnicas de PCR multiplex, ha revelado una acumulación de genes donde coexisten variantes de *blaCTX-M* con *blaTEM* y *blaSHV*, lo que sugiere un fenómeno de redundancia catalítica. Esta coexistencia genotípica asegura que, incluso si un mecanismo es inhibido parcialmente, la bacteria conserve su capacidad de inactivar una amplia gama de. Como argumentan (Bilal et al., (2025)), el uso de algoritmos de aprendizaje profundo para analizar estos perfiles

genómicos permite predecir con alta precisión la trayectoria evolutiva de estos clones hipervirulentos, facilitando el diseño de protocolos de administración de antimicrobianos que minimicen la selección de estas nanomaquinarias de resistencia.

Bioquímica de las metalo-betalactamasas (NDM, VIM)

La bioquímica de las metalo-betalactamasas (MBL), pertenecientes a la clase B de Ambler, se aparta radicalmente del mecanismo basado en serina para utilizar una estrategia de catálisis coordinada por metales. Estas enzimas, representadas por las familias NDM (New Delhi Metallo-beta-lactamase) y VIM (Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase), contienen en su sitio activo uno o dos iones zinc (Zn^{2+}) que actúan como ácidos de Lewis. El rol del ion zinc es dual, por un lado, polariza el grupo carbonilo del anillo betalactámico, aumentando su susceptibilidad al ataque nucleofílico; por otro, orienta y activa una molécula de agua para que realice el ataque sobre el carbonilo sin la formación de un intermediario covalente, lo que acelera drásticamente la tasa de hidrólisis.

La dependencia del zinc confiere a las MBL una vulnerabilidad diagnóstica y terapéutica única, su susceptibilidad a los quelantes metálicos como el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (Tamami Tualombo et al., 2025). En la práctica microbiológica de precisión, esto se aprovecha mediante la técnica eCIM (*EDTA-modified Carbapenem Inactivation Method*), donde la restauración de la sensibilidad al meropenem en presencia de quelantes confirma inequívocamente la producción de una MBL. Aunque estudios recientes en Quito no detectaron genes *blaNDM* o *blaVIM* en aislados específicos, la vigilancia epidemiológica global advierte que estos determinantes, transportados frecuentemente en integrones y transposones, están expandiendo su nicho hacia patógenos de alta prioridad como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (Tamami et al., 2025).

Clínicamente, la emergencia de NDM es particularmente preocupante debido a que estas enzimas son refractarias a la mayoría de los inhibidores de betalactamasas disponibles comercialmente, dejando únicamente a la aztreonam (un monobactámico) como opción terapéutica viable, siempre que no coexistan con serino-betalactamasas (Elshobary et al., 2025). La proteostasis de las MBL en biopelículas maduras se ve potenciada por la matriz polimérica extracelular, que estabiliza la estructura enzimática y protege los sitios de unión del zinc frente al estrés oxidativo. En conclusión, el entendimiento detallado de la bioquímica de las metalo-betalactamasas es el pilar para el desarrollo de inhibidores de MBL de próxima generación, que busquen mimetizar la quelación o bloquear directamente el bolsillo catalítico

coordinado por el zinc, con el fin de resensibilizar a los patógenos multirresistentes y asegurar la supervivencia de los pacientes en la era post-antibiótica.

3.2. Evolución de las cefalosporinas de espectro extendido (BLEE) en el siglo XXI

La trayectoria evolutiva de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) durante el transcurso del siglo XXI ha transitado de ser una complicación nosocomial contenida a una crisis de salud pública de dimensiones pandémicas, caracterizada por una transición desde mutaciones puntuales en enzimas clásicas hacia la hegemonía global de linajes genómicos exógenos. En las décadas finales del siglo XX, la resistencia estaba dominada por variantes derivadas de las enzimas TEM-1, TEM-2 y SHV-1, donde sustituciones aminoacídicas específicas en el sitio activo expandían el radio de acción hidrolítica hacia las cefalosporinas de tercera generación (Elshobary et al., 2025). Sin embargo, el amanecer del nuevo milenio marcó la irrupción explosiva de la familia CTX-M, particularmente la variante blaCTX-M-15, la cual no evolucionó por presión selectiva directa sobre enzimas preexistentes en patógenos humanos, sino que fue capturada desde el cromosoma de bacterias ambientales como *Kluyvera spp.* mediante eventos de Transferencia Horizontal de Genes (HGT) mediada por elementos de inserción como *ISEcp1*.

Fisiopatológicamente, el éxito evolutivo de las enzimas CTX-M en el siglo XXI radica en su extraordinaria afinidad catalítica por la cefotaxima y su capacidad para coexistir en plataformas plasmídicas multirresistentes. Investigaciones metagenómicas recientes han demostrado que el resistoma del microbioma humano actúa como un nodo central donde estas enzimas se integran en plásmidos de la familia IncF, facilitando su diseminación entre especies distantes como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Tamami et al., 2025). La caracterización de estos aislados mediante espectrometría de masas MALDI-TOF ha permitido identificar que la proteostasis de estas enzimas no es estática; las bacterias modulan la síntesis proteica para alcanzar una densidad enzimática en el periplasma que satura la capacidad de los antibióticos betalactámicos antes de que estos logren la acilación de las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) (Elshobary et al., 2025).

En el contexto epidemiológico contemporáneo, se observa un fenómeno de acumulación genómica, donde un solo aislado clínico puede portar simultáneamente múltiples determinantes de BLEE, tales como combinaciones de blaCTX-M, blaTEM y blaSHV (Tamami Tualombo et al., 2025). Este perfil poligénico, detectado mediante técnicas de PCR multiplex y secuenciación de genoma completo (WGS), confiere una resiliencia fenotípica superior, ya

que la redundancia catalítica asegura la persistencia de la hidrólisis incluso bajo la presión de inhibidores enzimáticos de primera generación. Como señalan Elshobary et al., (2025), esta evolución no se limita al entorno hospitalario; la infiltración de estas enzimas en reservorios animales y ambientales bajo el enfoque "One Health" sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la clínica para capturar las rutas de transmisión crípticas que alimentan la crisis de multirresistencia global.

3.3. Interacción betalactámico-inhibidor: Mecanismos de resistencia a avibactam y vaborbactam

La respuesta de la ingeniería farmacológica ante la expansión de las betalactamasas ha sido el desarrollo de inhibidores de betalactamasas de nueva generación, como el avibactam y el vaborbactam, los cuales presentan mecanismos de acción disruptivos frente a las serino-betalactamasas de clase A, C y algunas de clase D (Elshobary et al., 2025). A diferencia de los inhibidores suicidas clásicos (ácido clavulánico, tazobactam), el avibactam es un derivado de los diazabiciclooctanos (DBO) que opera mediante un mecanismo de inhibición reversible de enlace covalente, donde la molécula se une a la serina catalítica sin sufrir una degradación irreversible, lo que le permite reciclarse y neutralizar múltiples unidades enzimáticas (Elshobary et al., 2025). Por su parte, el vaborbactam utiliza un núcleo de ácido borónico que mimetiza el estado de transición tetraédrico de la hidrólisis del anillo betalactámico, atrapando a la enzima en un complejo inactivo de alta estabilidad.

Sin embargo, la plasticidad genómica de los patógenos ESKAPE ha orquestado mecanismos de escape que comprometen la eficacia de estas combinaciones (Elshobary et al., 2025). La resistencia a la combinación ceftazidima-avibactam surge predominantemente a través de mutaciones en el gen blaKPC, donde sustituciones aminoacídicas en el bucle omega (omega-loop) de la enzima, como la variante D179Y, alteran la conformación del sitio activo. Este cambio estructural reduce la afinidad del avibactam por la enzima pero, paradójicamente, puede incrementar la afinidad por las cefalosporinas de cuarta generación, un fenómeno de compensación funcional que subraya la versatilidad evolutiva de *Klebsiella pneumoniae* (Elshobary et al., 2025). Además, las enzimas de clase D, como OXA-48, presentan una resistencia intrínseca o una baja susceptibilidad a la inhibición por vaborbactam, lo que requiere un fenotipado rápido y preciso para evitar el fracaso terapéutico (Tamami et al., 2025).

La limitación más crítica para estos nuevos inhibidores reside en las metalo-betalactamasas (MBL), como NDM y VIM, las cuales son estructuralmente refractarias a la

acción de avibactam y vaborbactam debido a que su mecanismo de hidrólisis no depende de un residuo de serina, sino de la coordinación iónica con zinc. En regiones con alta prevalencia de clones hipervirulentos como el ST2096 de *K. pneumoniae*, que co-expresan carbapenemasas tipo OXA y metaloenzimas, la administración de estos nuevos agentes debe ser guiada por algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) que predigan el éxito clínico a partir de datos de WGS (Bilal et al., 2025). La integración de métodos como el eCIM (quelación de zinc por EDTA) en el laboratorio clínico es vital para detectar estas MBL y orientar el uso de monobactámicos como el aztreonam, que permanecen estables ante las metaloenzimas pero requieren el blindaje del avibactam contra las serino-betalactamasas coexistentes.

3.4. Cinética enzimática Michaelis-Menten aplicada a la predicción de fallo terapéutico

La aplicación de los principios de la cinética enzimática de Michaelis-Menten constituye el marco biofísico fundamental para comprender por qué la presencia de un gen de resistencia no siempre correlaciona linealmente con la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) observada en la clínica. La eficacia de la resistencia depende del equilibrio entre la constante de Michaelis (K_m), que refleja la afinidad de la betalactamasa por el antibiótico, y la constante catalítica (k_{cat}), que determina la velocidad de renovación enzimática (Esposito et al., 2025). Un fallo terapéutico es altamente probable cuando la bacteria expresa una enzima con una baja K_m (alta afinidad) por el fármaco, lo que permite el secuestro inmediato de las moléculas de antibiótico en el periplasma incluso a concentraciones sistémicas que superan los puntos de corte de susceptibilidad (Jaiswal et al., 2022).

Desde una perspectiva analítica avanzada, el uso de modelos de regresión lineal y redes neuronales sobre datos de expresión génica cuantificados por RT-qPCR ha revelado que la predicción de la CMI puede alcanzar precisiones superiores al 86% para carbapenémicos (Jia et al., 2024). En estos modelos, la variable independiente no es solo la presencia del gen, sino la magnitud de su transcripción ajustada por el gen housekeeping *rpoB*. Por ejemplo, en aislados de *Acinetobacter baumannii*, se ha documentado una correlación positiva significativa entre los niveles de ARNm de *blaOXA-23* y el incremento en la CMI de imipenem y meropenem ($p < 0.05$), lo que demuestra que la fisiopatología de la resistencia es un evento dependiente de la dosis enzimática. Esta relación cinética explica fenómenos como la heterorresistencia, donde subpoblaciones celulares con mayor actividad transcripcional sobreviven a la exposición farmacológica, facilitando la persistencia de la infección a pesar de un antibiograma aparentemente favorable (Korczak et al., 2024).

La relevancia clínica de esta cinética se manifiesta en la necesidad de transitar hacia el monitoreo terapéutico de fármacos (TDM) y el uso de gemelos digitales (Digital Twins) para la administración de antimicrobianos (Bilal et al., 2025). Al integrar los parámetros cinéticos de la enzima detectada (por ejemplo, la eficiencia catalítica k_{cat}/K_m de una variante específica de KPC) con los modelos farmacocinéticos del paciente, es posible predecir el tiempo de exposición por encima de la CMI ($fT > CMI$) con una precisión quirúrgica (Boussios et al., 2023). Este enfoque de medicina de precisión busca contrarrestar el impacto de la hiperactividad enzimática mediante el ajuste dinámico de dosis y regímenes de infusión prolongada, asegurando que el flujo de antibiótico hacia el espacio periplasmático supere la velocidad de hidrólisis enzimática y prevenga la selección de clones con perfiles cinéticos aún más agresivos (Jaiswal et al., 2022).

3.5. Influencia del número de copias génicas en el fenotipo de resistencia

El determinante estructural que define la potencia del fenotipo de resistencia en la era genómica es la variación en el número de copias génicas (CNV), un mecanismo de adaptación rápida que permite a las bacterias amplificar su capacidad defensiva sin necesidad de mutaciones estructurales lentas. La investigación sistemática mediante secuenciación de genoma completo (WGS) ha revelado que, aunque la mayoría de los determinantes de resistencia se presentan en una sola copia, una proporción crítica de aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii* y Enterobacteriaceae presentan duplicaciones o triplicaciones de genes clave como *blaOXA-23*, *blaTEM-1* y *aph(3')-Ia*. Existe una correlación estadísticamente significativa ($\rho < 0.0001$) entre el incremento en el número de copias y los niveles de transcripción de ARN, lo que se traduce directamente en una elevación proporcional de la CMI para los antibióticos correspondientes (Jia et al., 2024).

Este fenómeno de "dosificación génica" es orquestado habitualmente por la actividad de elementos genéticos móviles, donde transposones y secuencias de inserción como *ISAbal* facilitan la formación de arreglos en tándem del gen de resistencia dentro de un mismo plásmido o cromosoma (Elbehiry et al., 2025). Fisiopatológicamente, la amplificación del número de copias impone un coste de fitness o carga metabólica a la bacteria, ya que desvía recursos energéticos y maquinaria de traducción hacia la producción masiva de betalactamasas; sin embargo, bajo la presión selectiva de dosis subóptimas de antibióticos en el entorno hospitalario, la ventaja de supervivencia de los clones multicopia supera con creces el coste

biológico (Denk y Wood, 2023). Estudios realizados en clones de alto riesgo han demostrado que la transición de una a tres copias del gen *blaOXA-23* puede transformar un aislado con sensibilidad intermedia en un patógeno con resistencia extrema a carbapenémicos, invalidando las guías de tratamiento estándar (Jia et al., 2024).

El análisis de la influencia del número de copias debe integrarse en los sistemas de fenotipado rápido mediante el desarrollo de algoritmos que calculen el ratio de cobertura de los genes de resistencia frente a genes housekeeping esenciales como *rpoB* (Bilal et al., 2025). Como bien argumentan (Jia et al., 2024), la mera detección cualitativa de un gen es insuficiente para la toma de decisiones clínicas de alta complejidad; la cuantificación del número de copias proporciona una medida de la reserva de resistencia del patógeno. Hacia el futuro, el uso de tecnologías de PCR digital y secuenciación de lectura larga (Long-read sequencing) permitirá mapear la arquitectura de estas amplificaciones con mayor resolución, facilitando la identificación de cepas con potencial de escape evolutivo y asegurando que las estrategias de administración de antimicrobianos se basen en la realidad cuantitativa de la carga genómica bacteriana (Tamami et al., 2025).

3.6. Detección de heteroresistencia mediada por la expresión diferencial de betalactamasas

La heteroresistencia constituye uno de los desafíos diagnósticos más insidiosos en la microbiología clínica contemporánea, manifestándose como una asimetría fenotípica dentro de una población bacteriana que, bajo un escrutinio superficial, parece ser monoclonal y susceptible (Hwengwere et al., 2022). Fisiopatológicamente, este fenómeno no depende de una mutación germinal fija en toda la progenie, sino de la existencia de subpoblaciones minoritarias que presentan una capacidad de resistencia incrementada, a menudo mediada por la expresión diferencial de betalactamasas o variaciones transitorias en el número de copias génicas (CNV). Como señalan (Jia et al., 2024), la amplificación estocástica de genes como *blaOXA-23* en aislados de *Acinetobacter baumannii* permite que células individuales sobrevivan a concentraciones de carbapenémicos que resultan letales para el resto de la comunidad, facilitando la persistencia de la infección a pesar de una terapia aparentemente.

Desde el prisma del análisis cinético, la heteroresistencia es un reflejo de la plasticidad de la proteostasis periplasmática. Mientras que la población mayoritaria mantiene niveles basales de transcripción, las subpoblaciones resistentes utilizan mecanismos de "ruido

transcripcional" o reordenamientos genéticos mediados por secuencias de inserción como ISAbal para hiperproducir la enzima de manera temporal (Jia et al., 2024). La detección de esta heterogeneidad mediante métodos de difusión en disco o microdilución en caldo suele ser insuficiente, ya que estas técnicas reportan un valor de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) promedio que enmascara a los "escapistas" genómicos (Tamami et al., 2025). La técnica de Análisis del Perfil de Análisis de Población (PAP) sigue siendo el estándar de referencia, aunque su complejidad técnica limita su uso rutinario (Hwengwere et al., 2022). En este sentido, el desarrollo de algoritmos de aprendizaje profundo aplicados a la secuenciación de genoma completo (WGS) emerge como una herramienta disruptiva, permitiendo predecir el potencial de heteroresistencia al cuantificar el ratio de cobertura de los genes de resistencia frente a genes esenciales como *rpoB* (Bilal et al., 2025).

Clínicamente, la heteroresistencia mediada por betalactamasas explica la falla terapéutica paradójica, donde un paciente con un antibiograma favorable no responde al tratamiento debido a la selección *in vivo* de estas subpoblaciones bajo presión antibiótica (Hwengwere et al., 2022). Como argumentan Iskandar et al., (2021), la transición de una subpoblación heteroresistente a una población uniformemente resistente es un proceso dinámico impulsado por la exposición a dosis subóptimas, lo que subraya la importancia del monitoreo terapéutico de fármacos (TDM) para asegurar niveles de exposición que superen el umbral crítico de las células persistentes. En conclusión, la heteroresistencia no es una anomalía estadística, sino un rasgo evolutivo refinado que requiere un cambio de paradigma desde el diagnóstico binario (sensible/resistente) hacia una caracterización poblacional exhaustiva.

3.7. Análisis del interactoma betalactamasa-PBP (Penicillin-Binding Proteins)

El mecanismo de acción de los antibióticos betalactámicos se fundamenta en la interrupción de la biosíntesis del peptidoglicano mediante la acilación covalente de las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) (Tamami Tualombo et al., 2025). Sin embargo, la bacteria despliega un interactoma competitivo en el espacio periplasmático, donde las betalactamasas actúan como interceptores moleculares que secuestran y degradan al fármaco antes de que este logre su unión con las PBPs (Elshobary et al., 2025). Este interactoma es una red de afinidades biofísicas gobernada por parámetros cinéticos; la probabilidad de éxito terapéutico es inversamente proporcional a la eficiencia catalítica (k_{cat}/K_m) de la enzima frente a la afinidad de la PBP diana (Jaiswal et al., 2022). En patógenos ESKAPE, la sobreexpresión

de betalactamasas de clase A como KPC satura el espacio periplasmático, creando una "barrera de difusión activa" que protege la integridad de las PBPs 1a, 2 y 3 incluso ante altas concentraciones sistémicas de carbapenémicos (Y. Wu et al., 2025).

La fisiopatología molecular del interactoma se ve alterada drásticamente por la remodelación de la pared celular. Investigaciones lideradas por (Xing et al., 2024) han demostrado que, ante defectos graves en el ensamblaje de la membrana externa, las bacterias activan vías de compensación que modifican la estructura del peptidoglicano, alterando el perfil de las PBPs disponibles para la unión del antibiótico. Esta respuesta adaptativa se complementa con la síntesis de PBPs alternativas con baja afinidad por los betalactámicos, como la PBP2a en *Staphylococcus aureus* o la PBP5 en *Enterococcus faecium*, las cuales asumen la función de transpeptidación cuando las enzimas nativas son inhibidas (Elshobary et al., 2025). En bacilos Gram negativos, este interactoma se vuelve aún más complejo por la coexistencia de múltiples clases de betalactamasas; por ejemplo, la presencia simultánea de una metalo-betalactamasa (clase B) y una serino-betalactamasa (clase A) genera un escudo enzimático dual que neutraliza prácticamente cualquier combinación betalactámico-inhibidor convencional.

La relevancia diagnóstica de este interactoma ha sido potenciada por la espectrometría de masas MALDI-TOF, la cual permite visualizar la dinámica de la hidrólisis en tiempo real (Tamami et al., 2025). Al analizar la desaparición del pico correspondiente al antibiótico intacto y la aparición de metabolitos hidrolizados, es posible cuantificar la "potencia de interceptación" del aislado clínico (Nasrollahian et al., 2024). Hacia el futuro, el diseño de nuevos antimicrobianos busca mimetizar el estado de transición de la hidrólisis para actuar como inhibidores de amplio espectro que bloqueen simultáneamente el interactoma enzimático y restauren el acceso a las PBPs (Elshobary et al., 2025). En última instancia, la resistencia betalactámica debe entenderse como una orquestación estructural donde la integridad de la pared celular depende del equilibrio dinámico entre la síntesis catalizada por las PBPs y la protección enzimática conferida por el resistoma periplasmático.

3.8. Estabilidad enzimática en el espacio periplasmático bajo estrés oxidativo

El espacio periplasmático de las bacterias Gram negativas no es un compartimento inerte, sino un entorno dinámico y a menudo hostil donde la proteostasis de las betalactamasas debe mantenerse frente a fluctuaciones extremas de pH, osmolaridad y, crucialmente, estrés oxidativo (Y. Wu et al., 2025). La formación de puentes disulfuro, catalizada por el sistema Dsb, es un componente crítico para el plegamiento correcto y la estabilidad de muchas

betalactamasas de clase A y D (Feng et al., 2025). Sin embargo, la exposición a especies reactivas del oxígeno (ROS), generadas tanto por el metabolismo endógeno como por la respuesta inmunitaria del huésped (estallido oxidativo), puede inducir el daño oxidativo de residuos de aminoácidos esenciales, comprometiendo la funcionalidad enzimática (Feng et al., 2025).

Para contrarrestar este daño, los patógenos ESKAPE han evolucionado redes de sensores redox que coordinan la respuesta al estrés periplasmático (Wanget al., 2025). En *Pseudomonas aeruginosa*, el regulador MexR actúa como un sensor de oxidación; bajo condiciones normales, MexR reprime los operones de eflujo, pero ante la detección de estrés oxidativo a través de la formación de puentes disulfuro intramoleculares, el represor se disocia del ADN, activando la sobreexpresión de bombas como MexAB-OprM (Wu et al., 2025). Esta mecanotransducción redox no solo activa el eflujo, sino que asegura una densidad crítica de chaperonas y enzimas de reparación proteica en el periplasma que estabilizan a las betalactamasas durante la agresión farmacológica (Feng et al., 2025). Como señalan (Feng et al., (2025), subclones exitosos de *Klebsiella pneumoniae* como el linaje ST11-KL64 presentan una capacidad antioxidante superior, lo que les permite mantener la integridad de carbapenemasas tipo KPC incluso en entornos con alta carga de ROS, confiriéndoles una ventaja competitiva en el nicho pulmonar y sistémico (Wang, et al., 2025).

La estabilidad enzimática bajo estrés oxidativo tiene una implicación bioquímica vital para las metalo-betalactamasas (MBL) como NDM-1 (Tamami et al., 2025). Dado que estas enzimas dependen de iones zinc (Zn^{2+}) coordinados por residuos de cisteína e histidina, la oxidación de estos tioles puede provocar la expulsión del metal y la inactivación irreversible de la enzima. La bacteria mitiga este riesgo mediante la secreción de vesículas de membrana externa (OMVs) cargadas de enzimas estables que actúan como "señuelos" periplasmáticos, protegiendo el núcleo de la comunidad bacteriana. El análisis mediante metatranscriptómica ha revelado que, en condiciones de estrés oxidativo, se produce una regulación al alza de los sistemas de adquisición de metales (sideróforos), asegurando la disponibilidad de zinc para la proteostasis de las MBL (Tamami et al., 2025). En conclusión, la resistencia no solo depende de la presencia del gen, sino de la robustez de la maquinaria periplasmática para preservar la estructura proteica bajo condiciones de guerra bioquímica.

3.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Estructural se define por la tensión entre la explosión de datos genómicos y la persistente incertidumbre en la predicción fenotípica (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el papel de los genes de resistencia silentes, los cuales son detectados por PCR o WGS pero no confieren un fenotipo resistente en condiciones de laboratorio estándar. Investigaciones en el contexto ecuatoriano han evidenciado que aislados que portan genes *blaCTX-M* o *blaKPC* pueden mostrar sensibilidades residuales a ciertos carbapenémicos, lo que sugiere que la resistencia es una propiedad emergente que requiere la convergencia de mutaciones en porinas, sobreexpresión de bombas de eflujo y una dosificación génica específica (Tamami et al., 2025). Esta discrepancia subraya la necesidad de transitar desde una microbiología cualitativa hacia una cuantificación precisa de la expresión génica mediante RT-qPCR o proteómica cuantitativa (Y. Wu et al., 2025).

Otra área de debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales en la dinámica de transmisión nosocomial bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Si bien herramientas como el Análisis de Datos Topológicos (TDA) han permitido identificar rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la magnitud de esta contribución a la mortalidad hospitalaria sigue siendo objeto de modelado estocástico (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la contaminación ambiental actúa como un "incubador evolutivo", donde la co-selección por metales pesados y residuos industriales pre-adapta a las bacterias ambientales para convertirse en patógenos multirresistentes tras su infiltración en el huésped humano (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la integración de la inteligencia artificial para la personalización terapéutica (Bilal et al., 2025). El desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) que combinen el perfil genómico del resistoma con modelos farmacocinéticos del paciente permitirá predecir el éxito clínico de combinaciones de "último recurso" antes de que se produzca el fallo orgánico (Bilal et al., 2025). Paralelamente, la aplicación de sistemas CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma y el uso de péptidos antimicrobianos (AMPs) que despolarizan la membrana emergen como alternativas biotecnológicas frente al agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wu et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución bacteriana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas.

SECCIÓN II: TECNOLOGÍAS DE FENOTIPADO RÁPIDO

Capítulo 4:

Espectrometría de Masas en Tándem para Hidrólisis Enzimática Directa

4.1. Espectrometría de masas MALDI-TOF aplicada al seguimiento de la degradación de antibióticos

La espectrometría de masas MALDI-TOF MS ha multiplicado su alcance más allá de la identificación de microorganismos, facilitando así la determinación de la actividad de los mecanismos de resistencia bacteriana con rapidez (Tamami et al., 2025). Es decir que el uso permite aislar los cambios que sufren cierto tipo de antibióticos por la exposición a aislados clínicos en el sentido de caracterizar los procesos de degradación enzimática (Nasrollahian et al., 2024). En las infecciones ocasionadas por bacterias productoras de betalactamasas, estas últimas inactivan los antibióticos β -lactámicos mediante la hidrólisis del propio anillo betalactámico. La espectrometría de masas MALDI-TOF MS puede detectar este proceso comparando la molécula antibiótica original junto con los productos generados por la degradación de dicho antibiótico. De esta forma, la técnica permite proporcionar la evidencia que permita demostrar la actividad enzimática responsable de la resistencia. Su rapidez y su capacidad para analizar múltiples muestras, la convierten en una herramienta que resulta de utilidad para la caracterización funcional de los mecanismos de resistencia antimicrobiana.

El procedimiento analítico de MALDI-TOF MS consiste en poner el aislado bacteriano en contacto con una solución estandarizada del antimicrobiano, seguido de un período de incubación que permite que las enzimas implicadas en su degradación actúen (Tamami et al., 2025); posteriormente, el análisis espectrométrico compara el perfil de masa del antibiótico antes y después de la reacción con el objetivo de identificar posibles modificaciones compatibles con su inactivación. Una buena identificación del microorganismo constituye la pieza clave para poder atribuir la actividad observada al aislado que fue analizado, mientras que la interpretación de los espectros permitirá determinar si hay o no se pueden observar signos de actividad enzimática frente al antimicrobiano. A diferencia de otras técnicas de laboratorio, como la difusión en disco y la microdilución en caldo, que requieren prolongados períodos de incubación en los que no se tienen resultados, el comportamiento de MALDI-TOF MS se realiza en un menor espacio de tiempo. Esto se suma a que no se necesita una dilución inicial del antimicrobiano, lo que ayuda a que esta técnica sea una buena opción como

herramienta complementaria que permita la detección de mecanismos de resistencia antimicrobiana en un corto tiempo (Tamami et al., 2025).

Desde una perspectiva biofísica, la aplicación de MALDI-TOF al seguimiento de la degradación utiliza matrices específicas, como el ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (HCCA), para facilitar la transferencia de energía del láser y la ionización suave de los betalactámicos sin fragmentación excesiva (Thai et al., 2025). El análisis del espectro resultante permite cuantificar la desaparición del pico correspondiente al fármaco nativo y la emergencia de picos secundarios representativos de la apertura del anillo (Nasrollahian et al., 2024). Esta capacidad de "fenotipado proteómico" permite distinguir entre aislados que poseen el gen de resistencia pero no lo expresan funcionalmente (resistencia críptica) de aquellos que presentan una hiperproducción enzimática, optimizando los programas de administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship) al evitar el uso de fármacos que serán neutralizados *in vivo*.

4.2. Identificación de picos de hidrólisis de carbapenémicos en menos de 60 minutos

La detección acelerada de la actividad carbapenemasa representa la "hora de oro" en el diagnóstico microbiológico, donde la identificación de los picos de hidrólisis en menos de una hora invalida la necesidad de pruebas fenotípicas lentas como el mCIM o el eCIM (Tamami Tualombo et al., 2025). La bioquímica de esta reacción se centra en la adición de una molécula de agua al carbono del carbonilo del anillo betalactámico, un proceso que genera un incremento sistemático de 18 Daltons (Da) en la masa molecular del compuesto (Nasrollahian et al., 2024). En el caso del meropenem, por ejemplo, MALDI-TOF identifica el pico de la molécula intacta ($m/z \approx$) y su forma hidrolizada o descarboxilada, permitiendo una confirmación visual inmediata de la presencia de enzimas de alto impacto como KPC, NDM o OXA-48 (Tamami et al., 2025).

La eficiencia de este fenotipado rápido ha sido validada en estudios multicéntricos, demostrando que protocolos optimizados de preparación de muestras a partir de hemocultivos positivos permiten obtener resultados de susceptibilidad en fracciones del tiempo convencional (Peri et al., 2024). Como señalan (Luna-De-Alba et al., 2024), la sensibilidad y especificidad de MALDI-TOF para la detección de carbapenemasas en Enterobacterales superan el 98%, lo que permite una desescalada terapéutica dirigida o el inicio de combinaciones de nuevo cuño (ceftazidima-avibactam) de manera casi instantánea. Esta rapidez es crucial para contrarrestar la dinámica evolutiva de clones hipervirulentos, como el linaje ST11-KL64 de *Klebsiella*

pneumoniae, cuya capacidad de diseminación nosocomial depende de su resistencia extrema a los carbapenémicos.

Fisiopatológicamente, la capacidad de identificar estos picos en menos de 60 minutos permite abordar la heterorresistencia, un fenómeno donde subpoblaciones minoritarias portadoras de plásmidos de resistencia pueden eludir la detección en pruebas de sensibilidad promedio (Hwengwere et al., 2022). MALDI-TOF, al analizar la masa total de los productos de degradación, captura la actividad enzimática incluso si esta proviene de una fracción celular pequeña pero metabólicamente activa (Nasrollahian et al., 2024). Este enfoque se alinea con las perspectivas de medicina de precisión, donde la integración de datos de espectrometría de masas con algoritmos de inteligencia artificial permite predecir el fracaso terapéutico antes de que la carga bacteriana alcance niveles críticos, reduciendo las tasas de mortalidad asociadas a infecciones por patógenos ESKAPE (Tamami et al., 2025).

4.3. Espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para la cuantificación de bombas de eflujo

Mientras que MALDI-TOF se especializa en la degradación enzimática, la espectrometría de masas líquida acoplada a tándem (LC-MS/MS) surge como la herramienta definitiva para la cuantificación proteómica de las bombas de eflujo multidrogas, específicamente las de la familia RND (*Resistance-Nodulation-Division*). A diferencia del análisis de expresión génica por RT-qPCR, que cuantifica los niveles de ARNm (Jaiswal et al., 2022), la LC-MS/MS permite la medición directa de la abundancia de las proteínas estructurales, como AcrB en *Escherichia coli* o MexB en *Pseudomonas aeruginosa*, en la fracción de la membrana externa. Este matiz es fundamental, dado que la regulación post-transcripcional y la estabilidad proteica determinan el flujo neto de extrusión del antibiótico, independientemente de la carga transcripcional (Y. Wu et al., 2025).

La metodología de LC-MS/MS aplicada a la envoltura celular utiliza técnicas de monitoreo de reacción seleccionada (SRM) o monitoreo de reacción múltiple (MRM) para identificar péptidos firma de los transportadores RND tras una digestión proteolítica controlada (Y. Wu et al., 2025). Esta cuantificación absoluta permite establecer una correlación cuantitativa entre la densidad de bombas en la membrana y los niveles de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para sustratos como las fluoroquinolonas y los carbapenémicos. Como argumentan (Jaiswal et al., 2022), la hiperproducción de estos complejos tripartitos, que actúan de manera

sinérgica con la impermeabilidad de la membrana externa, es el principal factor subyacente al fracaso terapéutico en ausencia de mecanismos enzimáticos adquiridos.

La traslación clínica de la cuantificación por LC-MS/MS es disruptiva para el diseño de adyuvantes inhibidores de eflujo (EPIs) (W. Wu et al., 2024). Al mapear el interactoma proteico y la abundancia de componentes como TolC, es posible predecir qué aislados responderán a terapias combinadas que busquen restaurar la sensibilidad antibiótica. Además, la integración de estos perfiles proteómicos con modelos de aprendizaje profundo (Deep Learning) permite refinar las predicciones genotipo-fenotipo, identificando marcadores de resistencia que eluden el análisis de secuenciación de genoma completo (WGS) debido a variaciones en la estabilidad de la membrana (Bilal et al., 2025). En conclusión, la espectrometría de masas en tándem representa el pilar de la Resistómica Estructural, proporcionando una visión cuantitativa y dinámica de las nanomaquinarias de resistencia que definen la supervivencia bacteriana en el nicho clínico (W. Wu et al., 2024).

4.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

A pesar de las ventajas innegables de las tecnologías de espectrometría de masas, persisten controversias críticas sobre su estandarización y accesibilidad global. Una de las disputas más intensas radica en la variabilidad de los protocolos de preparación de muestras; pequeñas fluctuaciones en la matriz utilizada o en la potencia del láser pueden alterar los espectros de hidrólisis, dificultando la reproducibilidad entre centros de vigilancia (Luna-De-Alba et al., 2024). Como argumentan (Tamami et al., 2025), aunque MALDI-TOF es el estándar de precisión para la identificación, su aplicación rutinaria al fenotipado de resistencia en entornos de recursos limitados, como Ecuador, se ve obstaculizada por el alto coste de mantenimiento y la necesidad de personal altamente especializado.

El análisis crítico de la evidencia sugiere que el futuro del fenotipado rápido no dependerá de una sola tecnología, sino de la fusión multiómica (Tamami Tualombo et al., 2025). La integración de la espectrometría de masas con la microfluídica cinética permitirá monitorizar la respuesta bacteriana a nivel de célula individual, capturando la dinámica de crecimiento bajo presión antibiótica en tiempo real (Graf et al., 2025). Como proponen (Graf et al., 2025), el uso de gotas microfluídicas combinado con técnicas ópticas de dispersión de luz permite realizar pruebas de sensibilidad antibiótica (AST) multiplexadas en pocas horas,

superando las limitaciones de volumen y tiempo de los métodos convencionales (Graf et al., 2025).

Hacia el futuro, el desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, alimentados por perfiles proteómicos de LC-MS/MS y datos de WGS, permitirá personalizar las dosis de antibióticos de "último recurso" de manera estocástica (Bilal et al., 2025). Este enfoque de medicina de precisión busca anticiparse a la selección de resistencia colateral mediante el ajuste dinámico de la farmacodinámica en el sitio de infección (Elbehiry et al., 2025). En conclusión, la transición hacia tecnologías de fenotipado rápido es una metamorfosis obligatoria para la microbiología clínica, asegurando que el diagnóstico molecular sea el motor de una red de vigilancia global integrada bajo el enfoque de "One Health", capaz de contener la progresión de la resistencia antimicrobiana y salvaguardar la eficacia de los tratamientos médicos del siglo XXI (Tamami Tualombo et al., 2025).

4.5. Detección directa de modificaciones de lípido A en casos de resistencia a colistina

La arquitectura química de la membrana externa en los patógenos Gram negativos está fundamentada en la densidad de carga aniónica del Lípido A, el cual constituye el anclaje hidrofóbico del lipopolisacárido (LPS) y actúa como la diana electrostática primordial para las polimixinas, como la colistina (W. Wu et al., 2024). La fisiopatología de la resistencia en este contexto se manifiesta a través de un proceso de neutralización de carga, donde la bacteria orchestra la adición de grupos catiónicos para abolir la afinidad del antibiótico por la superficie celular (Gauba & Rahman, 2023). La tecnología MALDI-TOF MS ha emergido como una herramienta disruptiva que permite la detección directa de estas modificaciones estructurales, capturando desplazamientos estequiométricos en la relación masa-carga (m/z) de la molécula de Lípido A tras un proceso de extracción ácida simplificado (Tamami Tualombo et al., 2025).

Desde una perspectiva analítica, la incorporación de un grupo fosfoetanolamina (pEtN), mediada frecuentemente por genes de transferencia horizontal como *mcr-I*, induce un incremento específico de 123 Daltons (Da) en el espectro de masas del Lípido A nativo (Elshobary et al., 2025). De manera análoga, la modificación controlada cromosómicamente por los sistemas de dos componentes PhoP/PhoQ y PmrA/PmrB resulta en la adición de 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (L-Ara4N), lo que genera una señal firma con un aumento de 131 Da (Gauba & Rahman, 2023). Esta capacidad de "fenotipado químico" supera las limitaciones de la PCR convencional, ya que MALDI-TOF no solo identifica la presencia del determinante

genético, sino que confirma la funcionalidad bioquímica de la resistencia, distinguiendo entre la mera portación de un gen silente y la remodelación efectiva de la envoltura celular que conduce al fracaso terapéutico (Tamami Tualombo et al., 2025).

La relevancia clínica de monitorizar estas modificaciones es absoluta, especialmente en la gestión de brotes por clones de alta prioridad como *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* (Elshobary et al., 2025). Como bien señalan (Tamami Tualombo et al., 2025), la rapidez diagnóstica de MALDI-TOF permite identificar estas alteraciones en un tiempo significativamente inferior al del antibiograma por microdilución en caldo, el cual es el único método fenotípico de referencia validado para colistina pero requiere hasta 24 horas para su interpretación (Tamami Tualombo et al., 2025). Esta aceleración en el diagnóstico molecular es fundamental para implementar estrategias de administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship), permitiendo la selección de terapias alternativas antes de que la carga bacteriana sature la capacidad de respuesta inmunológica del huésped (Bilal et al., 2025).

4.6. Uso de biomarcadores proteicos específicos para la discriminación de cepas epidémicas

La identificación de patógenos ha transitado de la morfología colonial hacia la huella proteómica de alta resolución, donde el uso de biomarcadores proteicos específicos permite no solo la identificación de especie, sino la discriminación de linajes epidémicos con potencial de diseminación masiva. Este enfoque se basa en la detección de picos de masa únicos dentro del espectro MALDI-TOF, los cuales corresponden a proteínas ribosomales conservadas o factores de virulencia específicos que actúan como "firmas genómicas" de subclones exitosos (Tamami et al., 2025). En el caso de *Staphylococcus aureus*, investigaciones lideradas por (Pérez et al., 2025) han demostrado que perfiles espectrométricos refinados permiten distinguir entre aislados de origen humano y animal, identificando marcadores vinculados a la resistencia a la meticilina (MRSA) con un alto índice de confianza (Bilal et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la persistencia de ciertos clones en el nicho hospitalario, como el linaje ST11-KL64 de *Klebsiella pneumoniae*, está intrínsecamente ligada a su capacidad para mantener una proteostasis optimizada bajo estrés antibiótico (Y. Wang et al., 2025). MALDI-TOF captura esta especialización evolutiva mediante la identificación de picos proteicos que correlacionan con la presencia de hipervirulencia y multirresistencia (Tamami et al., 2025). La precisión de este método depende de un "score" de identificación superior a 2.0, lo que

garantiza que la variabilidad observada en el espectro sea atribuible a diferencias clonales y no a ruido técnico. Como argumentan Bilal et al.,(2025), la integración de estos biomarcadores con algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) permite predecir el comportamiento epidemiológico de una cepa en tiempo real, facilitando la detección temprana de brotes nosocomiales antes de que los métodos de tipificación molecular lenta, como el MLST, proporcionen resultados.

La relevancia de esta discriminación proteómica es vital para el control de infecciones, ya que permite estratificar el riesgo del paciente de manera inmediata. La detección de biomarcadores asociados a la producción de carbapenemasas tipo KPC o NDM mediante MALDI-TOF, analizando la desaparición del pico del fármaco intacto y la emergencia del metabolito hidrolizado, proporciona un fenotipado rápido que guía la terapia de precisión (Tamami et al., 2025). Hacia el futuro, el desarrollo de bases de datos espectrométricas globales bajo el enfoque "One Health" permitirá mapear la circulación de estos biomarcadores a través de la interfaz humano-animal-ambiente, asegurando que la vigilancia genómica sea una herramienta proactiva y no meramente reactiva ante la emergencia de nuevos "superclones" bacterianos.

4.7. Automatización del procesamiento de muestras de hemocultivo para MALDI-TOF

La sepsis representa una de las emergencias médicas más críticas, donde cada hora de retraso en el inicio del tratamiento adecuado incrementa la mortalidad de manera exponencial; en este escenario, la automatización del procesamiento de muestras de hemocultivo para su análisis directo por MALDI-TOF constituye el avance más significativo en la microbiología diagnóstica de la última década (Peri et al., 2024). Tradicionalmente, la identificación bacteriana requería el subcultivo en medios sólidos, lo que añadía entre 18 y 24 horas al proceso. Los protocolos automatizados actuales permiten la extracción de proteínas directamente desde el frasco de hemocultivo positivo mediante técnicas de lisis diferencial y centrifugación gradiente, eliminando la fase de crecimiento en placa y proporcionando resultados en menos de 60 minutos (Hattab et al., 2024).

Fisiopatológicamente, el éxito de la identificación directa radica en la obtención de un inóculo con una densidad celular y pureza proteica suficiente para generar un espectro de masas legible. La implementación de sistemas de incubación automatizada y análisis digital de imágenes, como WASPLab, optimiza la detección del crecimiento microbiano inicial, disparando el protocolo de preparación de muestra para MALDI-TOF de manera inmediata

(Luna-De-Alba et al., 2024). Estudios clínicos han demostrado que esta integración tecnológica, combinada con intervenciones en tiempo real de los equipos de administración de antimicrobianos (ASP), reduce significativamente el tiempo hasta la terapia óptima y disminuye la estancia hospitalaria en pacientes con bacteriemias por microorganismos Gram negativos (Peri et al., 2024).

La automatización no solo mejora la velocidad, sino que estandariza la calidad de los datos generados, reduciendo la variabilidad inter-operador en la preparación de la matriz y la aplicación del láser (Luna et al., 2024). Al utilizar protocolos automatizados para el seguimiento de la hidrólisis de antibióticos, los laboratorios pueden reportar perfiles de susceptibilidad a carbapenémicos de manera casi simultánea a la identificación de especie (Tamami et al., 2025). Esta sinergia diagnóstica es fundamental para contrarrestar la dinámica evolutiva de patógenos multirresistentes en unidades de cuidados intensivos, permitiendo una desescalada terapéutica temprana que minimice la presión selectiva sobre la microbiota comensal y reduzca la aparición de efectos adversos colaterales (Elshobary et al., 2025).

4.8. Diferenciación de sub-clones bacterianos mediante perfiles de espectrometría de alta resolución

La diferenciación de sub-clones bacterianos representa la frontera de resolución de la espectrometría de masas contemporánea, donde la aplicación de perfiles de alta resolución y análisis computacional avanzado permite identificar variaciones fenotípicas críticas dentro de una misma especie (Bilal et al., 2025). Esta capacidad es particularmente relevante en taxones complejos como el complejo *Mycobacterium abscessus*, donde la distinción entre subespecies y perfiles de resistencia a macrólidos determina el éxito del tratamiento a largo plazo (Thai et al., 2025). Mediante el uso de MALDI-TOF de alta resolución, es posible identificar picos minoritarios de baja intensidad que actúan como características discriminatorias para sub-clones específicos, capturando diferencias en el plegamiento proteico o en modificaciones post-traduccionales que eluden la secuenciación de genoma completo convencional (Tamami et al., 2025).

La metodología analítica para esta diferenciación subclonal integra la selección de características (feature selection) mediante algoritmos de árboles de decisión y redes neuronales convolucionales sobre las listas de picos espectrales (Jia et al., 2024). Al dividir los conjuntos de datos en cohortes de entrenamiento y validación (usualmente un ratio 70/30), los modelos de aprendizaje automático pueden aprender a reconocer patrones espectrométricos

que correlacionan con la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) o con linajes genómicos específicos (Jia et al., 2024). Como señalan (Thai et al., 2025), esta aproximación ha permitido discriminar entre cepas sensibles y resistentes con precisiones superiores al 90%, proporcionando un nivel de detalle que transforma a la espectrometría de masas de una herramienta taxonómica en una plataforma de genómica funcional indirecta (Bilal et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la diferenciación de sub-clones permite abordar el fenómeno de la heterorresistencia, identificando subpoblaciones que, aunque minoritarias, presentan perfiles proteómicos de resistencia activa. El análisis espectrométrico de alta resolución captura la suma de las actividades enzimáticas y estructurales de la población bacteriana, revelando estados de transición metabólica que preceden a la fijación de mutaciones de resistencia estables (Hwengwere et al., 2022). En conclusión, el refinamiento de los perfiles de espectrometría de masas, potenciado por la inteligencia artificial, se perfila como el núcleo de la Resistómica Estructural, permitiendo una vigilancia microbiológica de ultra-precisión que es indispensable para navegar la complejidad de la resistencia antimicrobiana en el siglo XXI.

4.9. Integración de la proteómica "top-down" en el flujo de trabajo del laboratorio clínico

La incorporación de la proteómica "top-down" en la rutina de la microbiología diagnóstica representa una transición fundamental desde la identificación basada en el crecimiento biológico hacia la caracterización biofísica instantánea del arsenal proteico bacteriano (Tamami Tualombo et al., 2025). A diferencia del enfoque "bottom-up", que requiere la digestión enzimática previa de las proteínas en péptidos más pequeños, la estrategia "top-down" utiliza la tecnología MALDI-TOF MS para analizar proteínas intactas, predominantemente subunidades ribosomales, lo que permite generar una huella dactilar proteómica de alta fidelidad en cuestión de minutos (Nasrollahian et al., 2024). Fisiopatológicamente, esta técnica captura el estado operativo de la célula en su nicho clínico, permitiendo que el laboratorio identifique no solo el género y la especie del patógeno ESKAPE, sino también biomarcadores específicos vinculados a linajes de alta virulencia o clones epidémicos (Tamami Tualombo et al., 2025).

La integración de este flujo de trabajo se sustenta en la obtención de un "score" de identificación robusto (generalmente ≥ 2.0), el cual es el prerrequisito indispensable para cualquier análisis subsiguiente de susceptibilidad antimicrobiana (Tamami Tualombo et al., 2025). Una vez validada la identidad del microorganismo, la proteómica "top-down" se

extiende hacia el seguimiento de la actividad hidrolítica, donde la espectrometría de masas monitoriza la desaparición del pico correspondiente a la molécula de antibiótico nativa y la emergencia de picos de degradación (Nasrollahian et al., 2024). Como señalan Tamami et al., (2025), esta capacidad de realizar un fenotipado proteómico directo permite al clínico discernir si un determinante de resistencia detectado genotípicamente por PCR o WGS es funcionalmente activo, mitigando el riesgo de falsos positivos asociados a genes silentes o crípticos.

Desde la perspectiva de la fisiopatología celular, la relevancia de la proteómica "top-down" radica en su capacidad para detectar variaciones sutiles en la envoltura celular y en la estabilidad de las betalactamasas (Thai et al., 2025). En aislados de *Acinetobacter baumannii*, por ejemplo, la detección directa de modificaciones químicas en el Lípido A, como la adición de fosfoetanolamina o galactosamina, proporciona una confirmación bioquímica de la resistencia a polimixinas (colistina) de manera mucho más rápida que el antibiograma convencional (Gauba y Rahman, 2023). Esta integración tecnológica no solo optimiza la precisión diagnóstica, sino que redefine el papel del microbiólogo como un analista de datos multiómicos, capaz de predecir la trayectoria evolutiva del patógeno dentro del paciente crítico.

4.10. Estandarización de protocolos de extracción para la detección rápida de enzimas

El éxito de la espectrometría de masas como herramienta de fenotipado rápido depende críticamente de la estandarización de los protocolos de preparación de muestras, los cuales deben asegurar la liberación de una densidad enzimática suficiente para ser detectada por el láser sin comprometer la integridad molecular de los sustratos (Hattab et al., 2024). Tradicionalmente, la identificación bacteriana requería el subcultivo en medios sólidos, un proceso que introducía un retraso de 18 a 24 horas; sin embargo, los protocolos actuales de lisis diferencial y centrifugación gradiente permiten la extracción de proteínas directamente desde el frasco de hemocultivo positivo (Peri et al., 2024). Este avance es vital en casos de sepsis, donde la reducción de la biomasa necesaria para el análisis permite obtener perfiles de resistencia en menos de 60 minutos tras la detección del crecimiento microbiano (Hattab et al., 2024).

Fisiopatológicamente, la estandarización busca optimizar el rendimiento de la relaxasa y otras enzimas periplasmáticas que son liberadas mediante choque osmótico o lisis química controlada (Tamami et al., 2025). La elección de la matriz, frecuentemente el ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (HCCA), es fundamental para facilitar la ionización suave de los

betalactámicos, permitiendo que MALDI-TOF capture con precisión el incremento de 18 Daltons (Da) asociado a la hidrólisis del anillo (Nasrollahian et al., 2024). Como argumentan (Luna et al., 2024), la implementación de sistemas automatizados de procesamiento de muestras, como WASPLab, minimiza la variabilidad inter-operador y asegura que los resultados de susceptibilidad a carbapenémicos sean reproducibles entre diferentes centros hospitalarios.

La relevancia clínica de estos protocolos estandarizados es absoluta, ya que permiten abordar el fenómeno de la heterorresistencia (Hwengwere et al., 2022). Al estandarizar la extracción, es posible detectar la actividad enzimática proveniente de subpoblaciones minoritarias portadoras de plásmidos de resistencia que, de otro modo, eludirían la detección en pruebas de susceptibilidad promedio (Tamami et al., 2025). Hacia el futuro, la estandarización debe avanzar hacia el uso de nanowells microfluídicos y dispositivos "lab-on-a-chip" que permitan realizar estas extracciones en volúmenes de picolitros, reduciendo drásticamente el consumo de reactivos y acelerando aún más la entrega de resultados procesables para el equipo de enfermedades infecciosas.

4.11. Impacto de la espectrometría en la reducción del tiempo hacia la terapia dirigida

La implementación de la espectrometría de masas ha provocado una metamorfosis en la gestión clínica de las bacteriemias por patógenos ESKAPE, logrando una reducción drástica en el tiempo hacia la terapia dirigida (time to optimal therapy) (Peri et al., 2024). En el manejo de la sepsis, se ha documentado que cada hora de retraso en el inicio del antibiótico adecuado correlaciona con un incremento del 7% al 10% en la mortalidad; en este contexto, la capacidad de MALDI-TOF para proporcionar una identificación de especie y un perfil preliminar de carbapenemasas en menos de dos horas invalida el paradigma de la terapia empírica de amplio espectro prolongada (Hattab et al., 2024). Estudios liderados por (Peri et al., 2024) evidencian que el uso de estas tecnologías, combinado con la intervención activa de los programas de administración de antimicrobianos (ASP), reduce significativamente la duración de la hospitalización y los costes sanitarios asociados (Bilal et al., 2025).

El impacto clínico se manifiesta de manera más notable en la desescalada terapéutica temprana (Hattab et al., 2024). Al identificar rápidamente la ausencia de carbapenemasas mediante el seguimiento de la hidrólisis enzimática, el clínico puede transitar de un carbapenémico de "último recurso" a una cefalosporina o una penicilina con inhibidor, protegiendo la microbiota comensal del paciente y reduciendo la presión selectiva para la

emergencia de clones hipervirulentos (Elshobary et al., 2025). Por el contrario, ante la detección inmediata de enzimas como KPC o NDM, se puede iniciar precozmente la administración de combinaciones de nuevo cuño, como ceftazidima-avibactam o aztreonam-avibactam, antes de que se produzca el fallo multiorgánico (Tamami et al., 2025). Como señalan (Bilal et al., 2025), esta velocidad diagnóstica es el pilar de la medicina de precisión, permitiendo personalizar la dosis y el régimen de infusión basándose en el fenotipo proteómico específico del aislado (Bilal et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la reducción del tiempo hacia la terapia dirigida previene el establecimiento de biofilms maduros en dispositivos médicos y la formación de células persistentes, las cuales son las principales causas de infecciones recurrentes y refractarias (Elshobary et al., 2025). La espectrometría de masas, al capturar la dinámica de la hidrólisis en la "hora de oro" del diagnóstico, asegura que el flujo de antibiótico hacia el sitio de infección supere la velocidad de inactivación enzimática periplasmática, maximizando la eficacia bactericida (Jaiswal et al., 2022). En conclusión, el impacto de la espectrometría trasciende el laboratorio para convertirse en una herramienta de supervivencia, transformando la microbiología en una ciencia reactiva en tiempo real.

4.12. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Estructural se define por la tensión entre la explosión de datos tecnológicos y la persistente incertidumbre en la predicción fenotípica universal (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la correlación genotipo-fenotipo; si bien la espectrometría de masas detecta la actividad bioquímica, la magnitud de la resistencia (el valor de la CMI) depende de una orquestación compleja de múltiples factores, incluyendo el número de copias génicas, la expresión de porinas y la hiperactividad de las bombas de eflujo (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la mera presencia de un gen como *blaOXA-23* o *mcr-1* puede no traducirse en un fracaso clínico si los niveles de transcripción son basales, lo que subraya la necesidad de integrar la transcriptómica y la proteómica cuantitativa en la vigilancia rutinaria para evitar decisiones terapéuticas basadas en perfiles moleculares incompletos (Tamami Tualombo et al., 2025).

Otra área de intenso debate crítico es el impacto de los reservorios ambientales en la dinámica de transmisión nosocomial bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de

transferencia horizontal de plásmidos entre el microbioma humano y hábitats externos, la magnitud de esta contribución a la mortalidad global sigue siendo objeto de modelado estocástico (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la contaminación ambiental actúa como un "incubador evolutivo" que pre-adapta a las bacterias para sobrevivir a concentraciones subletales de antibióticos, facilitando su posterior establecimiento como patógenos multirresistentes en el huésped humano (Elbehiry et al., 2025). En regiones con recursos limitados como Ecuador, la accesibilidad a estas tecnologías avanzadas de espectrometría sigue siendo una barrera crítica que perpetúa la disparidad en la calidad de la atención sanitaria (Tamami et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la fusión de la inteligencia artificial con el diagnóstico de célula individual (Bilal et al., 2025). El desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) para la administración de antimicrobianos, alimentados por perfiles proteómicos en tiempo real y modelos de farmacocinética estocástica, permitirá una personalización terapéutica sin precedentes. Asimismo, la integración de la microfluídica cinética con técnicas ópticas de dispersión de luz permitirá realizar pruebas de susceptibilidad (AST) multiplexadas en pocas horas, superando las limitaciones de los métodos convencionales (Graf et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una transformación del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución bacteriana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas.

Capítulo 5:

Citometría de Flujo y Microfluídica en el Fenotipado Cinético

5.1. Principios de la citometría de flujo para evaluar la viabilidad bacteriana en tiempo real

La citometría de flujo representa una de las herramientas más robustas en la vanguardia de la microbiología funcional, permitiendo una caracterización de célula individual mediante la intersección de señales de dispersión de luz y fluorescencia (Y. Wang et al., 2025). Esta técnica trasciende la microbiología convencional basada en el cultivo, al facilitar la discriminación entre células metabólicamente activas, células dañadas irreversiblemente y aquellas en un estado de latencia funcional (Tamami et al., 2025). Fisiopatológicamente, la viabilidad bacteriana no es un estado binario, sino un gradiente de integridad estructural y potencial bioenergético (Elshobary et al., 2025). La citometría de flujo captura esta complejidad analizando parámetros físicos como el Forward Scatter (FSC), que correlaciona con el radio hidrodinámico celular, y el Side Scatter (SSC), que refleja la granularidad interna y la complejidad del citoplasma tras la exposición a agentes citotóxicos (Esposito et al., 2025).

La evaluación en tiempo real de la viabilidad se sustenta habitualmente en el uso de fluoróforos de exclusión de membrana, como el yoduro de propidio (PI), que solo penetra en células con la barrera de permeabilidad comprometida, intercalándose de manera irreversible en el ADN (Elshobary et al., 2025). Como bien señalan (Y. Wang et al., 2025), el empleo de sistemas multiplexados permite combinar sondas de integridad con marcadores de actividad enzimática, como el diacetato de fluoresceína (FDA), que es hidrolizado únicamente por esterasas intracitoplasmáticas funcionales. Esta capacidad de "fenotipado metabólico" es vital para el manejo clínico del paciente con sepsis, ya que permite detectar la eficacia bactericida de una combinación antibiótica en cuestión de minutos, superando la latencia de 24 horas inherente a los métodos de microdilución estándar.

Desde una perspectiva analítica, la citometría de flujo de alta resolución permite monitorizar la dinámica de la división celular bajo presión antibiótica, identificando subpoblaciones que eluden la acción farmacológica mediante la formación de células persistentes (Denk y Wood, 2023). Estas subpoblaciones, que presentan una quiescencia reversible, son las principales responsables de las infecciones recurrentes en patógenos ESKAPE (Elshobary et al., 2025). La relevancia clínica de esta tecnología radica en su capacidad para guiar la terapia de precisión; al cuantificar la densidad de células viables

remanentes tras un ciclo de exposición, el equipo de administración de antimicrobianos (ASP) puede ajustar dinámicamente las dosis de antibióticos de "última trinchera", como las polimixinas, basándose en la respuesta celular inmediata del aislado del paciente.

5.2. Análisis del potencial de membrana mediante sondas fluorescentes bajo presión antibiótica

La integridad del gradiente electroquímico de protones, o fuerza motriz de protones (PMF), constituye el eje bioenergético fundamental que sustenta tanto el transporte de nutrientes como la funcionalidad de las bombas de eflujo multidrogas (W. Wu et al., 2024). La fisiopatología de la resistencia se manifiesta frecuentemente a través de la modulación de este potencial; por ejemplo, la despolarización de la membrana citoplasmática inhibe directamente la actividad de las nanomaquinarias de la familia Resistencia-Nodulación-División (RND), las cuales dependen del antiporte de protones para la extrusión activa de antibióticos (Korczak et al., 2024). El análisis del potencial de membrana ($\Delta\psi$) mediante citometría de flujo utiliza sondas lipofílicas catiónicas, como la carbocianina (DiOC2(3)), que se acumulan en el citoplasma en función del gradiente eléctrico, permitiendo monitorizar el colapso bioenergético celular tras la agresión farmacológica (W. Wu et al., 2024).

Bajo la exposición a ciertos antibióticos bactericidas o péptidos antimicrobianos (AMPs) de nueva generación, se produce una alteración de la tensión superficial de la membrana que conduce a la disipación del gradiente iónico (Elshobary et al., 2025). Investigaciones lideradas por (W. Wu et al., 2024) han demostrado que la despolarización masiva inducida por moléculas que actúan sobre el lipopolisacárido (LPS) no solo anula la viabilidad, sino que "paraliza" la capacidad de la bacteria para expulsar otros sustratos coexistentes, como las quinolonas o los carbapenémicos. Este fenómeno de sinergia bioenergética es una frontera crítica para el desarrollo de adyuvantes; el uso de sondas fluorescentes bajo presión antibiótica permite identificar qué compuestos actúan como inhibidores indirectos del eflujo al comprometer el suministro energético de la célula (Elshobary et al., 2025).

Clínicamente, la monitorización del potencial de membrana mediante citometría multiespectral permite predecir el fracaso terapéutico antes de que se observe una reducción en la carga bacteriana (Bilal et al., 2025). Como explican Elshobary et al., 2025 En la detección de subpoblaciones con un potencial de membrana preservado tras el tratamiento empírico con colistina sugiere la presencia de mecanismos de resistencia adquirida, como los codificados

por el gen *mcr-1*, que orquestan una remodelación química del Lípido A para evitar el daño bioenergético inicial (Elshobary et al., 2025). Esta capacidad de análisis funcional, combinada con algoritmos de aprendizaje profundo, facilita la creación de modelos predictivos que asocian la cinética de despolarización con los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), proporcionando un diagnóstico molecular que trasciende la mera detección de genes (Bilal et al., 2025).

5.3. Microfluídica de gota única para la determinación rápida de la CMI

La tecnología de microfluídica de gota única (droplet microfluidics) ha revolucionado el paradigma de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST) al permitir la compartimentación de bacterias individuales en gotas de volumen picolítrico (Graf et al., 2025). Esta plataforma analítica genera miles de micro-reactores independientes donde las células se incuban con gradientes estandarizados de antibióticos, permitiendo una cuantificación estadística de la respuesta microbiana con una resolución sin precedentes (Graf et al., 2025). Fisiopatológicamente, la microfluídica captura la heterogeneidad metabólica de la población, identificando variantes de crecimiento rápido y células persistentes que son enmascaradas en los ensayos masivos de microdilución en caldo (Hwengwere et al., 2022).

La metodología de determinación rápida de la CMI se fundamenta en técnicas de detección óptica avanzadas, como la imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS imaging). Mediante el uso de una matriz de sensores CMOS y láseres de alta precisión, es posible monitorizar el incremento de la biomasa dentro de cada gota analizando los patrones de difracción generados por las células en crecimiento. Como señalan Graf et al., (2025), este enfoque permite obtener perfiles de susceptibilidad para múltiples antibióticos en una sola corrida ("one-shot"), reduciendo el tiempo de entrega de resultados a una ventana de 1 a 5 horas (Graf et al., 2025). Esta aceleración diagnóstica es el pilar de la medicina de precisión, permitiendo la transición inmediata hacia una terapia dirigida que minimice la selección de clones multirresistentes en entornos nosocomiales (Bilal et al., 2025).

Desde el prisma de la ingeniería biomédica, los dispositivos "lab-on-a-chip" (LOC) integran fases de dilución automatizada y mezcla estocástica que eliminan el error humano y estandarizan el inóculo celular (Ardila et al., 2023). La relevancia clínica de estas plataformas se extiende al estudio de patógenos de difícil crecimiento o especies comensales del microbioma humano que actúan como reservorios de resistencia (S. Zhang et al., 2025). Al emplear microfluídica de gota única, es posible mapear el resistoma funcional de muestras

polimicrobianas complejas, como las procedentes de hemocultivos o lavados broncoalveolares, identificando la CMI específica para el patógeno dominante antes de su aislamiento en placa (Hattab et al., 2024). En conclusión, la microfluídica de precisión se perfila como la tecnología disruptiva que permitirá contener la crisis global de resistencia al transformar el laboratorio de microbiología en una unidad de respuesta cinética en tiempo real (Tamami et al., 2025).

5.4. Citometría de flujo multiespectral aplicada al estudio de la persistencia bacteriana

El fenómeno de la persistencia bacteriana constituye una de las mayores barreras para la erradicación de infecciones crónicas y la prevención del fracaso terapéutico (Elshobary et al., 2025). A diferencia de la resistencia genética, que se transmite verticalmente, la persistencia es un estado fenotípico transitorio donde una fracción minoritaria de la población entra en una fase de letargia metabólica profunda, eludiendo la acción de los antibióticos bactericidas que dependen de la síntesis de pared celular o la replicación del ADN (Elshobary et al., 2025). La citometría de flujo multiespectral ha emergido como la herramienta definitiva para caracterizar estas células persistentes, al integrar la alta resolución de la citometría convencional con la capacidad de análisis de imagen de célula individual, permitiendo identificar marcadores de baja actividad transcripcional y remodelación química del citoplasma (Bilal et al., 2025).

Fisiopatológicamente, las células persistentes son inducidas por diversos estresores ambientales, incluyendo el estrés oxidativo y la limitación de nutrientes, procesos que a menudo son orquestados por los sistemas de toxina-antitoxina (TA) (Elshobary et al., 2025). La citometría multiespectral permite cuantificar la expresión de estos módulos TA mediante el uso de biosensores fluorescentes, identificando estados de transición metabólica que preceden a la fijación de la persistencia (Elshobary et al., 2025). Esta capacidad analítica es fundamental para abordar la heterorresistencia, un fenómeno donde subpoblaciones portadoras de mutaciones inestables o altos números de copias génicas sobreviven selectivamente bajo presión antibiótica, facilitando la posterior emergencia de resistencia estable (Jia et al., 2024).

La relevancia de esta tecnología en la práctica clínica radica en su potencial para predecir la probabilidad de recurrencia de la infección (Peri et al., 2024). Como bien argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de datos de citometría multiespectral con algoritmos de aprendizaje profundo permite estratificar a los pacientes en función de la carga de persistentes identificada en el sitio de infección, lo que debe guiar la duración del tratamiento y la selección de terapias coadyuvantes que "despierten" o eliminen específicamente a estas subpoblaciones (Elshobary et al., 2025). Hacia el futuro, el desarrollo de citómetros de flujo

portátiles y plataformas microfluídicas multiespectrales permitirá llevar este análisis de alta complejidad al punto de atención del paciente (Point-of-Care), asegurando que la vigilancia de la Resistómica Estructural sea una herramienta proactiva que supere la velocidad de adaptación evolutiva bacteriana.

5.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de las tecnologías de fenotipado cinético se define por la tensión entre su indiscutible superioridad analítica y los desafíos persistentes para su implementación universal en la microbiología diagnóstica (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la estandarización de los valores de corte cinéticos; mientras que los puntos de corte de la CMI están validados internacionalmente por comités como el CLSI y EUCAST para métodos de punto final, la traducción de las tasas de despolarización de membrana o las cinéticas de dispersión de luz en microgotas hacia decisiones clínicas requiere una validación prospectiva masiva que aún está en curso (Graf et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la variabilidad en la respuesta de célula individual bajo condiciones de flujo dinámico introduce una dimensión de incertidumbre estocástica que debe ser gestionada mediante modelos computacionales robustos para evitar interpretaciones erróneas de la susceptibilidad.

Otro área de debate crítico es el impacto del coste adaptativo sobre la estabilidad de los fenotipos detectados por microfluídica (Denk y Wood, 2023). Investigaciones han sugerido que el aislamiento de células individuales en gotas picolítricas puede alterar la expresión de genes de resistencia dependientes del quorum sensing o de señales de estrés de la comunidad bacteriana, lo que podría conducir a una subestimación de la CMI real en el contexto de una infección in vivo (Michaelis y Grohmann, 2023). El análisis crítico de la evidencia sugiere que el futuro del diagnóstico no dependerá de una sola tecnología, sino de la fusión multiómica en tiempo real, donde los perfiles de citometría multiespectral se integren con datos de secuenciación de genoma completo (WGS) y modelos de farmacocinética de precisión (Bilal et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a estas tecnologías mediante el desarrollo de dispositivos LOC de bajo coste basados en materiales biocompatibles y procesos de fabricación simplificados (Ardila et al., 2023). La implementación de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, alimentados por los parámetros cinéticos obtenidos en la "hora de oro" del diagnóstico, permitirá una personalización terapéutica que minimice la toxicidad colateral y prevenga la

emergencia de nuevos "superclones" bacterianos (Bilal et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural y el fenotipado cinético sean los pilares para navegar una evolución bacteriana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas.

5.6. Monitorización del daño celular por aminoglucósidos mediante análisis de dispersión de luz

La farmacodinámica de los aminoglucósidos, agentes bactericidas que interfieren con la fidelidad de la traducción proteica al unirse a la subunidad 16S del ARNr, desencadena una cascada de eventos deletéreos que culminan en el colapso de la integridad de la envoltura celular (Esposito et al., 2025). La fisiopatología del daño celular inducido por estos compuestos no se limita a la inhibición ribosómica; la síntesis de proteínas aberrantes provoca su inserción defectuosa en la membrana citoplasmática, generando poros no selectivos que alteran el potencial transmembrana (W. Wu et al., 2024). La monitorización de estos eventos mediante el análisis de dispersión de luz (Angle-Resolved Light Scattering, ARS) permite capturar, con una resolución de célula individual, las alteraciones en el radio hidrodinámico y la densidad citoplasmática asociadas a la agresión por aminoglucósidos (Esposito et al., 2025).

Desde una perspectiva biofísica, la técnica de ARS utiliza un haz gaussiano purificado mediante filtros espaciales para incidir sobre gotas microfluídicas que contienen a los patógenos ESKAPE (Graf et al., 2025). La detección se realiza a través de una matriz de sensores CMOS de alta sensibilidad que adquiere perfiles bidimensionales de difracción en un solo disparo ("single shot"), eliminando el ruido derivado del movimiento browniano (Graf et al., 2025). Como bien explican (Graf et al., 2025), el análisis de los ángulos de dispersión polar y azimutal permite distinguir entre la muerte celular por lisis, caracterizada por una disminución drástica del Forward Scatter (FSC), y el estado de quiescencia metabólica, donde la señal de Side Scatter (SSC) se estabiliza debido a la detención de la síntesis proteica (Elshobary et al., 2025). Esta capacidad de fenotipado cinético es vital para la clínica, ya que permite detectar la eficacia del tratamiento con gentamicina o tobramicina en menos de 120 minutos, anticipando el éxito terapéutico mucho antes de que se produzca una reducción de la biomasa detectable por métodos turbidimétricos (Tamami et al., 2025).

La relevancia de este análisis funcional reside en la identificación de mecanismos de resistencia estructural, como la metilación del sitio diana 16S o la hiperactividad de bombas de eflujo de la familia RND (W. Wu et al., 2024). En aislados de *Pseudomonas aeruginosa*, la

sobreexpresión de bombas como MexXY-OprM reduce la acumulación intracelular del aminoglucósido, lo que se manifiesta en los perfiles de ARS como una persistencia de la tasa de división celular a pesar de concentraciones teóricamente bactericidas (W. Wu et al., 2024). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de estas señales ópticas con modelos de redes neuronales permite predecir la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) con una precisión superior al 90%, facilitando una intervención terapéutica de precisión en pacientes con sepsis grave donde cada minuto de exposición subóptima incrementa el riesgo de fracaso multiorgánico.

5.7. Plataformas de microfluídica digital para el cribado de combinaciones sinérgicas

La emergencia de patógenos con resistencia extrema (XDR) ha forzado la transición hacia regímenes de polifarmacia, donde el cribado de combinaciones sinérgicas es la única alternativa viable para restaurar la susceptibilidad antimicrobiana (Elshobary et al., 2025). Las plataformas de microfluídica digital, basadas en la generación y manipulación de gotas picolítricas, permiten realizar miles de experimentos de combinación en paralelo, utilizando volúmenes de reactivos que son órdenes de magnitud inferiores a los de la microdilución convencional (Ardila et al., 2023). Fisiopatológicamente, estas plataformas capturan la interacción molecular entre diferentes clases de antibióticos; por ejemplo, la sinergia entre un betalactámico que desestabiliza la pared celular y un aminoglucósido que penetra con mayor eficiencia tras el daño de la envoltura (Elshobary et al., 2025).

La arquitectura de estos dispositivos "lab-on-a-chip" integra sistemas de mezcla estocástica y dilución automatizada que generan gradientes de concentración en damero ("checkerboard") dentro de compartimentos aislados (Ardila et al., 2023). En estas microgotas, es posible evaluar la eficacia de combinaciones críticas, como meropenem-vaborbactam o ceftazidima-avibactam junto con colistina, monitorizando la cinética de inhibición en tiempo real mediante sensores de fluorescencia o técnicas ópticas label-free (Elshobary et al., 2025). Como bien señalan (Ardila et al., 2023), la microfluídica digital no solo acelera el diagnóstico, sino que permite identificar el Índice de Concentración Inhibitoria Fraccionada (FICI) de manera dinámica, proporcionando una base científica para el diseño de terapias personalizadas que eviten la selección de resistencia colateral (Elbehiry et al., 2025).

La relevancia clínica de estas plataformas en entornos nosocomiales es absoluta para la gestión de clones hipervirulentos, como el linaje ST11-KL64 de *Klebsiella pneumoniae*, que a menudo co-expresa carbapenemasas y metalo-betalactamasas (Tamami et al., 2025). Mediante

el uso de plataformas como UOMS-AST (Under-Oil Sessile Microdrop AST), los laboratorios pueden reportar perfiles de sinergia para patógenos XDR en menos de 5 horas a partir de hemocultivos positivos (C. Li et al., 2023). Este avance tecnológico, combinado con la potencia predictiva de la inteligencia artificial, facilita la creación de "gemelos digitales" de administración de antimicrobianos que optimizan la dosificación de combinaciones complejas basándose en la trayectoria de crecimiento específica del aislado del paciente, reduciendo drásticamente la mortalidad asociada a la resistencia multidrogas (Bilal et al., 2025).

5.8. Evaluación de la tasa de crecimiento bacteriano mediante sensores ópticos de alta sensibilidad

La cuantificación precisa de la tasa de crecimiento bacteriano constituye el parámetro fundamental para discernir entre susceptibilidad, tolerancia y resistencia activa (Denk y Wood, 2023). Los métodos convencionales, basados en la densidad óptica a 600 nm, carecen de la sensibilidad necesaria para detectar cambios sutiles en la biomasa durante las fases iniciales del ciclo celular (Graf et al., 2025). Por el contrario, el uso de sensores ópticos de alta sensibilidad, integrados en sistemas microfluídicos, permite monitorizar el crecimiento a nivel de célula individual analizando patrones de difracción de luz resueltos por ángulo (ARS imaging) (Graf et al., 2025). Esta tecnología captura la cinética de replicación con una resolución picométrica, identificando desviaciones estocásticas que preceden al establecimiento de una población resistente (Graf et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la tasa de crecimiento es un reflejo de la proteostasis y el potencial bioenergético celular; bajo presión antibiótica, la bacteria debe equilibrar el coste adaptativo del resistoma con la velocidad de división (W. Wu et al., 2024). Los sensores ópticos detectan la transición hacia un estado de latencia inducida por fármacos, donde la bacteria detiene su crecimiento para eludir la acción de antibióticos bactericidas como los carbapenémicos (Elshobary et al., 2025). Como señalan (Graf et al., 2025), el empleo de algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) para procesar las imágenes de ARS permite predecir el fracaso terapéutico analizando la rugosidad de la superficie bacteriana y los cambios en la refractividad citoplasmática asociados a la formación de células persistentes (Bilal et al., 2025).

Desde la perspectiva de la microbiología funcional, esta evaluación cinética es indispensable para estudiar el fenómeno de la co-selección y la estabilidad plasmídica (S. Zhang et al., 2025). Al monitorizar la tasa de crecimiento de clones isogénicos con y sin

plásmidos multirresistentes en microgotas, es posible cuantificar el fitness cost real en nichos clínicos específicos (Michaelis y Grohmann, 2023). La relevancia clínica de estas mediciones es vital para el éxito de los programas de administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship); al proporcionar un valor de CMI cinético en tiempo real, los clínicos pueden ajustar el régimen de infusión de antibióticos de "último recurso", asegurando concentraciones que superen el umbral de crecimiento de subpoblaciones heteroresistentes y prevengan la recidiva de la infección (Bilal et al., 2025).

5.9. Detección de heteroresistencia poblacional en dispositivos microfluídicos

La heteroresistencia poblacional es un rasgo evolutivo crítico donde una minoría de células dentro de un clon susceptible posee una capacidad de resistencia incrementada, a menudo mediada por amplificaciones transitorias en el número de copias génicas (CNV) (Jia et al., 2024). Esta asimetría fenotípica es el principal factor subyacente al fracaso terapéutico paradójico, ya que las pruebas de susceptibilidad masiva ("bulk AST") promedian la respuesta poblacional, enmascarando a las células resistentes (Hwengwere et al., 2022). La microfluídica de gota única emerge como la solución definitiva para este problema, al actuar como un tamiz estadístico que aísla a bacterias individuales en compartimentos independientes, permitiendo observar el crecimiento de los "escapistas" genómicos sin la interferencia de la población susceptible predominante (Graf et al., 2025).

La fisiopatología de la heteroresistencia en dispositivos microfluídicos se manifiesta a través de la detección de crecimiento aberrante en gotas que contienen concentraciones de antibiótico superiores al punto de corte establecido. Investigaciones lideradas por (Graf et al., 2025) han demostrado que la monitorización mediante ARS imaging permite identificar subpoblaciones heteroresistentes en menos de 4 horas, capturando el incremento de biomasa en micro-reactores aislados de *Klebsiella pneumoniae* portadora de carbapenemasas tipo OXA-48 o KPC (Tamami et al., 2025). Este nivel de detalle es inalcanzable para la PCR o la secuenciación convencional, que no pueden distinguir entre la portación génica homogénea y la expresión diferencial estocástica que define a la heteroresistencia (Bilal et al., 2025).

La relevancia de esta detección subclonal es absoluta para el control de brotes en unidades de cuidados intensivos (Guerrero et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de datos microfluídicos con algoritmos de aprendizaje profundo permite generar perfiles de riesgo poblacional, prediciendo qué pacientes tienen una mayor probabilidad de desarrollar resistencia estable durante el curso del tratamiento (Bilal et al., 2025). Hacia el

futuro, la democratización de estos dispositivos microfluídicos en la cabecera del paciente (Point-of-Care) permitirá una vigilancia de la Resistómica Estructural de ultra-alta resolución, asegurando que la elección del antimicrobiano no solo considere la identidad del patógeno, sino la arquitectura completa de su diversidad poblacional, con el fin de contener la evolución bacteriana y salvaguardar la viabilidad de la medicina moderna (Tamami et al., 2025).

5.10. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Estructural se define por la tensión entre la explosión de capacidades tecnológicas de fenotipado cinético y la necesidad urgente de estandarización diagnóstica global (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la correlación entre las cinéticas *in vitro* e *in vivo*; si bien los dispositivos microfluídicos capturan la dinámica celular en picolitros, el entorno del huésped impone estresores (como la inmunidad innata o la competencia del microbioma) que alteran drásticamente la tasa de replicación bacteriana y la expresión de genes de resistencia (Denk y Wood, 2023). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la mera medición de la CMI en gotas aisladas puede subestimar la resiliencia de comunidades polimicrobianas o biopelículas, lo que subraya la necesidad de transitar hacia modelos de "órgano-en-un-chip" (organ-on-a-chip) que mimeticen el nicho tisular humano (Elshobary et al., 2025).

Otro área de debate crítico es el impacto del enfoque "One Health" sobre la vigilancia del resistoma dinámico (S. Zhang et al., 2025). Aunque herramientas como el Análisis de Datos Topológicos (TDA) han permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre reservorios ambientales y patógenos humanos, la contribución exacta de la contaminación por aminoglucósidos en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria sigue siendo objeto de modelado estocástico (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que el futuro del diagnóstico rápido no dependerá de una sola tecnología, sino de la fusión multiómica en tiempo real, donde los perfiles cinéticos microfluídicos se integren con datos de secuenciación de lectura larga (Long-read sequencing) para predecir la trayectoria evolutiva del mobiloma dentro del paciente crítico.

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la personalización terapéutica mediante el uso de gemelos digitales (Digital Twins) alimentados por flujos masivos de datos cinéticos obtenidos en la "hora de oro" del diagnóstico (Bilal et al., 2025). La implementación de tecnologías basadas en CRISPR-Cas para la edición *in situ* del resistoma poblacional y el desarrollo de adyuvantes inhibidores de eflujo que actúen sobre la bioenergética de la

membrana representan las fronteras biotecnológicas para superar la era de los antibióticos convencionales (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la supervivencia de las generaciones futuras (Tamami et al., 2025).

5.11. Cuantificación de la acumulación intracelular de antibióticos en células individuales

La eficacia de la intervención farmacológica en las enfermedades infecciosas no reside únicamente en la potencia intrínseca del compuesto, sino en la capacidad de alcanzar una densidad crítica en el sitio diana, un fenómeno que la Resistómica Estructural aborda a través de la cuantificación de la acumulación intracelular con resolución de célula individual (W. Wu et al., 2024). En los patógenos de la familia ESKAPE, la concentración neta del antibiótico en el compartimento citoplasmático o periplasmático es el resultado de un equilibrio dinámico y a menudo asimétrico entre el influjo pasivo y la extrusión activa. Fisiopatológicamente, esta acumulación está gobernada por la fuerza motriz de protones (PMF), que actúa como el motor energético primordial para las bombas de eflujo de la familia RND (*Resistance-Nodulation-Division*), como el complejo AcrAB-TolC en *Escherichia coli* o MexAB-OprM en *Pseudomonas aeruginosa* (W. Wu et al., 2024). La medición de este flujo en células individuales mediante citometría multiespectral permite identificar fenómenos de heterogeneidad metabólica, donde subpoblaciones específicas logran mantener niveles de acumulación subinhibitorios a pesar de encontrarse en un entorno saturado de fármaco (W. Wu et al., 2024).

Desde una perspectiva de biofísica celular, la acumulación intracelular es una propiedad emergente de la integridad de la envoltura (Gauba y Rahman, 2023). Investigaciones lideradas por (W. Wu et al., 2024) han demostrado que la exposición a inductores del estrés de membrana activa redes de regulación transcripcional que reprograman el perfil de porinas, reduciendo el influjo de moléculas de gran radio hidrodinámico (W. Wu et al., 2024). De manera simultánea, la hiperactividad de los transportadores RND, confirmada por estudios de cuantificación proteómica (LC-MS/MS), correlaciona con una disminución drástica en la acumulación de carbapenémicos y fluoroquinolonas. Como señalan (Jaiswal et al., 2022), existe una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.001$) entre la sobreexpresión de los genes *acrA*

y *acrB* y el incremento de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), lo que evidencia que la fisiopatología de la multirresistencia es un proceso dependiente de la dosis enzimática y la capacidad de extrusión mecánica (Jaiswal et al., 2022).

La traslación clínica de esta cuantificación es fundamental para el éxito de los regímenes terapéuticos de precisión (Bilal et al., 2025). El uso de adyuvantes, como la piperina, ha mostrado una capacidad disruptiva al inhibir la producción de bombas de eflujo y restaurar la acumulación de imipenem dentro de la célula, transformando un fenotipo resistente en uno susceptible sin alterar la estructura química del antibiótico (W. Wu et al., 2024). Esta estrategia subraya la importancia del fenotipado cinético, donde la monitorización de la acumulación farmacológica en tiempo real mediante sondas fluorescentes permite predecir el fracaso terapéutico mucho antes de que la carga bacteriana sature la capacidad defensiva del huésped (Elshobary et al., 2025).

5.12. Integración de microfluídica con microscopía de lapso de tiempo para fenotipado dinámico

La convergencia de la arquitectura lab-on-a-chip (LOC) y la microscopía de lapso de tiempo (time-lapse) constituye el pináculo de la microbiología funcional diagnóstica, permitiendo observar la trayectoria evolutiva de patógenos individuales bajo presión antibiótica. Esta integración tecnológica se fundamenta en el confinamiento de bacterias en gotas microfluídicas de volumen picolítrico, las cuales funcionan como biorreactores independientes que aíslan a la célula de las señales de quorum sensing de la comunidad mayoritaria, revelando comportamientos fenotípicos estocásticos que de otro modo quedarían enmascarados (Graf et al., 2025). Mediante el uso de técnicas de imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS imaging) y sensores CMOS de alta velocidad, es posible capturar perfiles de difracción bidimensionales que reflejan cambios en la rugosidad de la superficie bacteriana y en la densidad del citoplasma tras la agresión farmacológica.

La fisiopatología del crecimiento bacteriano en dispositivos microfluídicos permite discernir entre la muerte celular por lisis y el estado de quiescencia o persistencia inducida (Elshobary et al., 2025). La microscopía de lapso de tiempo monitoriza la cinética de división celular con una resolución temporal de milisegundos, identificando desviaciones estocásticas en la tasa de crecimiento que preceden a la emergencia de resistencia estable. Como explican (Graf et al., 2025), el análisis computacional de las imágenes de ARS mediante algoritmos de redes neuronales permite predecir los valores de CMI en una ventana de 1 a 5 horas, lo que

representa una reducción drástica del tiempo diagnóstico frente a los métodos turbidimétricos convencionales (Graf et al., 2025). Esta aceleración diagnóstica es el pilar de la medicina de precisión, facilitando el inicio de la terapia dirigida antes de que la infección progrese hacia una sepsis irreversible (Bilal et al., 2025).

Desde la perspectiva de la ingeniería biomédica, los sistemas microfluídicos digitales permiten el cribado masivo de combinaciones sinérgicas en gradientes de concentración automatizados, capturando la interacción molecular entre betalactámicos y aminoglucósidos en tiempo real (Ardila et al., 2023). La relevancia clínica de estas plataformas se extiende al estudio de la heterorresistencia poblacional, donde el análisis dinámico identifica subpoblaciones portadoras de amplificaciones en el número de copias génicas (CNV) que sobreviven selectivamente bajo dosis subóptimas de antibióticos (Jia et al., 2024). En conclusión, la integración de la microfluídica y la microscopía cinética redefine el diagnóstico microbiológico como una ciencia de observación directa de la supervivencia celular, proporcionando una base empírica inigualable para la administración de antimicrobianos en el siglo XXI.

5.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Estructural se define por la tensión entre la explosión de capacidades tecnológicas de fenotipado dinámico y la persistente incertidumbre en la predicción universal de los desenlaces clínicos. Una de las controversias más agudas radica en la correlación genotipo-fenotipo; si bien herramientas como la microfluídica capturan la respuesta funcional, la mera presencia de un gen de resistencia detectado por WGS no siempre se traduce en un fracaso farmacológico detectable *in vitro* debido a factores como el ruido transcripcional o la modulación adaptativa (Tamami Tualombo et al., 2025). Investigaciones críticas han evidenciado que aislados que portan genes *blaCTX-M* pueden mostrar sensibilidades residuales que invalidan la toma de decisiones basada exclusivamente en perfiles moleculares cualitativos, subrayando la necesidad de integrar la transcriptómica cuantitativa en la vigilancia rutinaria (Tamami et al., 2025).

Otra área de intenso debate es el impacto de los reservorios ambientales en la dinámica de transmisión bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la magnitud de la contribución de la contaminación ambiental a la mortalidad hospitalaria sigue siendo objeto de modelado

estocástico (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que el futuro del diagnóstico rápido no dependerá de una sola tecnología, sino de la fusión multiómica en tiempo real, donde los perfiles de citometría multiespectral se integren con datos de secuenciación de lectura larga (Long-read sequencing) para predecir la trayectoria evolutiva del mobiloma dentro del paciente crítico.

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en el desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, alimentados por flujos masivos de datos cinéticos obtenidos en la "hora de oro" del diagnóstico (Bilal et al., 2025). Asimismo, la implementación de tecnologías basadas en CRISPR-Cas para la edición in situ del resistoma bacteriano y el uso de péptidos antimicrobianos (AMPs) que despolarizan específicamente la membrana de patógenos multirresistentes emergen como las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia requiere una metamorfosis del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la viabilidad de los tratamientos médicos para las generaciones futuras.

Capítulo 6:

Diagnóstico Molecular Directo y Secuenciación de Nanoporos

6.1. Secuenciación de lectura larga para la reconstrucción completa de plásmidos

La estructura del genoma bacteriano, en especial de los patógenos nosocomiales de alta prioridad, incluye tanto los cromosomas como los elementos genéticos móviles, entre los que se encuentran los plásmidos que contienen los genes de resistencia antimicrobiana. Esto resulta de importancia, ya que estos plásmidos son capaces de portar en una única unidad funcional, varios determinantes de resistencia, además de ser capaces de transferirse entre bacterias favoreciendo la multirresistencia. No obstante, la caracterización de estos elementos puede verse limitada por secuencias repetitivas (IS26, ciertos transposones, etc.), que suelen dificultar el ensamblaje del genoma a partir de tecnologías de lectura corta. Es decir, la secuenciación de lectura larga a partir de plataformas de nanoporos (ejemplo, MinION) permite obtener grandes fragmentos de ADN en una única lectura, de la misma forma que facilita la reconstrucción de plásmidos completos. Esta capacidad permite incrementar la identificación de los genes de resistencia, la forma en la que están organizados dentro de los elementos móviles (Hala et al., 2024).

Fisiopatológicamente, la reconstrucción del plásmido total es fundamental para determinar tanto la dosificación génica como el contexto genómico de determinantes críticos como pueden ser las carbapenemasas tipo KPC o las metalo-betalactamasas NDM (Hala et al., 2024). Según las investigaciones de Hala et al., (2024), lo que permite el uso de ensamblaje híbrido asistido por la herramienta Unicycler es la posibilidad de fusionar la precisión base de las lecturas cortas con la capacidad de andamiaje (scaffolding) de los nanoporos, lo que permite la recuperación completa de plásmidos de la familia IncF o IncX y una fidelidad absoluta. Esta técnica demuestra que la resistencia no es sólo una cuestión de presencia génica, sino una cuestión de arquitectura de islas de multirresistencia donde la co-localización de genes de resistencia a metales pesados y a antibióticos garantiza la continuidad del plásmido aún en condiciones de presión selectiva ambiental cambiante.

La reconstrucción total de los plásmidos permite mejorar la epidemiología molecular, entendida como el análisis de la distribución y la transmisión de diferentes variantes de genes asociados a la resistencia antimicrobiana. La identificación de la entera organización de esta

clase de elementos móviles ayuda a establecer las posibles rutas de transmisión entre especies bacterianas y de una bacteria con pacientes, especialmente en áreas de cuidados intensivos. Este tipo de información complementa a los sistemas de tipificación como el de MLST (Multilocus Sequence Typing), que tipifican bacterias a partir de genes conservados, esto último puede ofrecer. Sin embargo, menos información sobre la estructura de los plásmidos. El análisis del plasmidoma, este conjunto de plásmidos que acompañan a las bacterias, por su parte, permite estudiar características y el número de copias de plásmidos.

6.2. Identificación de determinantes de resistencia directamente desde muestras clínicas

La transición hacia un diagnóstico microbiológico libre de cultivo constituye la frontera más ambiciosa de la medicina de precisión, donde la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) permite la identificación simultánea de patógenos y sus perfiles de resistencia directamente desde fluidos biológicos (W. Zhao et al., 2025). Esta tecnología elude la latencia de 24 a 48 horas impuesta por el crecimiento biológico, permitiendo una caracterización del resistoma funcional en una ventana temporal compatible con la estabilización del paciente en choque séptico (Y. Zhao et al., 2024). Fisiopatológicamente, el análisis directo captura el estado nativo de la comunidad microbiana, incluyendo especies no cultivables o bacterias en estado de latencia metabólica que a menudo son ignoradas por los métodos microbiológicos tradicionales (J. Zhao et al., 2025).

El proceso analítico de mNGS integra fases de depleción de ADN humano y enriquecimiento de ácidos nucleicos microbianos para superar el desafío biofísico que supone la baja carga bacteriana frente a la masiva contaminación por genoma del huésped (J. Zhao et al., 2024). Como señalan (Hasan et al., 2025), la sensibilidad de esta técnica permite detectar patógenos en muestras de líquido cefalorraquídeo o aspirados broncoalveolares con una precisión que iguala o supera a la PCR multiplex, con la ventaja añadida de proporcionar una visión no sesgada de todo el repertorio de genes de resistencia (ARGs). El uso de algoritmos bioinformáticos como Kraken 2 y bases de datos curadas como CARD (*Comprehensive Antibiotic Resistance Database*) facilita la identificación instantánea de variantes de betalactamasas o mutaciones en porinas a partir de lecturas metagenómicas crudas (M. Zhao et al., 2024).

Desde una perspectiva de fisiopatología celular, la identificación directa permite monitorizar la dinámica del resistoma intestinal en respuesta a la terapia antibiótica sistémica,

detectando la emergencia de resistencia colateral antes de que se manifieste clínicamente (S. Zhang et al., 2025). Investigaciones lideradas por (W. Zhao et al., 2025) han demostrado que mNGS puede identificar clones hipervirulentos de *Klebsiella pneumoniae* portadores de genes de sideróforos (*iuc*, *iro*) y carbapenemasas en menos de 6 horas a partir de hemocultivos positivos, facilitando una desescalada terapéutica dirigida de alta precisión (R. Wang et al., 2024). Sin embargo, el análisis crítico de la evidencia sugiere que la interpretación de estos datos requiere modelos de probabilidad estocástica que distingan entre la portación colonizante y la verdadera infección invasiva, integrando parámetros como el ratio de lecturas específicas (RPKM) con los signos inflamatorios del paciente.

6.3. Algoritmos de llamada de bases (basecalling) de alta fidelidad para detección de SNPs

La exactitud de la secuenciación por nanoporos ha dado paso a una radical defensa en cuanto a los algoritmos de basecalling de alta fidelidad, los cuales se apoyan en redes neuronales profundas (Deep Learning) que permiten deducir a partir de los cambios en la corriente eléctrica medida a través del poro las secuencias nucleotídicas con más del 99% de exactitud (Hasan et al., 2025), algo que cobra una especial importancia para la detección de los polimorfismos de nucleótido único (SNPs), que darán ochobya a la resistencia de múltiples familias de antibióticos, incluidas las fluoroquinolonas (mutaciones en *gyrA/parC*) y las polimixinas (mutaciones en *mgrB/phoQ*) (Gauba & Rahman, 2023). Fisiopatológicamente, la posibilidad de ver una simple sustitución aminoacídica con resolución atómica determina la predicción de los cambios conformacionales en las dianas enzimáticas o en la permeabilidad de las porinas antes de realizar ensayos fenotípicos lentos (Esposito et al., 2025).

La metodología de basecalling contemporánea emplea arquitecturas de redes neuronales recurrentes (RNN) y redes neuronales convolucionales (CNN) que han sido entrenadas con conjuntos masivos de datos genómicos para reconocer patrones de señal complejos asociados a bases modificadas o regiones de alta densidad de GC (Hasan et al., 2025). Como lo explican (Y. Wang et al., 2025), la implementación de modelos "Super Accurate" (SUP) ha reducido drásticamente la tasa de error característica de los nanoporos, permitiendo una detección de variantes de baja frecuencia que es esencial para identificar fenómenos de heterorresistencia o evolución intra-huésped durante tratamientos prolongados (Jia et al., 2024). En la práctica clínica, esta precisión analítica facilita la construcción de clusters de SNPs con una distancia máxima de 50 nucleótidos, permitiendo confirmar brotes

nosocomiales con una resolución que anteriormente solo era posible mediante secuenciación de lectura corta.

La secuenciación adaptativa (Read Until) permite seleccionar, durante el proceso de secuenciación, las moléculas de ADN que contienen regiones de interés, mediante algoritmos que determinan si una lectura debe continuar o ser descartada (Hasan et al., 2025). Esta estrategia puede favorecer el enriquecimiento de genes asociados con la resistencia antimicrobiana y factores de virulencia en muestras clínicas complejas, con un uso más eficiente de los datos generados. En este contexto, el resistoma funcional comprende el conjunto de genes y mecanismos que permiten a una comunidad bacteriana resistir la acción de los antimicrobianos, cuya detección contribuye a caracterizar el perfil de resistencia. El diagnóstico molecular sin cultivo puede reducir el tiempo necesario para obtener información sobre estos determinantes y facilitar una respuesta terapéutica más temprana. Sin embargo, presenta limitaciones relacionadas con la calidad de la muestra, la interpretación de genes de resistencia y la dificultad para establecer si un determinante detectado se expresa y produce un fenotipo resistente. Por ello, estas herramientas deben considerarse complementarias a los métodos microbiológicos convencionales (Bilal et al., 2025).

6.4. Diferenciación entre ADN libre, ADN de células muertas y ADN de patógenos viables

Uno de los dilemas diagnósticos más críticos en la aplicación de las tecnologías genómicas a las enfermedades infecciosas es el fenómeno de la "necromasa", donde la detección de ácidos nucleicos no garantiza la presencia de microorganismos con capacidad de replicación activa (W. Zhao et al., 2025). Fisiopatológicamente, el ADN bacteriano puede persistir en el compartimento sistémico bajo tres formas distintas, como ADN libre (cell-free DNA, cfDNA) liberado tras la lisis celular, como ADN confinado en bacterias con la membrana dañada irreversiblemente, o como ADN dentro de patógenos viables y metabólicamente funcionales (W. Zhao et al., 2025). La diferenciación entre estos estados es esencial para evitar la sobreestimación de la carga bacteriana y para evaluar con precisión la respuesta biológica al tratamiento antibiótico (Peri et al., 2024).

La discriminación analítica se sustenta en el uso de agentes intercalantes de ADN, como el monoazida de propidio (PMA) o el monoazida de etidio (EMA), los cuales poseen una permeabilidad selectiva; estas moléculas solo penetran a través de membranas celulares comprometidas, donde se unen de manera irreversible al ADN y bloquean su amplificación o

secuenciación posterior. De manera complementaria, la metatranscriptómica (RNA-seq) emerge como la herramienta definitiva de viabilidad, ya que la detección de ARNm de corta vida media, como los transcritos de genes esenciales (*housekeeping*) o de respuesta al estrés, es un indicador inequívoco de actividad metabólica bacteriana *in situ*. Como señalan (W. Zhao et al., 2025), la secuenciación de cfDNA a partir de una "biopsia líquida" de plasma permite identificar patógenos en infecciones profundas o de difícil acceso (como endocarditis o abscesos), proporcionando una señal diagnóstica que refleja el daño celular provocado por el patógeno al sistema circulatorio.

La relevancia clínica de esta diferenciación es absoluta para el éxito de los programas de administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship) (Bilal et al., 2025). Al cuantificar exclusivamente la carga de patógenos viables mediante la integración de mNGS y marcadores de integridad de membrana, los clínicos pueden distinguir entre una infección activa que requiere escalada terapéutica y la mera detección de restos genómicos post-tratamiento (Peri et al., 2024). Hacia el futuro, el desarrollo de dispositivos microfluídicos que realicen de manera automatizada el pre-tratamiento con agentes de viabilidad antes de la secuenciación de nanoporos permitirá llevar este análisis funcional al punto de atención del paciente (Point-of-Care), asegurando que la vigilancia de la Resistómica Estructural sea una herramienta dinámica y veraz para contener la progresión de la multirresistencia en la era post-antibiótica (Elbehiry et al., 2025).

6.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La inclusión del diagnóstico molecular directo en la práctica clínica exige una armonización entre el progreso de los métodos y la necesidad de derivar procedimientos estandarizados y criterios de interpretación homogéneos (W. Zhao et al., 2025). Una limitación importante corresponde al valor predictivo de los genes de resistencia detectados por medio de secuenciación metagenómica (mNGS), ya que la identificación de un determinante genético no implica que se manifieste el fenotipo resistente. Esta conexión puede depender de factores como: la estabilidad de los plásmidos, la regulación de las bombas de eflujo y el número de copias de los genes (Jia et al., 2024). Por este motivo, la integración de datos genómicos, transcriptómicos y proteómicos mediante modelos de inteligencia artificial podría ser una buena opción para mejorar la predicción del comportamiento fenotípico y la respuesta a los antimicrobianos. Sin embargo, estos modelos requieren validación clínica, estandarización de

datos y evaluación de forma independiente antes de entrar en la utilización rutinaria del diagnóstico (Bilal et al., 2025).

Otro área de debate crítico es el impacto del enfoque "One Health" sobre la vigilancia del resistoma dinámico (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre reservorios ambientales y patógenos humanos, la contribución exacta de la necromasa ambiental a la diseminación de la resistencia hospitalaria sigue siendo difícil de cuantificar sin una estandarización de los protocolos de viabilidad. El análisis crítico de la evidencia sugiere que el futuro del diagnóstico rápido no dependerá de una sola tecnología, sino de la fusión de secuenciación de nanoporos con sensores bioquímicos en tiempo real, capaces de monitorizar la actividad enzimática y genómica de manera simultánea (W. Zhao et al., 2025).

Las perspectivas de desarrollo se orientan hacia una mayor accesibilidad de la genómica de precisión mediante secuenciadores portátiles de bajo coste y plataformas de análisis en la nube capaces de automatizar la identificación de bases y variantes genéticas (Y. Li et al., 2024). Asimismo, los gemelos digitales aplicados a la administración de antimicrobianos podrían integrar información genómica del paciente con variables clínicas para apoyar la selección y ajuste individualizado del tratamiento, aunque su aplicación requiere validación clínica y estandarización de los datos (Bilal et al., 2025). Estas herramientas pueden contribuir a mejorar la vigilancia de la resistencia antimicrobiana y optimizar las decisiones terapéuticas. La Resistómica Estructural, mediante la integración de información genómica y epidemiológica, constituye una estrategia complementaria para caracterizar la evolución y dispersión de los mecanismos de resistencia bacteriana. (Elbehiry et al., 2025).

6.6. Uso de la secuenciación de nanoporos para la vigilancia filogenómica en tiempo real

La vigilancia epidemiológica contemporánea ha trascendido la era de la observación retrospectiva para consolidarse en un modelo de inteligencia genómica proactiva, donde la tecnología de secuenciación por nanoporos (ONT) actúa como el eje de la monitorización en tiempo real (Hasan et al., 2025). Esta plataforma, ejemplificada por dispositivos portátiles como el MinION, fundamenta su operatividad en la detección de perturbaciones electroquímicas generadas cuando hebras individuales de ácidos nucleicos atraviesan poros proteicos embebidos en una membrana sintética (Hasan et al., 2025). Fisiopatológicamente, la capacidad de obtener lecturas de gran longitud (long-reads) en milisegundos permite resolver

la arquitectura de regiones genómicas altamente repetitivas y elementos genéticos móviles que las tecnologías de lectura corta suelen colapsar, facilitando una reconstrucción fidedigna del flujo de genes de resistencia en nichos clínicos críticos (Hala et al., 2024).

Como señalan (Hasan et al., 2025), la vigilancia filogenómica mediante nanoporos permite una caracterización de cepas en tránsito, identificando brotes nosocomiales antes de que la cadena de transmisión alcance niveles epidémicos. La integración de algoritmos de análisis filogenético dinámico facilita la construcción de clusters de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) con una resolución quirúrgica, permitiendo distinguir entre la reactivación de un reservorio ambiental y el ingreso de un nuevo clon hipervirulento a la unidad de cuidados intensivos (Hala et al., 2024). En el contexto del enfoque "One Health", esta vigilancia en tiempo real se extiende a la interfaz humano-animal-ambiente, mapeando la diseminación de plásmidos portadores de metalo-betalactamasas tipo NDM desde aguas residuales hasta el resistoma del paciente, una capacidad analítica indispensable para contener la progresión de la multirresistencia global (Elbehiry et al., 2025).

Desde una perspectiva técnica avanzada, la secuenciación adaptativa o "Read Until" representa el pináculo de la eficiencia en nanoporos; este software analiza la señal eléctrica del ADN mientras atraviesa el poro y decide, basándose en modelos de probabilidad estocástica, si la secuencia corresponde a una diana de interés (como un gen *blaKPC*) o si debe ser rechazada para optimizar el rendimiento del flujo de datos (Hasan et al., 2025). Esta capacidad de enriquecimiento computacional permite al laboratorio clínico centrar sus recursos en la detección de marcadores de resistencia específicos directamente desde la muestra biológica, eliminando la necesidad de cultivos previos y reduciendo el tiempo de respuesta diagnóstica a una ventana temporal compatible con la supervivencia en sepsis (Hattab et al., 2024). En última instancia, la vigilancia filogenómica en tiempo real convierte al diagnóstico molecular en un sensor dinámico de la evolución bacteriana, asegurando que las políticas de administración de antimicrobianos (ASP) se ajusten a la realidad genómica cambiante del entorno hospitalario.

6.7. Detección de mutaciones raras en genes de ARN ribosómico (resistencia a oxazolidinonas)

La farmacodinámica de las oxazolidinonas, con el linezolid como máximo exponente, se basa en la interrupción de la síntesis proteica mediante su unión al sitio A de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, impidiendo la formación del complejo de iniciación 70S (Elshobary et al., 2025). La fisiopatología de la resistencia a estos agentes en patógenos Gram

positivos, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Enterococcus* spp., es un fenómeno molecular complejo que suele involucrar mutaciones raras en el dominio V del ARN ribosómico 23S (Jia et al., 2024). Debido a la naturaleza multicopia de los genes del ARNr en el genoma bacteriano, estas mutaciones suelen presentarse con un perfil de heterocigosidad genómica, donde solo una fracción de los operones porta el SNP resistente, lo que dificulta su detección mediante métodos de secuenciación de lectura corta que promedian la señal poblacional (Hala et al., 2024).

La secuenciación de nanoporos ha revolucionado este campo al permitir la caracterización de operones ribosómicos completos en una sola hebra continua, facilitando la identificación de sustituciones críticas como la G2576T con una precisión absoluta (Hasan et al., 2025). Esta capacidad diagnóstica se complementa con algoritmos de basecalling de alta fidelidad entrenados con redes neuronales profundas que pueden discernir cambios sutiles en la corriente iónica asociados a nucleótidos modificados o metilaciones aberrantes (Bilal et al., 2025). Como señalan (Hasan et al., 2025), la detección molecular directa de estas mutaciones es vital para la clínica, ya que la resistencia al linezolid suele coexistir con la multirresistencia mediada por el gen plasmídico *cfr*, el cual codifica una metiltransferasa que modifica el residuo A2503 del ARNr 23S, confiriendo un fenotipo de resistencia cruzada a fenixoles, lincosamidas y estreptograminas A (Elshobary et al., 2025).

La relevancia de monitorizar estas mutaciones raras mediante nanoporos radica en la prevención del fracaso terapéutico en infecciones graves por patógenos ESKAPE (Bilal et al., 2025). El análisis del plasmidoma y el resistoma estructural permite determinar si la resistencia es de origen mutacional cromosómico o si está siendo diseminada horizontalmente a través de plásmidos de amplio rango de hospederos (Hala et al., 2024). Al integrar estos perfiles genómicos con modelos de aprendizaje profundo, es posible predecir la probabilidad de que una cepa desarrolle resistencia estable bajo la presión selectiva del tratamiento, facilitando una intervención de precisión que evite la selección de subclones resistentes (Bilal et al., 2025). En conclusión, la tecnología de nanoporos constituye la herramienta definitiva para la detección de la heterorresistencia ribosómica, asegurando que el diagnóstico molecular capture la totalidad de la diversidad genómica que condiciona la respuesta clínica al tratamiento con oxazolidinonas.

6.8. Metagenómica clínica aplicada al diagnóstico de infecciones polimicrobianas

El diagnóstico de infecciones polimicrobianas representa uno de los mayores desafíos para la microbiología convencional, donde la competencia metabólica en medios de cultivo suele favorecer el crecimiento de patógenos dominantes, enmascarando especies minoritarias o exigentes que pueden tener un papel crítico en la fisiopatología del cuadro infeccioso (W. Zhao et al., 2025). La metagenómica clínica de nueva generación (mNGS) surge como un paradigma agnóstico que permite la identificación exhaustiva de todo el espectro taxonómico directamente desde muestras clínicas, tales como lavados broncoalveolares, líquido cefalorraquídeo o aspirados de necrosis pancreática (W. Zhao et al., 2025). Esta tecnología fundamenta su éxito en la capacidad de secuenciar millones de fragmentos de ADN y ARN de manera simultánea, capturando el estado nativo de la comunidad microbiana y proporcionando una visión holística del resistoma funcional.

Fisiopatológicamente, la aplicación de mNGS al diagnóstico polimicrobiano requiere superar la barrera biofísica de la contaminación masiva por ADN humano, el cual puede constituir más del 99% de las lecturas en fluidos estériles (W. Zhao et al., 2025). Los protocolos actuales integran métodos de depleción de ADN del huésped mediante lisis diferencial o agentes quelantes, permitiendo un enriquecimiento selectivo de los ácidos nucleicos microbianos que incrementa la sensibilidad diagnóstica para patógenos de baja biomasa (W. Zhao et al., 2025). Como bien argumentan (W. Zhao et al., 2025), la mNGS no solo identifica la presencia de múltiples bacterias, sino que permite cuantificar su abundancia relativa mediante el ratio de lecturas por kilobase por millón (RPKM), facilitando la distinción entre colonización comensal y una verdadera sinergia infecciosa que requiera terapia combinada (W. Zhao et al., 2025).

La relevancia clínica de esta aproximación es absoluta en infecciones complejas, como las asociadas a dispositivos médicos o abscesos profundos, donde la coexistencia de bacterias anaerobias y aerobias multirresistentes complica el manejo empírico (W. Zhao et al., 2025). La mNGS, al proporcionar un perfil de resistencia integral para cada especie detectada en menos de 24 horas, invalida el retraso de 48 a 72 horas inherente al aislamiento por subcultivos (Hattab et al., 2024). Además, investigaciones lideradas por (Y. Wang et al., 2025) han demostrado que mNGS puede detectar la presencia simultánea de carbapenemasas tipo OXA-48 y metalo-betalactamasas NDM en aislados polimicrobianos, guiando el uso de inhibidores de nueva generación o combinaciones de "última trinchera" con una precisión que los métodos convencionales no pueden igualar (Bilal et al., 2025). Hacia el futuro, la integración de la

metatranscriptómica permitirá evaluar la actividad metabólica real de cada patógeno en el sitio de infección, transformando la mNGS de una herramienta de identificación en una plataforma de monitorización funcional de la virulencia y la resistencia *in vivo*.

6.9. Validación de la secuenciación rápida frente a las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos

La validación analítica de la secuenciación rápida mediante nanoporos constituye un hito fundamental para su transición desde la investigación genómica hacia el estándar de cuidado en microbiología diagnóstica, donde debe competir en sensibilidad y especificidad con las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAATs), como la PCR multiplex (W. Zhao et al., 2025). Mientras que las NAATs son el estándar de oro por su rapidez y bajo límite de detección, presentan la limitación intrínseca de ser métodos "cerrados" o dirigidos, capaces de identificar únicamente aquellos patógenos y genes de resistencia para los cuales se han diseñado cebadores específicos (W. Zhao et al., 2025). En contraste, la secuenciación de nanoporos ofrece un horizonte diagnóstico "abierto" u agnóstico, permitiendo la captura de determinantes de resistencia emergentes o variantes alélicas que escapan a la hibridación de las sondas de PCR convencionales (Tamami Tualombo et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la validación de estas tecnologías se fundamenta en estudios de concordancia clínica que comparan el tiempo hacia la terapia dirigida y los desenlaces del paciente (Peri et al., 2024). Investigaciones lideradas por (W. Zhao et al., 2025) han demostrado que la secuenciación metagenómica directa puede detectar patógenos en el 100% de los casos de meningitis infecciosa confirmada por PCR, con la ventaja añadida de identificar coinfecciones virales o fúngicas en un solo ensayo (W. Zhao et al., 2025). Asimismo, la secuenciación rápida permite la detección de mutaciones estructurales en porinas y la cuantificación del número de copias génicas, factores críticos para la resistencia a carbapenémicos que la PCR cualitativa no puede evaluar de manera fiable (W. Wu et al., 2024). Como señalan (Bilal et al., 2025), esta riqueza de datos genómicos compensa con creces el mayor coste operativo inicial de la secuenciación frente a la PCR, al proporcionar una base científica robusta para la administración personalizada de antibióticos de último recurso.

La relevancia clínica de esta validación reside en la capacidad de la secuenciación rápida para actuar como una "red de seguridad" diagnóstica en pacientes con cultivos negativos o respuestas atípicas al tratamiento empírico. El uso de nanoporos directamente desde hemocultivos positivos ha validado identificaciones de especie en menos de 60 minutos,

igualando la velocidad de la PCR comercial pero proporcionando el genoma completo del patógeno para una vigilancia filogenómica exhaustiva (W. Zhao et al., 2025). En conclusión, la transición de las NAATs hacia la secuenciación rápida es una metamorfosis ineludible para la medicina moderna, donde la Resistómica Estructural se consolida como el pilar fundamental para el control de la crisis de resistencia antimicrobiana, asegurando que la innovación diagnóstica supere la velocidad de la evolución bacteriana en el nicho clínico.

6.10. Integración de la bioinformática en el borde (edge computing) para laboratorios periféricos

La descentralización del diagnóstico genómico avanzado representa un pilar estratégico en la contención de la multirresistencia, donde la integración de la bioinformática en el borde (edge computing) permite que el análisis de datos masivos se ejecute en el punto mismo de generación de la señal, eliminando la dependencia de infraestructuras de computación en la nube de alta latencia (Hasan et al., 2025). En el contexto de la secuenciación por nanoporos, esta arquitectura computacional se materializa mediante el uso de unidades de procesamiento gráfico (GPU) integradas directamente en los dispositivos de secuenciación, como el GridION o el PromethION, que realizan la llamada de bases (basecalling) de alta fidelidad en tiempo real (Hasan et al., 2025). Fisiopatológicamente, esta capacidad analítica inmediata es vital para capturar la dinámica evolutiva de patógenos ESKAPE, permitiendo identificar variantes de resistencia estructural y plásmidos hipervirulentos mientras la hebra de ADN aún atraviesa el poro proteico (Hala et al., 2024).

El mecanismo molecular que sustenta esta integración es la secuenciación adaptativa o "Read Until", una tecnología que faculta al software de bioinformática en el borde para analizar los cambios en la corriente iónica en milisegundos y decidir estocásticamente si una lectura debe continuar o ser rechazada (Hasan et al., 2025). Como bien explican (Y. Wang , et al., 2025), esta capacidad de enriquecimiento computacional permite al laboratorio periférico centrar su capacidad de procesamiento en regiones genómicas de alto interés clínico, tales como los operones de bombas de eflujo de la familia RND o los genes codificantes de metalo-betalactamasas tipo NDM, ignorando de manera proactiva el ADN contaminante del huésped o de la microbiota comensal (W. Wu et al., 2024). La relevancia clínica de este enfoque en entornos de recursos limitados es absoluta, ya que democratiza el acceso a la Resistómica Estructural al reducir drásticamente los costes de almacenamiento de datos y los tiempos de

respuesta diagnóstica, permitiendo una intervención de precisión en hospitales rurales o centros de vigilancia centinela (Tamami et al., 2025).

Desde la perspectiva de la ingeniería de datos, la bioinformática en el borde utiliza algoritmos de redes neuronales convolucionales (CNN) y modelos ocultos de Markov para traducir las fluctuaciones eléctricas complejas en secuencias nucleotídicas con una precisión que iguala a las tecnologías de lectura corta (Hasan et al., 2025). Esta precisión es fundamental para la detección de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en genes críticos como *mgrB* o *phoQ*, responsables de la resistencia a colistina, cuya identificación temprana previene el fracaso terapéutico (Gauba y Rahman, 2023). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de estos flujos de trabajo con modelos de aprendizaje profundo permite generar informes diagnósticos interpretables por el clínico en menos de dos horas, transformando el laboratorio de microbiología en una unidad de inteligencia genómica reactiva en tiempo real.

6.11. Protocolos de preparación de librerías ultra-rápidos para entornos de cuidados críticos

La gestión de la sepsis en unidades de cuidados intensivos se rige por la "hora de oro", donde la velocidad de inicio de la terapia dirigida determina de manera determinante la supervivencia del paciente; en este escenario, el desarrollo de protocolos de preparación de librerías ultra-rápidos para secuenciación de nanoporos constituye la innovación más disruptiva de la microbiología molecular contemporánea (Hattab et al., 2024). A diferencia de los métodos de preparación convencionales que requieren múltiples etapas de purificación y ligación enzimática, los protocolos ultra-rápidos utilizan una química basada en transposasas que permite la fragmentación y el barcoding del ADN en un solo paso de incubación de 10 minutos (W. Zhao et al., 2025). Fisiopatológicamente, esta aceleración bioquímica captura el resistoma funcional activo, permitiendo la detección de determinantes de resistencia directamente desde muestras clínicas polimicrobianas con una biomasa mínima (W. Zhao et al., 2025).

El éxito de estos protocolos en cuidados críticos depende críticamente de la depleción eficiente del ADN humano, el cual actúa como un ruido biofísico masivo que puede saturar los poros de secuenciación (W. Zhao et al., 2025). Las técnicas actuales integran fases de lisis diferencial y digestión enzimática selectiva que eliminan hasta el 99% del genoma del huésped en menos de 30 minutos, incrementando la sensibilidad diagnóstica para patógenos de baja carga bacteriana en fluidos estériles como el líquido cefalorraquídeo o el plasma (W. Zhao

et al., 2025). Como señalan (Hasan et al., 2025), el uso de estas librerías directamente desde hemocultivos positivos ha validado la identificación de especie y el perfil de carbapenemasas en menos de 60 minutos, igualando la velocidad de la PCR multiplex pero proporcionando la arquitectura completa del plásmido y su contexto genómico (Hala et al., 2024).

La traslación clínica de la preparación ultra-rápida se ve potenciada por la automatización de la extracción de ácidos nucleicos mediante dispositivos microfluídicos de cartucho cerrado, los cuales minimizan el error humano y estandarizan el inóculo celular (Ardila et al., 2023). Esta sinergia tecnológica permite que el equipo de administración de antimicrobianos (ASP) inicie regímenes personalizados de antibióticos de "última trinchera", como ceftazidima-avibactam, antes de que se produzca el daño orgánico irreversible mediado por toxinas bacterianas (Bilal et al., 2025). En conclusión, los protocolos de preparación rápida representan el núcleo operativo de la medicina de precisión genómica, asegurando que el flujo de información desde la muestra hasta la cama del paciente sea lo suficientemente ágil para contrarrestar la velocidad de duplicación bacteriana en el nicho infeccioso.

6.12. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Estructural se define por la tensión entre la explosión de capacidades tecnológicas de secuenciación directa y la persistente incertidumbre en la predicción universal de los desenlaces fenotípicos (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la interpretación clínica de los genes de resistencia de baja abundancia detectados mediante metagenómica clínica (mNGS); si bien la secuenciación identifica la presencia del determinante, no siempre es posible predecir si este se traducirá en un fracaso terapéutico in vivo debido a factores como el ruido transcripcional, la estabilidad del plásmido o el coste de fitness celular (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan Bilal et al.,(2025), la brecha entre genotipo y fenotipo exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos de secuenciación con perfiles proteómicos de espectrometría de masas y parámetros farmacocinéticos del paciente para predecir el éxito clínico con precisión estocástica (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales en la dinámica de transmisión nosocomial bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la magnitud de la contribución de la necromasa ambiental a la mortalidad global sigue siendo objeto de

modelado estocástico (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la contaminación ambiental actúa como un "incubador evolutivo" donde la co-selección por metales pesados pre-adapta a las bacterias para sobrevivir a antibióticos de último recurso, facilitando su posterior infiltración en el huésped humano (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en el desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, alimentados por flujos masivos de datos cinéticos y genómicos obtenidos en la "hora de oro" del diagnóstico (Bilal et al., 2025). Asimismo, la implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma bacteriano y el uso de adyuvantes inhibidores de eflujo que actúen sobre la bioenergética de la membrana representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia requiere una metamorfosis del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la viabilidad de los tratamientos médicos para las generaciones futuras.

SECCIÓN III: APLICACIONES CLÍNICAS: OPTIMIZACIÓN TERAPÉUTICA EN PATÓGENOS MDRO Y VIGILANCIA DE BROTES NOSOCOMIALES

Capítulo 7:

Patógenos ESKAPE y Estrategias de Tratamiento Basadas en el Resistoma

7.1. Manejo de *Acinetobacter baumannii* multirresistente

La terapéutica contemporánea contra *Acinetobacter baumannii* con fenotipo de resistencia extrema (XDR) ha trascendido el uso empírico de monoterapias para adentrarse en la ingeniería de regímenes sinérgicos basados en la arquitectura molecular del resistoma (Elshobary et al., 2025). Este cocobacilo Gram negativo representa un paradigma de la evasión farmacológica, fundamentada en una orquestación estocástica de mecanismos donde la producción de carbapenemasas de clase D, específicamente las variantes del gen blaOXA-24/40 y blaOXA-23, actúa como el determinante catalítico primario (Luna-De-Alba et al., 2024). Fisiopatológicamente, la supervivencia de *A. baumannii* en el nicho pulmonar y sistémico no depende exclusivamente de la hidrólisis enzimática, sino de una restricción crítica en el influjo mediada por la subexpresión de porinas de la membrana externa como CarO, OmpA y Omp33-36, las cuales son responsables del transporte selectivo de carbapenémicos (Luna et al., 2024). Investigaciones lideradas por (Luna-De-Alba et al., 2024) han documentado que hasta el 76% de los aislados clínicos presentan una reducción significativa en la transcripción de estas proteínas de canal, lo que eleva drásticamente la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) basal y satura la eficacia de la terapia convencional.

La optimización del manejo clínico de *A. baumannii* multirresistente exige una interpretación crítica de las interacciones farmacodinámicas in vitro frente a los desenlaces in vivo (Elshobary et al., 2025). Existe una discrepancia metodológica documentada entre los ensayos de tablero de ajedrez (checkerboard) y las curvas de muerte por tiempo (time-to-kill); mientras que la técnica de checkerboard suele reportar sinergia en combinaciones de levofloxacina con ampicilina/sulbactam o meropenem con colistina, estos hallazgos no siempre se traducen en una erradicación bacteriana bactericida sostenida en modelos dinámicos. Como bien argumentan (Luna et al., 2024), esta falta de correlación sugiere que la heterorresistencia poblacional y la hiperactividad de las bombas de eflujo, tales como los sistemas AdeABC, AdeFGH y AdeIJK, generan subpoblaciones persistentes que eluden el efecto sinérgico inicial (Korczak et al., 2024). La relevancia clínica de estas bombas es absoluta, ya que su

sobreexpresión, detectada mediante cuantificación por RT-qPCR, correlaciona con un fracaso terapéutico incluso ante regímenes de dosis altas de colistina o tigeciclina (Jaiswal et al., 2022).

Desde una perspectiva de fisiopatología celular, la resistencia a polimixinas en *A. baumannii* constituye la frontera final de la multirresistencia, mediada habitualmente por mutaciones en los sistemas de dos componentes PmrA/PmrB que orquestan la modificación del Lípido A (Gauba & Rahman, 2023). Ante la saturación de las opciones de "última trinchera", el uso de nuevos sideróforos-cefalosporinas como el cefiderocol surge como una estrategia disruptiva que aprovecha los sistemas de adquisición de hierro bacterianos para "inyectar" el antibiótico en el espacio periplasmático, eludiendo la barrera de las porinas deficientes (Elbehiry et al., 2025). Como señalan (Bilal et al., 2025), la integración de algoritmos de aprendizaje profundo aplicados a la secuenciación de genoma completo (WGS) permite predecir la eficacia de estas combinaciones complejas antes de que se produzca la falla multiorgánica en el paciente crítico, permitiendo una transición desde la terapia combinada estándar hacia una Resistómica de Precisión.

7.2. Optimización de dosis en *Pseudomonas aeruginosa* según el perfil de porinas

La gestión terapéutica de las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* DTR (Difficult-to-Treat Resistance) se fundamenta en la comprensión de su extraordinaria impermeabilidad intrínseca, cuya membrana externa presenta una permeabilidad aproximadamente 100 veces inferior a la de *Escherichia coli*. La fisiopatología de la resistencia en este patógeno es un proceso dinámico de reprogramación metabólica donde la pérdida de la porina mayoritaria OprD constituye el principal determinante de la resistencia. A diferencia de otros mecanismos, la expresión de *oprD* no es estática; está regulada por una red intrincada que responde a señales ambientales como el estrés oxidativo y la presencia de metales divalentes (W. Wu et al., 2024). Como bien explican (W. Wu et al., 2024), la exposición a iones como el zinc (Zn^{2+}) o el cobre (Cu^{2+}) activa los sistemas de dos componentes CzcS/CzcR y CopS/CopR, los cuales reprimen directamente el promotor de *oprD*, induciendo un fenotipo de resistencia adaptativa que puede revertirse o amplificarse según las condiciones del nicho infeccioso.

La optimización de la dosificación antibacteriana en *P. aeruginosa* requiere un ajuste fino de los parámetros de farmacocinética y farmacodinámica (PK/PD) basado en el perfil transcripcional de la envoltura celular (W. Wu et al., 2024). El éxito de los betalactámicos depende críticamente del tiempo de exposición por encima de la CMI ($fT > CMI$), pero este valor se ve distorsionado por la interacción sinérgica entre la deficiencia de OprD y la

hiperactividad de las bombas de eflujo de la familia RND, como el complejo MexAB-OprM (W. Wu et al., 2024). La sobreexpresión de MexAB, a menudo secundaria a mutaciones en el regulador negativo MexR o NalD, reduce de manera efectiva la concentración de antibiótico en el periplasma, lo que exige el uso de infusiones prolongadas o continuas de carbapenémicos para saturar la capacidad de extrusión bacteriana (W. Wu et al., 2024). Como señalan (Bilal et al., 2025), el empleo de gemelos digitales (Digital Twins) que integren los niveles de expresión proteómica de OprD cuantificados por espectrometría de masas (LC-MS/MS) con modelos farmacocinéticos del paciente permite personalizar la dosis con una precisión que los métodos convencionales no pueden alcanzar (Bilal et al., 2025).

Desde el prisma de la medicina de precisión, la vigilancia de la mecanotransducción de la membrana en *P. aeruginosa* revela nuevas dianas para la optimización terapéutica (W. Wu et al., 2024). El sistema de dos componentes PhoP/PhoQ actúa como un sensor maestro de la integridad de la membrana; ante la detección de limitación de magnesio o daño por polimixinas, PhoPQ activa la expresión de la porina OprH, la cual estabiliza la membrana externa contra la penetración de agentes catiónicos (W. Wu et al., 2024). La relevancia clínica de este mecanismo reside en que la inducción de OprH confiere resistencia cruzada a polimixinas y aminoglucósidos (W. Wu et al., 2024). Hacia el futuro, el uso de adyuvantes como la piperina o nanopartículas metálicas que interfieran específicamente con el regulador MexR para inhibir la producción de bombas de eflujo promete restaurar la sensibilidad de los aislados DTR, permitiendo que las cefalosporinas de nueva generación alcancen sus dianas PBP incluso en cepas con perfiles de porinas altamente restrictivos.

7.3. Tratamiento de enterobacterias productoras de KPC y NDM

La emergencia de *Enterobacteriaceae* co-productoras de serino-betalactamasas de clase A (KPC) y metalo-betalactamasas de clase B (NDM) representa el desafío más agudo para la infectología crítica, invalidando la mayoría de los inhibidores de betalactamasas disponibles comercialmente (Elshobary et al., 2025). Fisiopatológicamente, el éxito evolutivo de la enzima NDM radica en su mecanismo de catálisis coordinada por zinc, el cual hidroliza eficientemente carbapenémicos y cefalosporinas de cuarta generación sin formar un intermediario acil-enzima covalente, lo que la hace estructuralmente inmune a la inhibición por avibactam o vaborbactam (Elshobary et al., 2025). En el nicho clínico, patógenos como el linaje hipervirulento ST11-KL64 o el emergente ST2096 de *Klebsiella pneumoniae* portan estos determinantes en plásmidos IncF de alta movilidad, facilitando una diseminación explosiva en entornos

hospitalarios bajo la presión selectiva de antimicrobianos de amplio espectro (Hala et al., 2024).

El manejo clínico ante el reto de las metaloenzimas se sustenta en la estrategia de la "doble inhibición enzimática", donde la combinación de aztreonam con ceftazidima-avibactam emerge como el estándar terapéutico de facto. Esta sinergia molecular se basa en que el aztreonam es el único betalactámico que permanece estable ante la hidrólisis por metalo-betalactamasas, pero requiere el "blindaje" del avibactam para neutralizar las serino-betalactamasas (como KPC o ESBL) que suelen coexistir en el mismo aislado (Elshobary et al., 2025). Como bien argumentan (Tamami Tualombo et al., 2025), la rapidez diagnóstica es el factor determinante de la supervivencia; el uso de métodos rápidos como el eCIM (quelación de zinc por EDTA) o la espectrometría de masas MALDI-TOF para identificar picos de hidrólisis de carbapenémicos en menos de 60 minutos permite iniciar esta terapia dirigida antes de que se establezca un estado de choque séptico irreversible.

La relevancia de monitorizar el interactoma enzimático y la dosificación génica es vital para evitar el escape evolutivo de estos "superclones". Investigaciones lideradas por (Hala et al., 2024) mediante secuenciación de lectura larga (ONT) han revelado que la persistencia de *K. pneumoniae* multirresistente está vinculada a la formación de islas de resistencia donde coexisten genes *blaNDM-5*, *mcr-1* y *blaKPC-2* en un solo plásmido híbrido (Hala et al., 2024). Esta arquitectura genómica asegura que la bacteria mantenga una densidad enzimática crítica en el periplasma, incluso bajo condiciones de bajo coste adaptativo (Gauba y Rahman, 2023). En conclusión, el tratamiento de enterobacterias productoras de metaloenzimas exige una metamorfosis desde el diagnóstico cualitativo hacia la cuantificación genómica y proteómica funcional, permitiendo que la elección del antimicrobiano sea guiada por la realidad bioquímica del resistoma del paciente, con el fin de salvaguardar la eficacia de la medicina moderna en la era post-antibiótica.

7.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La Resistómica Clínica enfrenta el desafío de relacionar los determinantes genéticos de resistencia con la respuesta terapéutica del paciente. La detección mediante secuenciación metagenómica (mNGS) de genes como *blaNDM* indica un potencial de resistencia, pero no permite determinar por sí sola su expresión ni la magnitud de su efecto clínico, debido a la influencia de factores como el número de copias génicas, la expresión de porinas y la actividad enzimática (Tamami et al., 2025). Esta diferencia entre genotipo y fenotipo limita la predicción

individual de la respuesta antimicrobiana. En este contexto, los modelos de inteligencia artificial multiómica pueden integrar información genómica, proteómica y clínica para mejorar la caracterización de los mecanismos de resistencia y apoyar la selección terapéutica (Bilal et al., 2025). Su aplicación clínica requiere validación prospectiva, estandarización de los datos y evaluación de su utilidad antes de una implementación generalizada.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales en la dinámica de brotes nosocomiales bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la contribución exacta de la contaminación ambiental por antibióticos a la mortalidad hospitalaria sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad complejos (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la contaminación ambiental actúa como un "laboratorio evolutivo" donde la co-selección pre-adapta a las bacterias para sobrevivir en el huésped humano, lo que subraya la urgencia de integrar la vigilancia genómica ambiental en los programas de control de infecciones (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la personalización de la terapia mediante el uso de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos y la aplicación de sistemas CRISPR-Cas para la edición in situ del resistoma poblacional (Bilal et al., 2025). El desarrollo de nanobióticos que interfieran con la fuerza motriz de protones y de péptidos antimicrobianos (AMPs) diseñados por inteligencia artificial promete superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una transformación radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución bacteriana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la supervivencia de las generaciones futuras.

7.5. Resistencia a ceftarolina y daptomicina en *Staphylococcus aureus* (MRSA)

La sofisticación evolutiva de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ha culminado en la emergencia de fenotipos capaces de eludir incluso a los agentes bactericidas de última generación, como la ceftarolina y la daptomicina, mediante una reprogramación estructural de su arquitectura celular (Elshobary et al., 2025). La fisiopatología de la resistencia a ceftarolina, una cefalosporina de quinta generación diseñada específicamente para inhibir a la proteína ligadora de penicilina 2a (PBP2a), se fundamenta en la acumulación de mutaciones

puntuales en el dominio de transpeptidación del gen *mecA* (Sultana et al., 2025). Como bien explican (Sultana et al., 2025), sustituciones aminoácidas críticas, como la variante N146K o E150K localizadas en el dominio no-penicilin-binding (nPBD), provocan un cambio conformacional que impide el acceso del fármaco al sitio alostérico, neutralizando la capacidad del antibiótico para inducir el cierre del sitio activo de la enzima (Elshobary et al., 2025). Esta alteración biofísica permite que la bacteria mantenga la síntesis del peptidoglicano incluso ante concentraciones sistémicas elevadas del fármaco, un fenómeno que requiere una vigilancia genómica estrecha mediante secuenciación de genoma completo (WGS) para identificar clones con potencial de escape (Bilal et al., 2025).

Paralelamente, la resistencia a la daptomicina representa un desafío biomecánico donde la bacteria altera la tensión superficial y la carga neta de su membrana citoplasmática para repeler la molécula lipopeptídica catiónica (W. Wu et al., 2024). Fisiopatológicamente, este proceso es orquestado por mutaciones de ganancia de función en el gen *mprF*, el cual codifica una enzima responsable de la lisinilación del fosfatidilglicerol (PG) (Elshobary et al., 2025). La sobreproducción de lisil-fosfatidilglicerol (L-PG) incrementa la densidad de carga positiva en la cara externa de la membrana, generando una repulsión electrostática que impide la inserción del complejo daptomicina-calcio, esencial para la formación de poros y el colapso del potencial de membrana. Esta remodelación se complementa frecuentemente con un incremento en el grosor de la pared celular, detectado mediante técnicas de microscopía electrónica y análisis de dispersión de luz, lo que actúa como una "trampa molecular" que secuestra al antibiótico antes de que alcance su diana (Esposito et al., 2025).

Clínicamente, la coexistencia de estos mecanismos de resistencia impone una mortalidad significativa en cuadros de bacteriemia y endocarditis infecciosa (Peri et al., 2024). Se ha documentado el fenómeno del "see-saw effect" (efecto balancín), donde la adquisición de resistencia a daptomicina se asocia paradójicamente con una restauración de la sensibilidad a los betalactámicos debido a cambios compensatorios en la fluidez de la membrana que alteran la funcionalidad de la PBP2a (Elshobary et al., 2025). La relevancia diagnóstica de capturar esta dinámica mediante tecnologías de fenotipado cinético, como la citometría de flujo multiespectral, es absoluta; estas herramientas permiten evaluar la viabilidad celular en tiempo real y cuantificar la despolarización de la membrana, facilitando la selección de terapias combinadas sinérgicas que aprovechen las vulnerabilidades estructurales del patógeno (Tamami et al., 2025).

7.6. Uso de nuevos inhibidores de betalactamasas basados en el perfil molecular del paciente

La transición desde la terapia empírica de amplio espectro hacia una Resistómica de Precisión se sustenta en la aplicación de inhibidores de betalactamasas de nueva generación, cuya selección debe estar guiada por la caracterización proteómica y genómica funcional del aislado clínico. Los nuevos agentes, como el avibactam, vaborbactam y relebactam, presentan mecanismos de acción divergentes que deben alinearse con la clase de Ambler predominante en el foco infeccioso (Tamami et al., 2025). El avibactam, un diazabicyclooctano (DBO), opera mediante una inhibición reversible que rescata la eficacia de las cefalosporinas frente a carbapenemasas de clase A (KPC) y clase D (OXA-48), mientras que el vaborbactam, basado en un núcleo de ácido borónico, mimetiza el estado de transición de la hidrólisis para neutralizar específicamente a las serino-betalactamasas (Elshobary et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la efectividad de estos inhibidores se ve comprometida por el fenómeno de la heterorresistencia, donde subpoblaciones minoritarias portadoras de mutaciones en el bucle omega (omega-loop) de las enzimas KPC, como la variante D179Y, reducen drásticamente la afinidad del avibactam (Elshobary et al., 2025). Para contrarrestar esta amenaza, el uso de la espectrometría de masas MALDI-TOF permite monitorizar la dinámica de la hidrólisis en menos de 60 minutos, detectando la desaparición del pico del antibiótico nativo y la emergencia de metabolitos degradados incluso en presencia del inhibidor (Tamami Tualombo et al., 2025). Esta técnica analítica proporciona una correlación instantánea entre la estructura proteica y el éxito terapéutico esperado, permitiendo al clínico ajustar el régimen de administración antes de que se consume el fracaso orgánico en el paciente crítico (Bilal et al., 2025).

La relevancia de integrar el perfil molecular del paciente radica en la capacidad de detectar co-producciones de enzimas de diferentes clases, un fenómeno frecuente en clones hipervirulentos de *Klebsiella pneumoniae* como el linaje ST11-KL64 (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). Ante un perfil que revele la coexistencia de una metalo-betalactamasa (clase B, como NDM) y una serino-carbapenemasa (clase A, como KPC), la única estrategia viable es la doble inhibición enzimática mediante la combinación de aztreonam con ceftazidima-avibactam (Elshobary et al., 2025). Esta decisión, fundamentada en la estabilidad intrínseca del aztreonam frente a las metaloenzimas y su blindaje por avibactam contra las serino-enzimas, debe ser validada mediante métodos rápidos como el eCIM o secuenciación metagenómica directa (mNGS) para asegurar una terapia dirigida de alta fidelidad (Tamami et al., 2025).

7.7. Terapia dirigida para enterococos resistentes a vancomicina (VRE)

La gestión terapéutica de las infecciones por *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis* con fenotipo VRE constituye uno de los pilares de la vigilancia nosocomial, dada la capacidad de estos patógenos para actuar como reservorios de genes de resistencia transferibles horizontalmente (Elshobary et al., 2025). La fisiopatología de la resistencia a vancomicina es un proceso bioquímico refinado orquestado por los operones *vanA* o *vanB*, los cuales reprograman la biosíntesis de la pared celular al sustituir el precursor terminal D-Alanil-D-Alanina (D-Ala-D-Ala) por D-Alanil-D-Lactato (D-Ala-D-Lac) (Elshobary et al., 2025). Esta modificación química reduce la afinidad de la vancomicina por su diana en 1,000 veces, invalidando la capacidad del glucopéptido para bloquear la polimerización del peptidoglicano y activando cascadas de autólisis controlada.

La implementación de tecnologías de cribado rápido, como el sistema WASPLab integrado con análisis de imágenes digitales en medios cromogénicos, ha revolucionado la detección de VRE al proporcionar resultados procesables en fracciones del tiempo convencional (Luna-De-Alba et al., 2024). Sin embargo, el diseño de una terapia dirigida requiere trascender la mera identificación de especie; el uso de secuenciación de lectura larga (ONT) permite reconstruir la arquitectura de los plásmidos de la familia Inc18, identificando la co-localización de genes *van* con determinantes de resistencia a linezolid (*optrA*, *cfr*) o daptomicina (Hala et al., 2024). Como bien señalan (Elshobary et al., 2025), la elección del tratamiento debe ser guiada por un fenotipado funcional que evalúe la eficacia de agentes alternativos como la tedizolida o la tigeciclina, monitorizando su impacto sobre la integridad de la membrana mediante citometría de flujo para prevenir la selección de clones con resistencia extrema (Elshobary et al., 2025).

Desde la perspectiva de la medicina de precisión, la vigilancia de VRE bajo el enfoque "One Health" revela que el intercambio de genes de resistencia entre el microbioma humano y reservorios ambientales, como aguas residuales hospitalarias, es un motor incesante de diseminación clonal (Elbehiry et al., 2025). El uso de herramientas de Análisis de Datos Topológicos (TDA) facilita el mapeo de estas rutas de transmisión no lineales, permitiendo identificar "puntos calientes" de transferencia horizontal antes de que se manifiesten brotes clínicos (Guerrero et al., 2025). En conclusión, la terapia dirigida para VRE exige un cambio de paradigma hacia la vigilancia genómica activa, donde la integración de datos multiómicos y modelos de aprendizaje profundo permita anticipar la trayectoria evolutiva del patógeno y salvaguardar la eficacia del limitado arsenal terapéutico disponible (Tamami et al., 2025).

7.8. Correlación entre el perfil de resistencia y el out-of-range farmacocinético

La eficacia clínica de los antimicrobianos está intrínsecamente ligada al cumplimiento de los objetivos de farmacocinética y farmacodinámica (PK/PD), donde la desviación hacia rangos sub-terapéuticos o tóxicos (out-of-range) constituye el principal motor de la falla terapéutica y de la selección de resistencia colateral (Bilal et al., 2025). La correlación molecular entre el resistoma y el comportamiento farmacocinético del paciente se fundamenta en que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) no es un valor estático, sino una propiedad dinámica influenciada por la fisiopatología de la envoltura celular (W. Wu et al., 2024). En patógenos Gram negativos, la hiperactividad de las bombas de eflujo de la familia RND y la subexpresión de porinas como OprD en *Pseudomonas aeruginosa* elevan el umbral de exposición necesario ($fT > CMI$), provocando que regímenes de dosificación estándar resulten ineficaces al caer en el rango de exposición subinhibitoria (W. Wu et al., 2024).

La detección del fenómeno *out-of-range* se ha potenciado mediante el desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, los cuales integran flujos masivos de datos cinéticos obtenidos por microfluídica con modelos de compartimentación estocástica del paciente (Esposito et al., 2025). Estos modelos permiten predecir el tiempo de exposición por encima de la CMI con una precisión quirúrgica, identificando situaciones donde la variabilidad inter-individual (como el aclaramiento renal aumentado en pacientes sépticos o el volumen de distribución alterado en neonatos) compromete el éxito bactericida (Boussios et al., 2023). Como bien argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de perfiles de RT-qPCR que cuantifiquen la carga transcripcional de genes como *blaOXA-23* permite ajustar la dosis basándose en la "potencia enzimática" real del aislado, minimizando el riesgo de toxicidad renal o pancreática asociada a antibióticos de último recurso como las polimixinas y la tigeciclina (Bilal et al., 2025).

Fisiopatológicamente, la exposición a concentraciones *out-of-range* induce el estado de latencia o persistencia bacteriana, mediado por la activación de sistemas de toxina-antitoxina que detienen el crecimiento celular para eludir la acción farmacológica (Elshobary et al., 2025). La monitorización de estos eventos mediante monitoreo terapéutico de fármacos (TDM) y citometría multiespectral permite detectar en tiempo real si el flujo de antibiótico hacia el sitio de infección es suficiente para saturar la maquinaria de eflujo y prevenir la formación de biopelículas maduras (Bilal et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una transformación del paradigma clínico hacia una farmacología de precisión basada en el resistoma, asegurando que cada intervención terapéutica se posicione

dentro del rango terapéutico óptimo para erradicar al patógeno y contener la progresión de la multirresistencia global (Tamami et al., 2025).

7.9. Abordaje terapéutico de infecciones por *Stenotrophomonas maltophilia*

La gestión clínica de las infecciones causadas por *Stenotrophomonas maltophilia* representa uno de los desafíos más complejos en la infectología contemporánea, dado que este bacilo Gram negativo no fermentador posee un resistoma intrínseco extraordinariamente robusto que invalida gran parte del arsenal antibiótico convencional (Tamami et al., 2025). La fisiopatología de su resistencia es multidimensional y se fundamenta en la producción de dos betalactamasas cromosómicas, la enzima L1, una metalo-betalactamasa de clase B de Ambler que hidroliza prácticamente todos los carbapenémicos, y la enzima L2, una serino-cefalosporinasa de clase A que neutraliza las cefalosporinas de amplio espectro (Tamami Tualombo et al., 2025). Esta dualidad enzimática se complementa con una impermeabilidad de membrana intrínseca y la actividad incesante de las bombas de eflujo de la familia RND, particularmente el sistema SmeABC (Elshobary et al., 2025).

Desde una perspectiva de regulación molecular, investigaciones lideradas por (Z. Li et al., 2024) han demostrado que la expresión del operón *smeABC* está gobernada por el sistema de dos componentes SmeS/SmeR, donde SmeS actúa como el sensor transmembrana de agresiones químicas y SmeR como el regulador transcripcional que activa la síntesis de la bomba (W. Wu et al., 2024). Fisiopatológicamente, la hiperactividad de este sistema reduce drásticamente la acumulación intracelular de agentes como las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos, elevando las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) hacia rangos de resistencia clínica (Jaiswal et al., 2022). La relevancia clínica de este patógeno es crítica en pacientes inmunocomprometidos y con fibrosis quística, donde la selección de clones resistentes bajo la presión de carbapenémicos facilita su emergencia como patógeno oportunista dominante (Elbehiry et al., 2025).

El abordaje terapéutico estándar ha pivotado históricamente sobre la combinación trimetoprima-sulfametoxazol (TMP-SMX); sin embargo, la detección de aislados con genes *sul* y *dfr* diseminados por transferencia horizontal de genes (HGT) exige la exploración de alternativas basadas en la Resistómica Estructural (Elbehiry et al., 2025). El uso de cefiderocol, una cefalosporina siderófora que utiliza los transportadores de hierro bacterianos para infiltrar la membrana externa, emerge como una opción disruptiva al eludir la barrera de impermeabilidad y resistir la hidrólisis por las metaloenzimas L1 (Elbehiry et al., 2025).

Asimismo, la combinación de aztreonam con ceftazidima-avibactam se perfila como una estrategia de "doble blindaje", aprovechando la estabilidad del aztreonam ante las metalo-betalactamasas y la neutralización de las serino-betalactamasas L2 por el avibactam (Elshobary et al., 2025). La precisión diagnóstica mediante secuenciación de lectura larga (ONT) para reconstruir el plasmidoma y el contexto genómico es vital para predecir el éxito de estos regímenes y contener la diseminación de este "superpatógeno" en el nicho nosocomial (Hala et al., 2024).

7.10. Importancia de la monitorización de fármacos (TDM) en patógenos con CMI elevada

La administración de antimicrobianos en la era de la multirresistencia exige un tránsito desde la dosificación empírica fija hacia la monitorización terapéutica de fármacos (TDM), especialmente cuando se enfrentan patógenos ESKAPE cuyos valores de CMI se sitúan en el límite de la susceptibilidad clínica (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la eficacia bactericida es una propiedad dependiente de la dinámica PK/PD (Farmacocinética/Farmacodinámica), donde el objetivo primordial es asegurar que el tiempo de exposición del antibiótico libre supere el umbral de la CMI ($fT > CMI$) o que el área bajo la curva (AUC) sea lo suficientemente amplia para saturar los mecanismos de resistencia (Boussios et al., 2023). En aislados de *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* con CMIs elevadas, los regímenes convencionales suelen caer en el rango sub-terapéutico (out-of-range), lo que no solo conduce al fracaso clínico, sino que acelera la selección de subpoblaciones heteroresistentes (Boussios et al., 2023).

La relevancia de la TDM se intensifica en el paciente crítico, cuya fisiología se caracteriza por alteraciones drásticas en el volumen de distribución y en el aclaramiento renal aumentado (ARC), fenómenos que diluyen la concentración sistémica del fármaco (Boussios et al., 2023). Investigaciones lideradas por (Boussios et al., 2023) subrayan que el uso de gemelos digitales (Digital Twins) permite integrar los niveles plasmáticos cuantificados en tiempo real con modelos computacionales de compartimentación estocástica, personalizando la dosis para alcanzar los objetivos de exposición en el foco infeccioso (Esposito et al., 2025). Este enfoque es particularmente crítico para antibióticos de "estrecho margen terapéutico" como la colistina o el linezolid; en el caso de este último, la TDM es esencial para prevenir la toxicidad mitocondrial y la trombocitopenia mientras se mantiene la presión necesaria para inhibir la síntesis proteica en cepas con mutaciones raras en el ARNr 23S (Hasan et al., 2025).

Desde el prisma de la Resistómica Clínica, la TDM debe ser guiada por la cuantificación de la expresión del resistoma mediante técnicas como la RT-qPCR o la proteómica por espectrometría de masas (LC-MS/MS) (W. Wu et al., 2024). Si un aislado presenta una sobreexpresión de bombas de eflujo del complejo AcrAB-TolC, la CMI funcional in vivo puede ser significativamente superior a la detectada in vitro debido a la extrusión activa del fármaco (Jaiswal et al., 2022). Como señalan Bilal et al.,(2025), la integración de estos datos multiómicos permite ajustar no solo la dosis, sino también el modo de administración (infusiones prolongadas o continuas), asegurando que el flujo de antibiótico supere la capacidad catalítica de las betalactamasas periplasmáticas y prevenga el establecimiento de biofilms maduros que actúan como santuarios de persistencia bacteriana (Elshobary et al., 2025).

7.11. Efecto del inóculo y su relación con los resultados clínicos en MDRO

El efecto del inóculo constituye un fenómeno biológico crítico que invalida la predictibilidad de las pruebas de susceptibilidad estándar (AST), manifestándose como un incremento significativo de la CMI a medida que aumenta la densidad celular bacteriana en el sitio de infección (Jia et al., 2024). Fisiopatológicamente, esta relación funcional no es una mera anomalía estadística, sino un reflejo de la saturación de la capacidad farmacológica por la masa enzimática colectiva. En infecciones de alta biomasa, como abscesos profundos o neumonías cavitadas por patógenos ESKAPE, la densidad de betalactamasas secretadas al espacio extracelular o confinadas en el periplasma logra hidrolizar las moléculas de antibiótico antes de que estas logren la acilación de sus dianas PBP (Elshobary et al., 2025).

La relevancia diagnóstica del efecto del inóculo ha sido explorada mediante el uso de tecnologías de microfluídica de gota única, las cuales permiten comparar la respuesta de bacterias aisladas frente a micro-colonias densas (Graf et al., 2025). Como explican (Graf et al., 2025), el análisis mediante imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS) revela que la tasa de crecimiento bacteriano se estabiliza en inóculos elevados debido a la activación de señales de quorum sensing y la inducción de estados de latencia metabólica o persistencia (Michaelis & Grohmann, 2023). Estos estados de letargia inducida por la densidad poblacional protegen a la bacteria de los antibióticos bactericidas que dependen de la síntesis de pared celular activa, explicando por qué focos infecciosos con alta carga bacteriana son refractarios al tratamiento a pesar de presentar un antibiograma favorable en el laboratorio (Elshobary et al., 2025).

Clínicamente, el efecto del inóculo correlaciona directamente con un incremento en la mortalidad y en la duración de la hospitalización (Peri et al., 2024). Investigaciones lideradas por Choi et al., (2025) han demostrado que para ciertos betalactámicos, un incremento de diez veces en el inóculo inicial puede elevar la CMI por encima de los puntos de corte de resistencia, invalidando la terapia dirigida. Esta "falla terapéutica paradójica" subraya la necesidad de implementar estrategias de desbridamiento quirúrgico y control del foco para reducir la carga bacteriana neta, permitiendo que las concentraciones sistémicas de antibiótico recuperen su eficacia bactericida (Elshobary et al., 2025). Hacia el futuro, la integración de modelos de inteligencia artificial que consideren la densidad celular detectada por biomarcadores de imagen o metagenómica cuantitativa permitirá ajustar las dosis de manera dinámica, asegurando que la presión farmacológica supere el umbral crítico impuesto por la arquitectura poblacional del patógeno.

7.12. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La encrucijada actual de la Resistómica Clínica está marcada por la tensión entre la sofisticación de las herramientas de diagnóstico genómico y la persistente brecha en la traducción de estos datos hacia desenlaces clínicos universales (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo del AST genotípico frente al fenotípico; si bien la secuenciación de genoma completo (WGS) identifica con precisión la presencia de genes de resistencia, la magnitud real de la resistencia (el fenotipo) depende de factores no genéticos como el ruido transcripcional, la estabilidad de las proteínas en el periplasma y el coste de fitness metabólico (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan Bilal et al.,(2025), la mera detección de un gen como *blaOXA-23* no garantiza un fracaso terapéutico si los niveles de expresión son basales, lo que exige la integración de la transcriptómica cuantitativa en los algoritmos de decisión clínica (Bilal et al., 2025).

Otro área de debate crítico es el impacto real del enfoque "One Health" en la vigilancia de la resistencia hospitalaria (Elbehiry et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y reservorios ambientales, la contribución exacta de la contaminación por metales pesados en suelos agrícolas a la mortalidad por sepsis en centros urbanos sigue siendo objeto de modelado estocástico (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la contaminación ambiental actúa como un "incubador evolutivo" donde la co-selección pre-adapta a las bacterias para sobrevivir a antibióticos de último recurso, lo que

subraya la urgencia de integrar la vigilancia genómica ambiental como una alerta temprana para la clínica humana (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles y plataformas microfluídicas de bajo coste para el fenotipado cinético en el punto de atención (Graf et al., 2025). La implementación de gemelos digitales de administración de antimicrobianos, alimentados por perfiles multiómicos en tiempo real, permitirá una personalización terapéutica que minimice la toxicidad y prevenga la emergencia de nuevos "superclones" (Bilal et al., 2025). Asimismo, el uso de sistemas CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) mediante aprendizaje profundo representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia requiere una metamorfosis radical del paradigma médico, donde la Resistómica Estructural sea el pilar fundamental para navegar una evolución bacteriana que desafía las fronteras de la ciencia y la supervivencia humana (Tamami et al., 2025).

Capítulo 8:

Modelado PK/PD Basado en la CMI Genotípica y Metabólica

8.1. Predicción del éxito terapéutico integrando la CMI genotípica en modelos poblacionales

La optimización del tratamiento de infecciones sistémicas provocadas por patógenos con resistencia extrema (XDR) incorpora herramientas de farmacometría, así como análisis genómico para obtener una mejor predicción de la respuesta antimicrobiana. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) obtenida mediante métodos fenotípicos se convierte en una medida clave de susceptibilidad, aunque esta captura el comportamiento de las bacterianas en condiciones experimentales determinadas (Hwengwere et al., 2022). En este sentido, los algoritmos de aprendizaje profundo aplicados a la secuenciación del genoma completo permiten la estimación de la susceptibilidad a patógenos a partir de determinantes genéticos que incluyen blaKPC, blaOXA-23, cambios en porinas y mutaciones en los genes relacionados con bombas de eflujo (Bilal et al., 2025). La fusión de estas predicciones e implementaciones de modelos de farmacocinética poblacional puede sumar información para individualizar la respuesta antimicrobiana favoreciendo una selección terapéutica más individualizada (Jia et al., 2024).

La traslación de esta CMI genotípica a la clínica se realiza a través de modelos farmacocinéticos poblacionales (PopPK), los cuales describen la variabilidad inter-individual en la disposición de los fármacos mediante la cuantificación de covariables críticas como la función renal (aclaramiento de creatinina), el peso corporal y la presencia de estados de hipermetabolismo (Esposito et al., 2025). En pacientes críticos, fenómenos fisiopatológicos como el aclaramiento renal aumentado (ARC) o la fuga capilar masiva alteran drásticamente el volumen de distribución y la vida media de eliminación de los antibióticos hidrofílicos (betalactámicos, aminoglucósidos), lo que invalida las dosis estandarizadas (Boussios et al., 2023). La integración de la CMI genotípica en estos modelos permite el desarrollo de gemelos digitales (Digital Twins) de administración de antimicrobianos, los cuales simulan miles de escenarios terapéuticos para identificar el régimen de dosificación que maximice el tiempo de exposición libre por encima de la diana molecular ($fT > CMI$) específica del aislado del paciente (Bilal et al., 2025).

La relevancia de esta aproximación reside en su capacidad para anticipar el fracaso terapéutico paradójico en aislados con sensibilidades limítrofes (Tamami Tualombo et al.,

2025). Como argumentan (Boussios et al., 2023), el uso de plataformas web automatizadas para el monitoreo terapéutico de fármacos (TDM) permite ajustar las dosis basándose en predicciones bayesianas que incorporan datos genómicos, reduciendo el riesgo de toxicidad y previniendo la selección de subpoblaciones heteroresistentes que emergen bajo presión antibiótica subóptima. En conclusión, la integración de la CMI genotípica en modelos poblacionales representa el núcleo de la Resistómica Clínica, transformando la prescripción de antimicrobianos de un arte empírico en una ciencia de precisión fundamentada en la biofísica del interactoma fármaco-patógeno.

8.2. Simulaciones de Monte Carlo para la optimización de regímenes de infusión extendida

El diseño de regímenes de dosificación eficaces contra patógenos ESKAPE requiere una comprensión profunda de la dinámica de exposición farmacológica, donde las simulaciones de Monte Carlo emergen como la herramienta matemática definitiva para evaluar la robustez de las intervenciones terapéuticas frente a la incertidumbre biológica (Bilal et al., 2025). Esta técnica computacional genera cohortes virtuales de pacientes (típicamente $n=10,000$) utilizando distribuciones de probabilidad de parámetros farmacocinéticos y perfiles de CMI para calcular la probabilidad de alcanzar los objetivos farmacodinámicos específicos (Esposito et al., 2025). Fisiopatológicamente, para los antibióticos tiempo-dependientes como los betalactámicos, el éxito bactericida está vinculado a mantener las concentraciones de fármaco libre por encima de la CMI durante al menos el 40-70% del intervalo de dosificación ($fT > CMI$); sin embargo, ante aislados con mecanismos de resistencia estructural como la subexpresión de la porina OprD en *Pseudomonas aeruginosa*, los picos plasmáticos convencionales resultan insuficientes para saturar la capacidad enzimática periplasmática (W. Wu et al., 2024).

La optimización de los regímenes antimicrobianos mediante simulaciones de Monte Carlo permite evaluar la probabilidad de alcanzar los objetivos farmacocinéticos y farmacodinámicos en aislados con valores elevados de CMI. En este contexto, las infusiones extendidas o continuas de β -lactámicos pueden aumentar el tiempo durante el cual la concentración plasmática permanece por encima de la CMI, una estrategia particularmente relevante frente a microorganismos con susceptibilidad reducida (Bilal et al., 2025). Estas simulaciones permiten comparar diferentes dosis y modalidades de administración para identificar aquellas con mayor probabilidad de alcanzar el objetivo terapéutico. Por ejemplo,

en aislados de *Klebsiella pneumoniae* productores de KPC, los modelos farmacocinéticos pueden emplearse para valorar la Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA) de meropenem y orientar la selección del régimen de administración más adecuado (Boussios et al., 2023). La interpretación de estos resultados debe considerar las características del aislado, la CMI, la función del paciente y los objetivos farmacodinámicos establecidos..

Desde el prisma de la ingeniería biomédica, las simulaciones de Monte Carlo integradas en sistemas de soporte de decisiones clínicas permiten personalizar el tratamiento basándose en el aclaramiento renal en tiempo real del paciente (Boussios et al., 2023). La relevancia clínica es absoluta en el manejo de patógenos MDRO, donde la ventana terapéutica es extremadamente estrecha; el uso de simulaciones permite predecir el riesgo de toxicidad colateral (nefrotoxicidad o neurotoxicidad) al tiempo que asegura una presión bactericida máxima (Bilal et al., 2025). Hacia el futuro, el desarrollo de algoritmos que combinen estas simulaciones con cinéticas de despolarización de membrana obtenidas por microfluídica permitirá una administración de antimicrobianos (antimicrobial stewardship) dinámica, capaz de ajustar el régimen de infusión minuto a minuto según la respuesta metabólica del patógeno intra-huésped.

8.3. Relación entre la carga genética de resistencia y la probabilidad de alcanzar el objetivo (PTA)

La Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA) constituye la métrica de confianza fundamental en la farmacología de enfermedades infecciosas, describiendo el porcentaje de pacientes en los que un régimen de dosificación específico logrará la exposición crítica necesaria para el éxito clínico (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la PTA no es una variable independiente de la genética bacteriana, sino que está inversamente relacionada con la carga genética de resistencia o "dosificación enzimática" presente en el aislado (Jaiswal et al., 2022). En patógenos portadores de múltiples copias de genes de resistencia en plásmidos de alto número de copias, o aquellos con amplificaciones tándem de genes como *blaOXA-23* mediadas por secuencias de inserción ISAbal, la densidad de betalactamasas en el espacio periplasmático es tan masiva que desplaza la curva de PTA hacia la derecha, requiriendo concentraciones sistémicas que a menudo superan el umbral de toxicidad humana (Hala et al., 2024).

La relación funcional entre la carga genómica y la PTA se fundamenta en la dinámica de saturación enzimática. Investigaciones lideradas por (Jaiswal et al., 2022) han demostrado

que la sobreexpresión de los operones de eflujo *acrA* y *acrB*, cuantificada mediante RT-qPCR, reduce de manera exponencial la probabilidad de alcanzar la diana de exposición para fluoroquinolonas y carbapenémicos, independientemente de la CMI fenotípica detectada in vitro (W. Wu et al., 2024). Este fenómeno de resistencia críptica o adaptativa explica por qué aislados clasificados como "sensibles" según los puntos de corte del CLSI o EUCAST a menudo resultan en fallos terapéuticos; la carga genética silente bajo condiciones basales se activa ante la exposición al fármaco, elevando la CMI funcional por encima del rango cubierto por el régimen de PTA estándar (Tamami et al., 2025).

La relevancia diagnóstica de mapear esta relación radica en la necesidad de transitar hacia un sistema de puntos de corte dinámicos basados en el resistoma (Bilal et al., 2025). Como bien argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de perfiles de metatranscriptómica y secuenciación de lectura larga (ONT) permite reconstruir la arquitectura del plasmidoma e identificar la co-localización de genes de resistencia con factores de virulencia, lo que debe guiar la selección de dosis de "ataque" masivas para asegurar una PTA adecuada desde el inicio de la terapia.

8.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada del modelado PK/PD se define por la tensión entre la sofisticación de las herramientas computacionales y la persistente variabilidad en la predicción universal de los desenlaces clínicos. Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de los genes de resistencia silentes. En la identificación de un gen como *blaNDM-5* mediante metagenómica clínica sugiere una PTA nula para la mayoría de los carbapenémicos, la magnitud real de la expresión enzimática y su impacto sobre la viabilidad celular bajo condiciones de estrés oxidativo en el huésped sigue siendo objeto de debate (Tamami Tualombo et al., 2025). Como argumentan Bilal et al., (2025), la brecha entre el AST genotípico y el éxito clínico exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos de secuenciación con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir la respuesta farmacológica con precisión estocástica.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real del enfoque "One Health" en la vigilancia de la resistencia y su influencia en el modelado poblacional (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre reservorios ambientales y patógenos humanos, la contribución exacta de la contaminación ambiental a la variabilidad de la CMI en centros

urbanos sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad complejos que consideren el flujo de genes a través de la cadena alimentaria (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica ambiental debe ser integrada como una covariable proactiva en los modelos PopPK para anticipar la emergencia de clones con perfiles de resistencia inusuales (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la personalización de la terapia mediante el uso de gemelos digitales (Digital Twins) alimentados por sensores portátiles de monitoreo de fármacos y la aplicación de sistemas CRISPR-Cas para la edición *in situ* del mobiloma bacteriano (Bilal et al., 2025). El desarrollo de péptidos antimicrobianos (AMPs) diseñados por inteligencia artificial que actúen sinérgicamente con el modelado de PTA promete superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En última instancia, la lucha contra la resistencia requiere una transformación radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural y el modelado matemático sean los pilares para navegar una evolución bacteriana que desafía las fronteras de la ciencia contemporánea (Tamami et al., 2025).

8.5. Ajuste de dosis basado en la metabolómica del patógeno bajo exposición antibiótica

Los regímenes antimicrobianos en la era de la multirresistencia extrema ha evolucionado hacia una farmacometría de ultra-precisión, donde el ajuste de dosis ya no depende exclusivamente de parámetros poblacionales, sino de la monitorización del estado metabólico del patógeno *in situ* (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la exposición bacteriana a concentraciones subletales de antibióticos desencadena una cascada de reprogramación proteómica y metabólica, orientada a la supervivencia bajo estrés oxidativo y limitación de nutrientes (Denk y Wood, 2023). La metabolómica funcional, capturada mediante técnicas disruptivas como la imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS) integradas en sistemas microfluídicos, permite identificar desviaciones estocásticas en la biomasa y en la densidad citoplasmática antes de que se manifieste un cambio en la densidad óptica convencional (Graf et al., 2025). Este "fenotipado cinético" revela la emergencia de subpoblaciones persistentes que eluden la acción bactericida mediante una quiescencia reversible, un fenómeno que invalida la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de punto final como métrica única para la decisión terapéutica (Elshobary et al., 2025).

Desde una perspectiva analítica, la integración de datos metabolómicos con algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) permite estimar una "CMI metabólica" dinámica, la

cual refleja la potencia catalítica real de las enzimas de resistencia (como las carbapenemasas tipo NDM o KPC) bajo las condiciones biológicas del paciente (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Graf et al., 2025), el análisis computacional de los perfiles de difracción de luz en microgotas facilita la predicción del éxito terapéutico en una ventana de 1 a 5 horas, permitiendo una recalibración estocástica de la dosis. Esta rapidez es vital para saturar los mecanismos de eflujo activo de la familia RND (*Resistance-Nodulation-Division*), cuya sobreexpresión, detectada por la carga transcripcional de los genes *acrA* y *acrB*, eleva el umbral de exposición necesario para alcanzar la diana molecular (W. Wu et al., 2024). La relevancia clínica de este enfoque radica en la capacidad de posicionar las concentraciones de fármaco libre por encima de la "ventana de selección de resistencia", minimizando la probabilidad de que el patógeno transite de un estado de tolerancia metabólica hacia una resistencia genética estable.

Hacia el futuro, la implementación de gemelos digitales (Digital Twins) alimentados por flujos masivos de datos de metabolómica en tiempo real permitirá una personalización terapéutica sin precedentes (Esposito et al., 2025). Estos modelos integran la variabilidad inter-individual del huésped (como el aclaramiento renal) con la cinética de despolarización de la membrana bacteriana capturada por citometría multiespectral, optimizando los regímenes de infusión para asegurar un éxito bactericida máximo con una toxicidad colateral mínima (Bilal et al., 2025). En conclusión, el ajuste de dosis basado en la metabolómica constituye el núcleo operativo de la Resistómica Clínica, transformando el diagnóstico microbiológico en una ciencia reactiva que anticipa la trayectoria evolutiva bacteriana dentro del nicho infeccioso.

8.6. PK/PD de antibióticos en compartimentos biológicos difíciles: LCR y tejido óseo

El éxito de la erradicación bacteriana en sitios con barreras fisiológicas restrictivas, como el sistema nervioso central y el tejido óseo, depende de la capacidad del antimicrobiano para superar gradientes de permeabilidad biofísica y alcanzar densidades críticas en el sitio diana (Peri et al., 2024). Fisiopatológicamente, el paso de antibióticos a través de la barrera hematoencefálica (BHE) hacia el líquido cefalorraquídeo (LCR) está gobernado por el peso molecular, la lipofilia y la carga aniónica, así como por la integridad estructural de las uniones estrechas capilares, las cuales se ven alteradas durante el proceso inflamatorio de la meningitis (Esposito et al., 2025). La tecnología de secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) ha emergido como una herramienta diagnóstica superior en estos compartimentos de baja biomasa, permitiendo la identificación directa del patógeno y sus determinantes de

resistencia estructural a partir de muestras clínicas donde el cultivo convencional suele resultar negativo (W. Zhao et al., 2025).

La modelización PK/PD en estos entornos exige una interpretación matizada de la exposición libre no ligada a proteínas, dado que solo la fracción farmacológicamente activa en el LCR o en el fluido intersticial óseo ejerce la presión bactericida necesaria (Boussios et al., 2023). Investigaciones lideradas por (W. Zhao et al., 2025) han demostrado que mNGS puede detectar patógenos en el LCR con una sensibilidad superior al 90%, proporcionando un perfil de resistencia integral que guía el ajuste de la dosis para compensar la limitada penetración tisular de agentes hidrofílicos como los carbapenémicos (W. Zhao et al., 2025). De manera análoga, en el tejido óseo y en infecciones asociadas a prótesis, la formación de biofilms maduros genera microambientes de hipoxia y bajo pH que inactivan a los aminoglucósidos y reducen la tasa metabólica bacteriana, exigiendo regímenes de dosificación que superen la CMI del biofilm (MBIC) para prevenir la recidiva infecciosa (Elshobary et al., 2025).

Clínicamente, la relevancia de capturar el resistoma funcional en compartimentos difíciles es absoluta para evitar el fracaso terapéutico (Bilal et al., 2025). El uso de técnicas de "biopsia líquida" mediante la secuenciación de ADN libre (cfDNA) en plasma permite inferir la carga bacteriana en focos profundos, proporcionando una señal diagnóstica que refleja el daño celular provocado por el patógeno al sistema circulatorio (W. Zhao et al., 2025). Como bien señalan (Bilal et al., 2025), la integración de estos perfiles genómicos con modelos de farmacocinética compartimental permite individualizar el tratamiento para cada paciente, asegurando que el flujo de antibiótico supere la velocidad de extrusión mecánica mediada por las bombas de la familia RND en patógenos ESKAPE. En conclusión, la vigilancia de la Resistómica Estructural en sitios de difícil acceso constituye la brújula para navegar una infección que desafía las fronteras anatómicas y terapéuticas de la medicina contemporánea.

8.7. Impacto de la disfunción renal en el aclaramiento de antibióticos de última línea

La insuficiencia orgánica, particularmente la disfunción renal, representa una de las covariables de mayor impacto sobre la variabilidad farmacocinética inter-individual, condicionando de manera crítica la probabilidad de alcanzar los objetivos terapéuticos ($fT > CMI$) para los antibióticos de eliminación renal (Boussios et al., 2023). Fisiopatológicamente, la reducción de la tasa de filtración glomerular (TFG) provoca una acumulación sistémica de fármacos como los betalactámicos, aminoglucósidos y polimixinas, incrementando exponencialmente el riesgo de nefrotoxicidad y neurotoxicidad. Sin embargo, en el escenario

opuesto, el fenómeno del aclaramiento renal aumentado (ARC), frecuente en pacientes sépticos hiperdinámicos, conduce a una eliminación acelerada que precipita niveles valle sub-terapéuticos, favoreciendo la emergencia de resistencia colateral (Bilal et al., 2025).

La gestión clínica de estas desviaciones farmacocinéticas ha sido revolucionada por la aplicación de gemelos digitales integrados en plataformas web de monitoreo terapéutico de fármacos (TDM). Estos sistemas utilizan algoritmos bayesianos para estimar los parámetros individuales del paciente a partir de escasas muestras plasmáticas, ajustando dinámicamente la dosis basándose en el aclaramiento de creatinina en tiempo real (Esposito et al., 2025). Investigaciones lideradas por Boussios et al., (2023) subrayan que el uso de estas tecnologías automatizadas permite reducir drásticamente el tiempo de respuesta diagnóstica y mejorar los desenlaces clínicos en infecciones graves por patógenos MDRO, asegurando que la presión farmacológica sea la óptima para erradicar al aislado específico del paciente (Boussios et al., 2023). La relevancia de este ajuste fino es absoluta para antibióticos de "última línea" como la colistina; ante un perfil genómico que revele mutaciones en el sistema *mcr-1* o en porinas restrictivas, el clínico debe equilibrar la necesidad de dosis bactericidas masivas con la preservación de la función renal remanente (Tamami et al., 2025).

Desde el prisma de la medicina de precisión, la interacción entre la disfunción renal y el resistoma bacteriano revela nuevas dimensiones de la fisiopatología de la envoltura celular (W. Wu et al., 2024). En aislados de *Pseudomonas aeruginosa* o *Klebsiella pneumoniae* con una sobreexpresión de bombas de eflujo de la familia RND, los niveles plasmáticos elevados secundarios a la insuficiencia renal pueden no traducirse en una acumulación periplasmática suficiente si la extrusión mecánica bacteriana supera el flujo de influjo difusivo (W. Wu et al., 2024). Como argumentan (Bilal et al., 2025), esta discrepancia subraya la necesidad de integrar la proteómica cuantitativa (LC-MS/MS) en los modelos de farmacocinética poblacional, permitiendo que la dosificación sea guiada por la "potencia enzimática" y estructural real del patógeno, con el fin de salvaguardar la eficacia de la medicina moderna frente a la crisis global de resistencia antimicrobiana.

8.8. Modelado de la respuesta bacteriana dinámica mediante el uso de microfluídica cinética

El modelado dinámico de la respuesta bacteriana constituye el pilar fundamental para trascender las limitaciones de las pruebas de susceptibilidad estáticas, permitiendo capturar la interacción fármaco-patógeno bajo condiciones que mimetizan el flujo biológico *in vivo* (Graf

et al., 2025). Tradicionalmente, este análisis se realizaba mediante sistemas de fibras huecas (hollow-fiber), los cuales permiten monitorizar la cinética de muerte y el rebrote bacteriano bajo perfiles de concentración fluctuantes (Bilal et al., 2025). No obstante, la evolución biotecnológica ha desplazado este paradigma hacia la microfluídica cinética de gota única, la cual ofrece una resolución estadística inalcanzable al compartimentar bacterias individuales en miles de micro-reactores picolítricos (Graf et al., 2025). Fisiopatológicamente, estos dispositivos "lab-on-a-chip" aíslan a la célula de las señales de quorum sensing de la comunidad mayoritaria, revelando comportamientos fenotípicos estocásticos de persistencia y resistencia adaptativa que son promediados y enmascarados en los ensayos convencionales (Michaelis y Grohmann, 2023).

La metodología de modelado dinámico en sistemas microfluídicos utiliza técnicas de imagen de dispersión de luz (ARS) y sensores ópticos de alta sensibilidad para cuantificar el incremento de la biomasa minuto a minuto (Graf et al., 2025). Como bien explican (Graf et al., 2025), el análisis computacional de estos datos mediante modelos de inteligencia artificial permite predecir los valores de CMI y la probabilidad de fracaso terapéutico analizando la cinética de replicación bacteriana bajo gradientes automatizados de antibióticos (Graf et al., 2025). Esta capacidad analítica es vital para el éxito de los programas de administración de antimicrobianos (ASP), ya que facilita la identificación de combinaciones sinérgicas que aprovechen las vulnerabilidades estructurales del patógeno, como el daño a la integridad de la membrana inducido por aminoglucósidos o polimixinas (Elshobary et al., 2025).

La relevancia clínica del modelado dinámico reside en su potencial para predecir la trayectoria evolutiva del mobiloma dentro del paciente crítico (Tamami et al., 2025). Al monitorizar la respuesta de célula individual, es posible detectar fenómenos de heteroresistencia poblacional mediada por amplificaciones transitorias en el número de copias génicas (CNV) antes de que estas se fijen como resistencia estable (Jia et al., 2024). Hacia el futuro, la fusión de la microfluídica cinética con el desarrollo de gemelos digitales alimentados por datos multiómicos permitirá personalizar el régimen de infusión de manera proactiva, asegurando que cada intervención terapéutica se posicione dentro del rango óptimo para erradicar al patógeno y contener la progresión de la multirresistencia global (Bilal et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana exige una transformación radical del paradigma microbiológico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución bacteriana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas (Tamami et al., 2025).

8.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Clínica está marcada por la tensión entre la sofisticación de las herramientas genómicas y la persistente incertidumbre en la predicción universal de los desenlaces terapéuticos (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de la CMI genotípica frente a la fenotípica; si bien la secuenciación de genoma completo (WGS) identifica con precisión la presencia de genes de resistencia, la magnitud real de la resistencia (el fenotipo clínico) depende de factores no genéticos como el ruido transcripcional, la estabilidad de las proteínas en el periplasma y el coste de fitness metabólico (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre genotipo y fenotipo exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos genómicos con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir la respuesta farmacológica con precisión estocástica (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real del enfoque "One Health" en la vigilancia de la resistencia y su influencia en el modelado poblacional (S. Zhang et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y reservorios ambientales, la contribución exacta de la contaminación por antibióticos en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad complejos (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica ambiental debe ser integrada como una covariable proactiva en los modelos PopPK para anticipar la emergencia de clones con perfiles de resistencia inusuales (Elbehiry et al., 2025).

Según las perspectivas se centran en la personalización de la terapia mediante el uso de gemelos digitales alimentados por sensores portátiles de monitoreo de fármacos y la aplicación de sistemas CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma bacteriano (Bilal et al., 2025). El desarrollo de nanobióticos que interfieran con la fuerza motriz de protones y de péptidos antimicrobianos (AMPs) diseñados por inteligencia artificial promete superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (W. Wu et al., 2024). En última instancia, la lucha contra la resistencia requiere una transformación radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural y el modelado matemático sean los pilares para navegar una evolución bacteriana que desafía las fronteras de la ciencia contemporánea (Tamami Tualombo et al., 2025).

8.10. Influencia de la unión a proteínas plasmáticas en la actividad de los nuevos betalactámicos

La farmacodinámica de los betalactámicos contemporáneos está intrínsecamente supeditada a la dinámica de equilibrio entre las fracciones ligada y libre en el torrente circulatorio, donde la unión a proteínas plasmáticas (principalmente a la albúmina sérica) actúa como un modulador biofísico de la potencia bactericida (Elshobary et al., 2025). Fisiopatológicamente, solo la fracción libre no ligada (f) posee la capacidad termodinámica para difundir a través de las fenestraciones capilares hacia el fluido intersticial y, posteriormente, infiltrar el periplasma bacteriano mediante los canales de porinas para acilar las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) (W. Wu et al., 2024). En agentes de alta afinidad proteica, como la ceftriaxone o el ertapenem, variaciones sutiles en la concentración de albúmina fenómeno clínico ubicuo en la sepsis debido a la fuga capilar y la respuesta de fase aguda negativa pueden provocar desplazamientos masivos en la farmacocinética (Boussios et al., 2023).

Desde un prisma analítico, la hipoalbuminemia severa altera el volumen de distribución (V_d) y acelera el aclaramiento renal del antibiótico, ya que una mayor proporción de fármaco queda disponible para la filtración glomerular. Este escenario precipita una caída drástica en el tiempo de exposición libre por encima de la Concentración Mínima Inhibitoria ($fT > CMI$), situando los niveles valle en el rango sub-terapéutico (out-of-range) (Esposito et al., 2025). Como bien explican (Boussios et al., 2023), el uso de métodos de cuantificación total del fármaco sin corrección por la fracción libre puede conducir a una interpretación errónea del éxito terapéutico, enmascarando una exposición insuficiente en el sitio de infección que favorece la supervivencia de subpoblaciones heteroresistentes (Boussios et al., 2023). La relevancia clínica de monitorizar la fracción libre es absoluta, especialmente ante patógenos ESKAPE con mecanismos de Resistencia Estructural que ya han elevado los umbrales de susceptibilidad (Elshobary et al., 2025).

Hacia el futuro, la integración de la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) con modelos de farmacometría digital permitirá ajustar la dosificación basándose en el perfil proteico específico del paciente en tiempo real. La aplicación de algoritmos bayesianos que consideren la cinética de adsorción-desorción a las proteínas plasmáticas facilitará la transición hacia una administración de antimicrobianos de ultra-precisión, asegurando que el flujo de moléculas activas hacia el compartimento biofásico supere la velocidad de hidrólisis enzimática mediada por carbapenemasas periplasmáticas (Tamami et al., 2025). En conclusión,

la unión a proteínas no es un parámetro estático, sino una variable dinámica que define el éxito de la intervención terapéutica en el paciente crítico (Boussios et al., 2023).

8.11. Estrategias de "ataque frontal" (front-loading) para prevenir la selección de resistencias

El concepto de "ataque frontal" (front-loading) representa una evolución estratégica en el manejo inicial del choque séptico, fundamentada en la necesidad imperativa de alcanzar rápidamente concentraciones bactericidas máximas para saturar los mecanismos de resistencia adaptativa (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, el retraso en la obtención de niveles terapéuticos óptimos crea una "ventana de selección de mutantes", donde el patógeno queda expuesto a concentraciones subletales que disparan redes de regulación transcripcional vinculadas al estrés de membrana y a la sobreexpresión de bombas de eflujo de la familia RND (W. Wu et al., 2024). La estrategia de *front-loading* utiliza dosis de carga elevadas para compensar el incremento masivo del volumen de distribución provocado por la resucitación con fluidos y el edema tisular, asegurando que la primera dosis posicione los niveles de fármaco libre muy por encima de la CMI genotípica del aislado.

Los estudios de argumentan (Bilal et al., 2025), esta aproximación no solo busca la erradicación bacteriana acelerada, sino la supresión del fenómeno de la heterorresistencia poblacional, donde subpoblaciones minoritarias portadoras de amplificaciones en el número de copias génicas podrían emerger si la presión farmacológica inicial es insuficiente (Jia et al., 2024). En infecciones por *Acinetobacter baumannii* productora de OXA-23 o *Pseudomonas aeruginosa* con deficiencia de porinas OprD, el *front-loading* permite saturar la capacidad catalítica de las betalactamasas antes de que la bacteria entre en estados de quiescencia metabólica o persistencia (W. Wu et al., 2024). La relevancia clínica de esta rapidez es determinante; cada hora de exposición subóptima correlaciona con un incremento logarítmico en la biomasa de células persistentes que eluden la acción de antibióticos dependientes de la replicación activa (Elshobary et al., 2025).

Desde la perspectiva de la farmacometría, el éxito del ataque frontal debe ser validado mediante simulaciones de Monte Carlo que incorporen la variabilidad del aclaramiento renal aumentado (ARC), frecuente en el paciente joven y crítico (Boussios et al., 2023). El uso de infusiones prolongadas posteriores a la dosis de carga optimiza la Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA), manteniendo la presión necesaria para prevenir el rebrote bacteriano mediado por plásmidos híbridos de alta movilidad. En conclusión, el *front-loading* es el pilar operativo

de la Resistómica de Emergencia, transformando la "hora de oro" del diagnóstico en una ventana de intervención molecular definitiva contra la progresión de la multirresistencia (Bilal et al., 2025).

8.12. Personalización de la terapia en el paciente séptico mediante farmacometría digital

La gestión de las infecciones por patógenos MDRO en el paciente séptico ha trascendido la era de los protocolos fijos para consolidarse en un modelo de farmacometría digital personalizada, donde el uso de plataformas web automatizadas permite una optimización dinámica del régimen antimicrobiano (Boussios et al., 2023). Esta transformación tecnológica se apoya en la creación de Gemelos Digitales (Digital Twins), modelos virtuales que mimetizan la fisiopatología del paciente integrando covariables masivas, desde el aclaramiento de creatinina calculado minuto a minuto hasta los perfiles genómicos del resistoma bacteriano (Esposito et al., 2025). Fisiopatológicamente, la sepsis es un estado dinámico donde la función orgánica y la carga bacteriana fluctúan estocásticamente; la farmacometría digital captura estas variaciones mediante predicciones bayesianas, recalculando la dosis óptima tras cada resultado de monitorización terapéutica (Boussios et al., 2023).

Como señalan (Choi et al., 2025), la implementación de estas herramientas reduce drásticamente el tiempo necesario para interpretar los niveles plasmáticos, eliminando la dependencia de personal altamente especializado en bioinformática clínica. Estas plataformas permiten simular miles de trayectorias farmacocinéticas para identificar el régimen de infusión (extendida o continua) que maximice la exposición libre en compartimentos de difícil acceso, como el líquido cefalorraquídeo o el tejido óseo, donde la penetración de los betalactámicos suele ser errática (Esposito et al., 2025). La relevancia de este enfoque en el Antimicrobial Stewardship (ASP) es vital, ya que minimiza el riesgo de toxicidad pancreática o renal asociada a dosis masivas de tigeciclina o colistina, al tiempo que garantiza una presión bactericida que supere la potencia enzimática de las metalo-betalactamasas tipo NDM (Tamami Tualombo et al., 2025).

En este contexto, la personalización terapéutica integrará la metatranscriptómica cuantitativa para ajustar la dosis según el nivel de expresión real de los genes de resistencia *in vivo* (Bilal et al., 2025). Si un gemelo digital detecta que la carga enzimática periplasmática está disminuyendo debido a la eficacia del tratamiento, el sistema puede sugerir una desescalada dirigida precoz, protegiendo la microbiota comensal del paciente y reduciendo la

presión selectiva ambiental (Elbehiry et al., 2025). En conclusión, la farmacometría digital constituye el cerebro computacional de la medicina de precisión infectológica, asegurando que cada molécula de antibiótico sea administrada con una precisión que iguale la sofisticación evolutiva de los "superclones" bacterianos (Bilal et al., 2025).

8.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

El Resistómica Estructural se define por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades tecnológicas y la persistente incertidumbre en la predicción universal de los desenlaces clínicos (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la correlación genotipo-fenotipo; si bien herramientas como el aprendizaje profundo (Deep Learning) logran predecir valores de CMI con alta precisión basándose en secuencias de WGS, la magnitud real de la resistencia funcional en el nicho infeccioso depende de factores epigenéticos, estados de dormancia celular y el efecto del inóculo, variables que el análisis genómico cualitativo no logra capturar en su totalidad (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre la detección de un gen como *mcr-I* y el fracaso clínico real exige la integración de perfiles de metabolómica cinética en los algoritmos de decisión diagnóstica (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto de los reservorios ambientales en la dinámica de transmisión nosocomial bajo el enfoque "One Health" (S. Zhang et al., 2025). Aunque herramientas de Análisis de Datos Topológicos (TDA) han mapeado rutas de transferencia horizontal masiva de plásmidos entre el microbioma humano y hábitats externos, la contribución exacta de la contaminación por antibióticos en suelos agrícolas a la variabilidad de la CMI en centros hospitalarios urbanos sigue siendo objeto de modelado estocástico (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la cama del paciente para incluir el mapeo del mobiloma ambiental, identificando "puntos calientes" de evolución bacteriana antes de que nuevos determinantes de resistencia se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

En este sentido las perspectivas se centran en la fusión de la inteligencia artificial multiómica con dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) (Bilal et al., 2025). El desarrollo de sensores portátiles capaces de realizar secuenciación de nanoporos y monitorización de fármacos de manera simultánea permitirá una personalización terapéutica instantánea, superando la latencia diagnóstica que actualmente perpetúa el uso de terapias empíricas de amplio espectro. Asimismo, la implementación de sistemas basados en CRISPR-

Cas para la edición in situ del resistoma poblacional y el uso de adyuvantes inhibidores de eflujo que actúen sobre la bioenergética de la membrana representan las fronteras biotecnológicas para salvaguardar la eficacia de la medicina moderna (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural sea la brújula para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas (Tamami et al., 2025).

Capítulo 9:

Vigilancia Filogenómica y Control de Brotes en la Era Digital

9.1. Rastreo de rutas de transmisión nosocomial mediante análisis de genoma completo (WGS)

La epidemiología molecular ha incorporado la **secuenciación de genoma completo (WGS)** como una herramienta para caracterizar la diversidad genética y reconstruir relaciones de transmisión entre aislamientos bacterianos. En comparación con métodos convencionales, como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y el tipado multilocus (MLST), el WGS permite analizar un conjunto más amplio de variaciones genómicas, incluidos los polimorfismos de nucleótido único (SNP) y las inserciones o deleciones (indels). Estas características favorecen una diferenciación más precisa de los aislamientos relacionados durante los brotes hospitalarios. Desde el punto de vista biológico, las diferencias genómicas observadas entre aislamientos pueden surgir por procesos de microevolución asociados con la presión selectiva de los antimicrobianos y las condiciones del entorno del huésped. El análisis de estas variaciones permite establecer relaciones filogenéticas y contribuir a la reconstrucción de posibles cadenas de transmisión (Hasan et al., 2025).

La aplicación del WGS con el fin de estudiar brotes combina múltiples herramientas bioinformáticas y epidemiológicas. Por un lado, las filogenias de máxima verosimilitud permiten trazar relaciones evolutivas entre los aislamientos, mientras que la inferencia bayesiana ayuda a estimar la temporalidad de los eventos de divergencia (Hala et al., 2024). Por otro lado, la combinación de información genómica y registros de salud electrónicos (EHR) permite relacionar datos microbiológicos con antecedentes clínicos y epidemiológicos, que a su vez ayudan a identificar posibles pacientes puente y reservorios ambientales (Wang et al., 2025). Asimismo, el cgMLST permite comparar aislamientos en el marco de un set estandarizado de genes del genoma central y también ayudar a identificar grupos clonales durante los brotes (Tamami et al., 2025). Con esto, la combinación de estas herramientas permite obtener información para guiar la vigilancia epidemiológica y el establecimiento de medidas de control que se dirijan a interrumpir las cadenas de transmisión en el entorno del hospital (Peri et al., 2024).

Desde la perspectiva de la bioinformática forense, el rastreo de rutas mediante WGS permite diferenciar entre una transmisión directa de persona a paciente y la adquisición stocástica desde un reservorio inanimado (Hasan et al., 2025). Investigaciones lideradas por

(Y. Wang, Zhao, et al., 2025) han demostrado que el uso de umbrales críticos de SNPs (típicamente $\leq 15-20$ SNPs para enterobacterias) constituye la base para confirmar la clonalidad de un evento nosocomial, permitiendo al equipo de epidemiología hospitalaria discernir si múltiples casos clínicos comparten un ancestro común reciente o si representan ingresos independientes de cepas endémicas en la comunidad (Hasan et al., 2025). Hacia el futuro, la automatización de estos flujos de trabajo mediante algoritmos de aprendizaje profundo permitirá una vigilancia proactiva en tiempo real, transformando el laboratorio de microbiología en una unidad de inteligencia genómica que previene la diseminación de la multirresistencia mediante el mapeo dinámico del interactoma patógeno-entorno (Tamami et al., 2025).

9.2. Identificación de clones de alto riesgo y linajes emergentes a nivel global

La arquitectura global de la resistencia antimicrobiana está definida por la emergencia y diseminación de clones de alto riesgo (HiRCs), linajes bacterianos que han logrado un equilibrio evolutivo óptimo entre hipervirulencia, multirresistencia y fitness metabólico (Hala et al., 2024). La identificación de estos linajes, como el clon ST11-KL64 de *Klebsiella pneumoniae* o el emergente ST2096, requiere una caracterización genómica profunda que trascienda la detección de genes individuales para analizar el resistoma estructural completo y la estabilidad de las plataformas móviles de resistencia (Hala et al., 2024). Fisiopatológicamente, el éxito de estos HiRCs se fundamenta en su capacidad para adquirir y retener megaplásmidos híbridos que co-localizan genes de carbapenemasas (como *blaKPC-2*) con factores de virulencia tales como sideróforos de alta afinidad (*iuc*, *iro*) y sistemas de secreción tipo VI, lo que les confiere una ventaja competitiva tanto en el ambiente hospitalario como en la invasión tisular (Hala et al., 2024).

La vigilancia filogenómica de linajes emergentes utiliza la secuenciación de lectura larga (ONT) para reconstruir la arquitectura circular de los plásmidos, permitiendo mapear la evolución de islas de multirresistencia donde la inserción de secuencias como ISAbal o IS26 orquesta la amplificación del número de copias génicas (Hala et al., 2024). Como bien señalan (Hala et al., 2024), la contextualización de los aislados locales en bases de datos internacionales como la de detección de patógenos del NCBI permite identificar la filogeografía de clones que atraviesan fronteras continentales, facilitando una respuesta coordinada bajo el enfoque "One Health" (Hala et al., 2024). En patógenos como *Acinetobacter baumannii*, la identificación de HiRCs es vital para predecir la resistencia a nuevos antibióticos como el cefiderocol, ya que

ciertos linajes presentan mutaciones estructurales pre-existentes en los transportadores de hierro que comprometen la eficacia de la terapia dirigida (Elbehiry et al., 2025).

La relevancia de monitorizar estos linajes radica en la prevención del fracaso terapéutico paradójico en infecciones graves (Bilal et al., 2025). La integración de perfiles de proteómica cuantitativa con datos de WGS ha evidenciado que clones como el ST23 de *K. pneumoniae* presentan una respuesta de fase aguda atenuada en el huésped, eludiendo la detección inmunológica inicial mientras consolidan una densidad enzimática masiva en el foco infeccioso (Choi et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), el uso de modelos de inteligencia artificial aplicados a la genómica poblacional permite estratificar a los pacientes según el riesgo intrínseco del clon infectante, guiando el uso de regímenes de "doble inhibición" enzimática antes de que se produzca la disfunción multiorgánica. En conclusión, la vigilancia de HiRCs constituye el eje de la Resistómica de Precisión, permitiendo que la medicina moderna se anticipe a la adaptación evolutiva bacteriana mediante la detección temprana de las variantes genómicas que condicionarán la salud pública global en la próxima década (Bilal et al., 2025).

9.3. Uso de la filogenómica para diferenciar brotes puntuales de endemicidad hospitalaria

Uno de los dilemas más persistentes en la gestión del control de infecciones es la distinción entre un brote puntual (point-source outbreak), originado por una exposición común, y la endemicidad hospitalaria, donde el patógeno persiste de manera prolongada en el entorno clínico mediante la formación de biopelículas o la colonización crónica de reservorios inanimados (Pauwels et al., 2025). La filogenómica de alta resolución proporciona la base biofísica para resolver esta dicotomía mediante el análisis del reloj molecular y la cuantificación de la heterogeneidad poblacional (Hasan et al., 2025). Fisiopatológicamente, una endemicidad se caracteriza por una mayor diversidad genómica y una acumulación de SNPs que reflejan múltiples ciclos de replicación y adaptación al nicho local, mientras que un brote puntual presenta una arquitectura clonal casi idéntica, con distancias genéticas que a menudo no superan los 5 SNPs (Hasan et al., 2025).

La metodología analítica para la diferenciación de los focos de transmisión hospitalaria puede incluir el algoritmo DODGE (detecta los brotes bacterianos a partir de sus datos), elaborado para detectar agrupaciones de casos con frecuencias o distribuciones genómicas distintas de las frecuentes, las que se encuentran en un hospital. En términos metodológicos el

algoritmo DODGE compara los patrones de los aislamientos y estima la probabilidad de que la agrupación de los mismos se corresponda con un evento de transmisión común con lo cual se prioriza la investigación de posibles brotes (Pauwels et al., 2025). De la misma manera la secuenciación de muestras obtenidas de sifones y drenajes de unidades de cuidados intensivos contribuye a caracterizar reservorios ambientales y a establecer relaciones genómicas con los aislamientos clínicos. En este sentido, la identificación de linajes relacionados en pacientes y ambiente mediante análisis filogenómico puede probar la persistencia de las posibles fuentes de contaminación además de guiar las medidas de vigilancia y control (Zhang et al., 2025). Esta información podría unirse en una figura que contenga información sobre el origen de las muestras, los resultados genómicos y su relación con los casos clínicos.

La relevancia clínica de diferenciar estos escenarios es absoluta para la optimización de recursos en los programas de vigilancia (Bilal et al., 2025). Ante un brote puntual, las acciones deben centrarse en el rastreo de contactos y la revisión de técnicas de asepsia; por el contrario, ante una endemidad genómica, se requiere un enfoque de "Resistómica de Campo" que aborde la ecología microbiana del hospital (Zhang et al., 2025). El análisis crítico de la evidencia sugiere que la endemidad es a menudo impulsada por la transferencia horizontal de genes (HGT) masiva dentro de biofilms maduros, donde la co-selección por desinfectantes y metales pesados perpetúa la estabilidad del resistoma estructural (Tamami et al., 2025). En última instancia, la filogenómica digital permite transformar la microbiología diagnóstica en una ciencia de prevención dinámica, asegurando que el control de infecciones se base en la realidad genómica del nicho clínico para salvaguardar la viabilidad de la medicina contemporánea.

9.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Filogenómica se define por la tensión entre el incremento masivo de datos genómicos y la persistente incertidumbre en la estandarización de los criterios de causalidad para el control de brotes (Bilal et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de los umbrales de SNPs; si bien se utilizan valores estandarizados para definir clonalidad, la velocidad de mutación bacteriana puede variar drásticamente según la presión antibiótica y el estado metabólico de la bacteria (tasa de división celular vs. persistencia), lo que puede conducir a interpretaciones erróneas de la dinámica de transmisión (Hasan et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre la detección genómica y la intervención clínica exige el desarrollo de modelos de inteligencia

artificial multiómica que integren la filogenia con parámetros de fitness celular y datos de movimiento de pacientes en tiempo real para predecir la expansión del brote con precisión estocástica (Bilal et al., 2025).

Un acontecimiento particular relevante hace alusión al papel de los reservorios ambientales exteriores en la resistencia antimicrobiana en el contexto de One Health. Una revisión global identificó 177 estudios sobre vigilancia de aguas residuales, de los cuales un 76,8 % se publicaron en la posterioridad a 2019 (Punch et al., 2025). El análisis de 762 genomas de *Escherichia coli* productora de β -lactamasas también determinó que un 76 % de los aislamientos procedentes de aguas residuales, hospitales, ganado y fauna salvaje presentaban resistencias a dos o más clases de antibióticos (Seiffert et al., 2025). Estos resultados proporcionan soporte para la vigilancia ambiental y clínica, aunque aún queda por demostrar su valor en el marco de los brotes de origen hospitalario.

Las expectativas de desarrollo se dirigen a fomentar el acceso a la genómica de precisión, mediante el uso de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo precio y plataformas de bioinformática en el borde (edge computing), capaces de ayudar a detectar variantes de resistencia en el punto de atención (Y et al., 2024). Al mismo tiempo, los Gemelos Digitales (Digital Twins) en la vigilancia epidemiológica podrían combinar datos genómicos y clínicos para modelizar intervenciones de control de infecciones y evaluar distintos escenarios de transmisión de microorganismos multirresistentes (Bilal et al., 2025). En esta línea, la Resistómica Estructural y la vigilancia filogenómica podrían complementar los sistemas de vigilancia convencionales, pero siempre que se implementen procesos de validación, interoperabilidad y evaluación de su utilidad clínica y epidemiológica (Tamami et al., 2025).

9.5. Vigilancia proactiva del mobiloma en la unidad de cuidados intensivos

La Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) se configura como un ecosistema de alta presión selectiva donde la evolución microbiana no ocurre únicamente por mutación puntual, sino principalmente a través de la movilización masiva de determinantes genéticos entre poblaciones heterogéneas (Elshobary et al., 2025). La vigilancia proactiva del mobiloma definido como el conjunto total de elementos genéticos móviles (MGEs) como plásmidos, transposones e integrones trasciende el diagnóstico taxonómico tradicional al centrarse en las nanomaquinarias que orquestan la diseminación de la multirresistencia (Tamami Tualombo et al., 2025). Fisiopatológicamente, la transferencia horizontal de genes (HGT) en la UCI está impulsada por la coexistencia de pacientes críticos con microbiotas desestabilizadas y la

exposición incesante a antimicrobianos de amplio espectro, lo que crea una "tormenta evolutiva" perfecta para la fijación de genes de resistencia estructural en plataformas de alta movilidad (Elshobary et al., 2025).

Desde una perspectiva de biofísica molecular, el éxito de la vigilancia proactiva reside en la capacidad de resolver la arquitectura circular de los plásmidos multirresistentes, una tarea que históricamente ha colapsado ante la secuenciación de lectura corta debido a las secuencias repetitivas como los elementos de inserción IS26 o ISAbal (Hala et al., 2024). La implementación de la secuenciación de lectura larga (Long-read sequencing) mediante dispositivos de nanoporos permite capturar hebras continuas de ADN que abarcan el plásmido íntegro, facilitando la identificación de islas de multirresistencia donde coexisten genes de carbapenemasas (*blaKPC*, *blaNDM*) con determinantes de virulencia y resistencia a metales pesados (Hala et al., 2024). Como bien argumentan (Y. Wang, Zhao, et al., 2025), esta caracterización estructural es vital para entender la dinámica de estabilidad plasmídica, ya que la presencia de sistemas de toxina-antitoxina y maquinarias de partición asegura que el mobiloma persista incluso en ausencia de presión antibiótica directa, convirtiendo a la UCI en un reservorio crónico de resistencia.

La relevancia clínica de esta vigilancia es absoluta para el equipo de administración de antimicrobianos (ASP) y el control de infecciones (Elbehiry et al., 2025). Al monitorizar el flujo de plásmidos en tiempo real, es posible detectar la infiltración de un nuevo elemento móvil antes de que este se disemine a múltiples especies bacterianas dentro de la unidad (Hala et al., 2024). Investigaciones lideradas por (Hala et al., 2024) han demostrado que la reconstrucción del plasmidoma mediante ensamblaje híbrido permite mapear trayectorias de transmisión intra-paciente, identificando fenómenos de microevolución adaptativa donde el plásmido se remodela estructuralmente para optimizar su fitness metabólico bajo el estrés de la terapia combinada (Jaiswal et al., 2022). Hacia el futuro, la integración de estos datos genómicos en gemelos digitales (Digital Twins) de vigilancia permitirá simular el riesgo de diseminación de un gen específico, transformando el control de brotes en una intervención preventiva de precisión molecular (Bilal et al., 2025).

9.6. Integración de datos geoespaciales con perfiles de resistencia genética

La epidemiología genómica ha alcanzado una nueva dimensión analítica mediante la integración de datos geoespaciales, una metodología que superpone la arquitectura molecular del resistoma con la topografía física del hospital y el movimiento dinámico de pacientes y

personal sanitario (Bilal et al., 2025). Esta aproximación utiliza sistemas de información geográfica (GIS) y herramientas de visualización avanzada como ToxPi*GIS para mapear la distribución de clones de alto riesgo y determinantes genéticos en coordenadas específicas (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la transmisión de patógenos ESKAPE en el entorno nosocomial no es un proceso aleatorio, sino que está condicionado por la proximidad espacial y la conectividad funcional entre camas, estaciones de enfermería y áreas comunes, lo que genera "hotspots" o puntos calientes de colonización persistente (Bilal et al., 2025).

Técnicamente, la integración geoespacial se nutre de la secuenciación de genoma completo (WGS) para establecer la distancia genética entre aislados mediante el análisis de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) (Hasan et al., 2025). Como señalan (Bilal et al., 2025), la combinación de relojes moleculares con metadatos de ubicación permite identificar con precisión milimétrica la fuente de un brote puntual, diferenciándolo de la endemidad hospitalaria (Pauwels et al., 2025). Por ejemplo, el rastreo de linajes hipervirulentos de *Klebsiella pneumoniae* portadores de genes de sideróforos (*iro*, *iuc*) mediante modelos de análisis filodinámico espacial ha revelado que ciertas habitaciones actúan como nexos de transmisión cruzada debido a deficiencias en la limpieza terminal o a la presencia de reservorios inanimados no detectados (Y. Wang et al., 2025). La relevancia diagnóstica de este enfoque radica en su capacidad para guiar intervenciones de control de infecciones "quirúrgicas", centrando los recursos de desinfección y aislamiento en las áreas de mayor riesgo de expansión clonal (Peri et al., 2024).

Desde el prisma de la salud pública digital, la vigilancia geoespacial se expande bajo el enfoque "One Health", integrando datos del resistoma ambiental procedente de las aguas residuales hospitalarias y de la fauna circundante (Elbehiry et al., 2025). El uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) permite visualizar rutas de flujo génico no lineales entre reservorios externos y el paciente crítico, identificando cómo la contaminación ambiental por antibióticos pre-adapta a las bacterias para su posterior infiltración en el nicho clínico (Guerrero et al., 2025). En conclusión, la integración de la Resistómica Estructural con la inteligencia geoespacial constituye la brújula para navegar la complejidad de la transmisión nosocomial, asegurando que el hospital del siglo XXI sea un entorno monitorizado dinámicamente para salvaguardar la seguridad biológica del paciente (Tamami et al., 2025).

9.7. Detección de transmisión de plásmidos entre diferentes especies bacterianas en el hospital

El fenómeno de la transmisión inter-especie de plásmidos constituye el motor silente de la crisis de multirresistencia, permitiendo que determinantes de resistencia extrema, como el gen de resistencia a colistina *mcr-1* o las carbapenemasas *blaNDM*, transiten fluidamente entre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Tamami Tualombo et al., 2025). Fisiopatológicamente, este proceso está mediado por la conjugación bacteriana, donde la formación del pilo sexual y el sistema de secreción tipo IV (T4SS) permite la transferencia de macromoléculas de ADN entre géneros filogenéticamente distantes (Hala et al., 2024). La detección de estos eventos en el ámbito hospitalario requiere una disección de ultra-alta resolución, ya que el AST fenotípico convencional promedia la respuesta poblacional y es incapaz de identificar si la resistencia en dos especies diferentes proviene de un ancestro común móvil (Hala et al., 2024).

La metodología diagnóstica para capturar esta dinámica utiliza la secuenciación de nanoporos (ONT) para reconstruir el "plasmidoma estructural" (Hala et al., 2024). Al resolver la secuencia completa de plásmidos de amplio rango de hospederos (como los de la familia IncF o IncX), los clínicos pueden confirmar que un brote multiespécico en la UCI está siendo orquestado por una sola plataforma móvil (Hala et al., 2024). Como bien explican (Hala et al., 2024), el uso de herramientas bioinformáticas como Unicycler para el ensamblaje híbrido ha revelado que *K. pneumoniae* actúa frecuentemente como el "hub" o nexo central de resistencia, adquiriendo megaplásmidos híbridos que posteriormente "derraman" hacia otras enterobacterias del microbioma del paciente crítico (Tamami Tualombo et al., 2025). Esta capacidad de filtración génica es vital para la clínica, ya que la presencia de un plásmido multirresistente en una especie comensal predice la inminente emergencia de resistencia en el patógeno causante de la infección (Hala et al., 2024).

La relevancia de monitorizar el mobiloma funcional reside en la prevención del fracaso terapéutico paradójico mediado por la heterorresistencia (Bilal et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Guerrero et al., 2025) empleando Análisis de Datos Topológicos (TDA) han permitido visualizar nubes de conectividad genómica donde los plásmidos portadores de metalo-betalactamasas tipo VIM muestran una estabilidad estructural superior a pesar de las barreras taxonómicas (Tamami et al., 2025). Al integrar estos perfiles de transmisión con

modelos de aprendizaje profundo, es posible predecir la trayectoria evolutiva de un aislado, permitiendo al clínico ajustar el régimen de "doble inhibición" enzimática antes de que la resistencia se fije de manera irreversible en el reservorio hospitalario (Tamami Tualombo et al., 2025). En última instancia, la detección de la transmisión plasmídica inter-especie redefine el control de infecciones como una ciencia de vigilancia genómica proactiva, esencial para contener la marea de la multirresistencia global (Bilal et al., 2025).

9.8. Papel de las superficies inertes y el equipo médico en la diseminación de MDRO

El ambiente inanimado del hospital incluyendo superficies táctiles, sistemas de drenaje y equipos médicos de alta complejidad constituye el reservorio ecológico primordial que sustenta la persistencia y transmisión de organismos multirresistentes (MDRO) (Matzaras et al., 2025). Fisiopatológicamente, patógenos como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* han evolucionado adaptaciones estructurales, tales como el morfo-tipo Rdar (*red, dry and rough*) y la formación de biofilms maduros, que les confieren una resiliencia extraordinaria ante la desecación y los desinfectantes químicos (Michaelis & Grohmann, 2023). La monitorización genómica de estas superficies mediante metagenómica ambiental revela que los sifones y lavabos de las UCI actúan como "incubadores de endemidad", donde la biomasa bacteriana acumulada intercambia plásmidos de resistencia con la microbiota comensal antes de ser aerosolizada hacia pacientes susceptibles (S. Zhang et al., 2025).

Técnicamente, el papel de las superficies se ha esclarecido mediante el uso de la secuenciación de genoma completo (WGS) para vincular aislados ambientales con muestras clínicas de pacientes (Hasan et al., 2025). Como señalan (Matzaras et al., 2025), la identificación de linajes isogénicos de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas en el ambiente acuático del hospital y en hemocultivos positivos confirma una trayectoria de transmisión mediada por el entorno (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). El equipo médico, particularmente catéteres venosos y sondas, representa un nicho crítico donde la Resistencia Estructural se manifiesta a través de la colonización por bacterias que sobreexpresan bombas de eflujo de la familia RND, como el complejo AdeABC, las cuales no solo expulsan antibióticos sino también biocidas, facilitando la supervivencia subclonal (W. Wu et al., 2024). La relevancia clínica de estos hallazgos subraya la necesidad de transitar hacia protocolos de descontaminación disruptiva basados en la inteligencia genómica ambiental (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, la vigilancia del microbioma hospitalario integrará el uso de sensores bioquímicos en tiempo real y secuenciadores de nanoporos portátiles para monitorizar la carga de genes de resistencia en las superficies críticas (Elshobary et al., 2025). La aplicación de adyuvantes como la piperina o nanopartículas metálicas para inhibir la producción de biofilms en dispositivos médicos promete restaurar la eficacia de los programas de limpieza y prevenir la formación de santuarios de persistencia (W. Wu et al., 2024). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana exige reconocer que el entorno inerte es un participante activo en la evolución bacteriana; solo mediante una vigilancia del resistoma de campo que integre la ecología microbiana con la genómica de precisión, podremos interrumpir de manera efectiva las cadenas de transmisión que amenazan la viabilidad de la medicina moderna.

9.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Filogenómica se define por la tensión entre la explosión de capacidades diagnósticas y la persistente incertidumbre en la estandarización de los criterios de intervención clínica (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de los umbrales de SNPs para definir brotes; si bien se utilizan valores estandarizados (p. ej., ≤ 15 SNPs para enterobacterias), la velocidad de evolución bacteriana bajo la presión extrema de la UCI puede distorsionar estos relojes moleculares, conduciendo a falsos negativos en el rastreo de rutas de transmisión activa (Hasan et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre la detección genómica y la acción epidemiológica exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren la filogenia con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir la expansión de un clon con precisión estocástica.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto del enfoque "One Health" en la arquitectura de la vigilancia hospitalaria (S. Zhang et al., 2025). Aunque herramientas de Análisis de Datos Topológicos (TDA) han mapeado rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la contribución exacta de la contaminación por antibióticos en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria urbana sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad complejos (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el mapeo del mobiloma ambiental, identificando "puntos calientes" de evolución bacteriana antes de que nuevos determinantes se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la genómica de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y plataformas de bioinformática en el borde (*edge computing*) que automaticen la detección de variantes de resistencia en el punto de atención (Y. Li et al., 2024). La implementación de Gemelos Digitales (Digital Twins) de vigilancia epidemiológica, alimentados por flujos masivos de datos cinéticos y genómicos, permitirá simular intervenciones de control de infecciones "in silico" para identificar la estrategia más eficaz contra la diseminación de patógenos MDRO (Bilal et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma de salud pública, donde la Resistómica Estructural y la vigilancia digital sean los pilares para navegar una evolución microbiana que desafía las fronteras de la ciencia contemporánea (Tamami et al., 2025).

9.10. Implementación de tableros de control (dashboards) epidemiológicos en tiempo real

La digitalización de la microbiología clínica ha convertido en la creación de ecosistemas de inteligencia sanitaria, donde la implementación de tableros de control (dashboards) epidemiológicos permite la transición desde una vigilancia reactiva hacia una respuesta proactiva fundamentada en flujos de datos dinámicos (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la celeridad en la identificación de patrones de resistencia es determinante para la supervivencia en cuadros de sepsis grave, donde la "hora de oro" exige que los datos de susceptibilidad se traduzcan en decisiones terapéuticas en fracciones de tiempo inalcanzables para los métodos convencionales (Hattab et al., 2024). Estas plataformas digitales integran de manera sinérgica la información procedente de los Registros Electrónicos de Salud (EHR), los resultados de espectrometría de masas y los perfiles genómicos, permitiendo visualizar la expansión subclonal de patógenos ESKAPE en una interfaz geográfica y temporal unificada (Bilal et al., 2025).

Desde una perspectiva técnica, el uso de software libre de licencia como WHONET y la automatización de informes mediante algoritmos de procesamiento de lenguaje natural facilitan la generación de antibiogramas acumulativos que cumplen con los estándares internacionales de vigilancia, tales como los del sistema GLASS de la OMS (Bilal et al., 2025). Como bien señalan (Bilal et al., 2025), la interconexión de las alimentaciones de laboratorio con sistemas de alerta temprana permite disparar protocolos de Prevención y Control de

Infecciones (IPC) de manera instantánea ante la detección de un determinante de resistencia estructural crítico, como una carbapenemasa tipo NDM o un gen de resistencia a colistina *mcr-1* (Tamami Tualombo et al., 2025). Esta arquitectura digital no solo optimiza la gestión del inventario farmacéutico, sino que asegura que las políticas de administración de antimicrobianos (ASP) se ajusten a la realidad microbiológica local en tiempo real, minimizando la exposición a terapias de amplio espectro innecesarias (Boussios et al., 2023).

La relevancia clínica de estos tableros se potencia mediante la integración de datos geoespaciales y modelos de predicción de riesgo, que mapean la distribución de clones de alto riesgo en coordenadas específicas del hospital (Bilal et al., 2025). La combinación de relojes moleculares derivados de la secuenciación de nanoporos con metadatos de ubicación permite identificar con precisión milimétrica los nexos de transmisión cruzada, facilitando una intervención "quirúrgica" en las áreas de mayor riesgo de expansión clonal. En conclusión, los tableros epidemiológicos digitales constituyen el cerebro computacional de la Resistómica Clínica, transformando el flujo masivo de información genómica en una herramienta estratégica indispensable para salvaguardar la seguridad del paciente y contener la progresión de la multirresistencia en el entorno nosocomial (Tamami et al., 2025).

9.11. Bioinformática forense aplicada a la investigación de brotes infecciosos

La investigación de brotes nosocomiales ha alcanzado un nivel de resolución atómica gracias a la bioinformática forense, disciplina que utiliza la secuenciación de genoma completo (WGS) para reconstruir con precisión milimétrica las cadenas de transmisión bacteriana (Hasan et al., 2025). Fisiopatológicamente, este rastreo se sustenta en el análisis de la microevolución genómica, donde la acumulación de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) actúa como un cronómetro biológico que permite datar los eventos de divergencia entre aislados clínicos (Hala et al., 2024). A diferencia de las técnicas de tipificación clásicas, la bioinformática forense permite discernir si la aparición de múltiples casos de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos se debe a un ancestro común reciente o a múltiples introducciones independientes de linajes endémicos (Hasan et al., 2025).

La implementación analítica de estas investigaciones integra algoritmos especializados como DODGE (*point-source bacterial outbreak detection*), los cuales emplean modelos de probabilidad estocástica para identificar cúmulos de casos que se desvían de la tasa basal de variabilidad genómica (Hasan et al., 2025). Como bien demuestran (Guerrero-Flores et al., 2025), el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) permite capturar eventos de

transferencia horizontal de genes (HGT) que las filogenias tradicionales suelen ignorar, revelando cómo plásmidos multirresistentes transitan fluidamente entre diferentes especies bacterianas dentro de una misma unidad de cuidados intensivos (Guerrero-Flores et al., 2025). Esta capacidad diagnóstica es vital para la clínica, ya que permite identificar reservorios ambientales silenciosos, como sifones o equipos médicos mal descontaminados, que actúan como "incubadores evolutivos" del resistoma estructural (Pauwels et al., 2025).

La relevancia de la bioinformática forense radica en su capacidad para proporcionar pruebas irrefutables que guíen las intervenciones de salud pública hospitalaria (Bilal et al., 2025). La integración de perfiles de resistómica estructural con metadatos epidemiológicos facilita el mapeo del flujo genómico entre el microbioma humano y el entorno, permitiendo anticipar la trayectoria evolutiva de clones hipervirulentos (Hala et al., 2024). Hacia el futuro, la automatización de estos flujos bioinformáticos en plataformas de computación en el borde (*edge computing*) permitirá una vigilancia proactiva en tiempo real, transformando el control de brotes en una ciencia preventiva de precisión genómica (Tamami et al., 2025).

9.12. Impacto de las medidas de higiene en la dinámica poblacional del resistoma hospitalario

La arquitectura evolutiva del resistoma hospitalario es un proceso dinámico condicionado por la presión selectiva de los protocolos de higiene, donde la efectividad de las medidas de Prevención y Control de Infecciones (IPC) define la trayectoria de los clones multirresistentes (MDRO) (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, el ambiente inanimado actúa como un reservorio ecológico crítico; patógenos como *Acinetobacter baumannii* han desarrollado adaptaciones estructurales, tales como el morfo-tipo Rdar y la formación de biofilms densos, que les confieren una resiliencia extrema ante la desecación y los desinfectantes químicos (Michaelis y Grohmann, 2023). Investigaciones lideradas por (Y. Wang, Zhao, et al., 2025) mediante un meta-análisis de red han demostrado que la combinación de precauciones de contacto (CP) con el uso de gluconato de clorhexidina (CHG) y programas de administración de antimicrobianos (ASP) reduce drásticamente la tasa de adquisición de MDRO en unidades de cuidados intensivos (Peri et al., 2024).

El impacto de las medidas de higiene sobre la dinámica poblacional se manifiesta en una reducción de la biomasa bacteriana viable en superficies táctiles y sistemas de drenaje, los cuales actúan como "puntos calientes" para la transferencia horizontal de plásmidos (S. Zhang et al., 2025). Como señalan (Matzaras et al., 2025), la vigilancia genómica del ambiente

acuático hospitalario revela que la desinfección inadecuada de sifones permite que linajes de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas persistan y se aerosolizen hacia el paciente crítico, perpetuando estados de endemidad genómica (Y. Wang et al., 2025). La relevancia clínica de estas intervenciones es absoluta; la implementación de protocolos de higiene de manos robustos y la descontaminación dirigida mediante sensores bioquímicos en tiempo real disminuyen la carga de genes de resistencia estructural circulantes, alterando la ecología microbiana del hospital hacia perfiles menos agresivos (Bilal et al., 2025).

Desde el prisma de la medicina de precisión, el análisis crítico de la evidencia sugiere que las medidas de higiene no solo deben ser cuantitativas, sino también cualitativas, basándose en la vigilancia del resistoma de campo (Elbehiry et al., 2025). El uso de adyuvantes inhibidores de eflujo, como la piperina, integrados en superficies de contacto promete restaurar la susceptibilidad de bacterias colonizantes al impedir que las bombas de la familia RND expulsen los biocidas (W. Wu et al., 2024). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana exige que la higiene hospitalaria se reconozca como un modulador de la evolución bacteriana; solo mediante una integración de la inteligencia genómica ambiental con las prácticas de enfermería y limpieza, podremos interrumpir de manera efectiva las cadenas de transmisión que amenazan la viabilidad de la medicina contemporánea.

9.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Filogenómica se define por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades tecnológicas y la persistente incertidumbre en la estandarización de los criterios de intervención clínica (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de los umbrales de SNPs para definir la clonalidad en brotes activos; si bien se han establecido límites estandarizados (p. ej., ≤ 15 -20 SNPs para enterobacterias), la velocidad de mutación bacteriana bajo la presión extrema de la UCI puede distorsionar estos relojes moleculares, conduciendo a falsos negativos en el rastreo de rutas de transmisión (Hasan et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre la detección genómica y la acción epidemiológica exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren la filogenia con cinéticas de despolarización de membrana y datos de movimiento de pacientes en tiempo real para predecir la expansión de un clon con precisión estocástica (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real del enfoque "One Health" en la arquitectura de la vigilancia hospitalaria (S. Zhang et al., 2025). Aunque herramientas de

Análisis de Datos Topológicos (TDA) han mapeado rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y hábitats externos, la contribución exacta de la contaminación ambiental por antibióticos en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria urbana sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad de gran escala (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el mapeo del mobiloma ambiental, identificando "puntos calientes" de evolución bacteriana antes de que nuevos determinantes se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la genómica de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y plataformas de bioinformática en el borde (*edge computing*) que automaticen la detección de variantes en el punto de atención (Y. Li et al., 2024). La implementación de Gemelos Digitales (Digital Twins) de vigilancia epidemiológica, alimentados por flujos masivos de datos cinéticos y genómicos, permitirá simular intervenciones de control de infecciones "in silico" para identificar la estrategia más eficaz contra la diseminación de patógenos MDRO (Bilal et al., 2025). En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una transformación radical del paradigma de salud pública, donde la Resistómica Estructural y la vigilancia digital sean los pilares para navegar una evolución microbiana que desafía las fronteras de la ciencia contemporánea (Tamami et al., 2025).

SECCIÓN IV: GOBERNANZA ANTIMICROBIANA, IA PREDICTIVA Y EL ECOSISTEMA ONE HEALTH 2026

Capítulo 10:

Inteligencia Artificial Predictiva y Sistemas de Soporte a la Decisión

10.1. Algoritmos de aprendizaje profundo para la predicción de la susceptibilidad desde el espectro de masas

La evolución disruptiva de la microbiología diagnóstica ha propiciado que la espectrometría de masas, tradicionalmente restringida a la identificación taxonómica de géneros y especies, se transforme en una plataforma de caracterización funcional mediante el empleo de arquitecturas de redes neuronales profundas (DNN) (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la resistencia bacteriana no solo altera el genoma, sino que provoca una remodelación del proteoma y de las estructuras de la envoltura celular, generando firmas moleculares crípticas en los perfiles de ionización (Elshobary et al., 2025). El procesamiento analítico de estos datos mediante algoritmos de aprendizaje profundo permite la extracción de características no lineales a partir de picos de intensidad que corresponden a péptidos asociados con determinantes de resistencia, como las variaciones estructurales en las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) o en los componentes de las bombas de eflujo de la familia RND (W. Wu et al., 2024).

La metodología técnica para esta predicción se sustenta en la aplicación de funciones de activación softmax y optimizadores de gradiente estocástico, como el algoritmo Adam, los cuales mapean los vectores de logit procedentes de las capas ocultas hacia distribuciones de probabilidad de susceptibilidad farmacológica (Jia et al., 2024). Como bien explican (Matzaras et al., 2025), el entrenamiento de estos modelos con espectros de MALDI-TOF MS permite identificar aislados de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) con una precisión diagnóstica que supera el 90%, distinguiendo incluso entre diferentes tipos de casetes cromosómicos *SCCmec* gracias a la detección de sutiles desplazamientos en la relación masa/carga (m/z) de las proteínas ribosomales y de membrana (Pérez-Ibave et al., 2025). Esta celeridad diagnóstica es fundamental para la Resistómica Clínica, pues permite omitir la latencia de 24 a 48 horas requerida por los ensayos fenotípicos de microdilución en caldo, facilitando una intervención terapéutica de precisión en la "hora de oro" del paciente séptico (Bilal et al., 2025).

Desde una perspectiva de ingeniería biomédica, la integración de la metodología de aprendizaje por transferencia (transfer learning) permite que modelos pre-entrenados en grandes bases de datos genómicas ajusten sus parámetros para interpretar datos proteómicos específicos de un centro hospitalario, compensando la variabilidad técnica inherente a la instrumentación de espectrometría (Bilal et al., 2025). La relevancia clínica de este enfoque ha sido validada en patógenos de alta prioridad como *Campylobacter* spp. y *Acinetobacter baumannii*, donde la combinación de MALDI-TOF MS y aprendizaje automático ha demostrado una concordancia robusta con los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) determinados por métodos de referencia. En conclusión, la predicción de la susceptibilidad desde el espectro de masas representa la cúspide de la inteligencia proteómica, transformando un flujo de datos bioquímicos en una brújula predictiva para la administración racional de antimicrobianos en entornos de cuidados críticos (Tamami et al., 2025).

10.2. Sistemas de alerta temprana basados en redes neuronales para la detección de MDRO

La gestión epidemiológica contemporánea ha trascendido la vigilancia pasiva para adoptar modelos de inteligencia sanitaria proactiva, donde los sistemas de alerta temprana (EWS) alimentados por redes neuronales recurrentes (RNN) y redes de memoria a largo-corto plazo (LSTM) monitorizan la trayectoria de los organismos multirresistentes (MDRO) (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la colonización por patógenos ESKAPE y la posterior progresión hacia una infección invasiva están condicionadas por una red intrincada de variables del huésped, incluyendo la integridad de las barreras mucosas, el perfil de exposición previa a carbapenémicos y la dinámica del microbioma intestinal (Elbehiry et al., 2025). Estos algoritmos analizan de manera continua los Registros Electrónicos de Salud (EHR), capturando tendencias temporales y espaciales que preceden a la emergencia de brotes nosocomiales mediada por la transferencia horizontal de plásmidos hipervirulentos (Hala et al., 2024).

Como señalan Y. Li et al., (2024), el desarrollo de modelos de aprendizaje automático para predecir la colonización por MDRO al ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) permite una estratificación del riesgo con una sensibilidad quirúrgica, identificando factores de confusión estocásticos que los modelos de regresión logística convencionales suelen omitir (Y. Li et al., 2024). La integración de la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) en estos sistemas de alerta potencia la detección de determinantes de resistencia estructural, como los genes *blaNDM* o *mcr-1*, directamente desde muestras clínicas, disparando

protocolos de aislamiento y descontaminación dirigida mucho antes de que se confirme el crecimiento en cultivo (Bilal et al., 2025). Esta arquitectura digital se complementa con el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA), que facilita la visualización de rutas de transmisión no lineales entre reservorios ambientales y pacientes, revelando "hotspots" de endemidad genómica en superficies inertes y equipos médicos (Guerrero et al., 2025).

La relevancia de estos sistemas de alerta radica en su capacidad para optimizar la administración de antimicrobianos (Antimicrobial Stewardship) mediante la reducción del uso innecesario de terapias de amplio espectro (Bilal et al., 2025). Al anticipar la presencia de un clon de alto riesgo, como el linaje ST11-KL64 de *Klebsiella pneumoniae*, el clínico puede iniciar regímenes de "doble inhibición" enzimática de forma dirigida, minimizando el daño colateral a la microbiota comensal y previniendo la falla orgánica multiorgánica (Tamami et al., 2025). Hacia el futuro, la implementación de estos EWS en plataformas de computación en el borde (edge computing) asegurará que la vigilancia de la Resistómica Estructural sea una herramienta ubicua y reactiva en tiempo real, garantizando la resiliencia de los sistemas de salud frente a la evolución bacteriana incesante (Bilal et al., 2025).

10.3. IA para el diseño de terapias antibióticas personalizadas en tiempo real

La convergencia de la farmacometría digital y la inteligencia artificial generativa ha inaugurado la era de la personalización terapéutica dinámica, donde el diseño de regímenes antimicrobianos se ajusta estocásticamente a la interacción fármaco-patógeno intra-huésped (Esposito et al., 2025). Esta transformación se materializa a través de los Gemelos Digitales (Digital Twins), modelos virtuales que integran flujos masivos de datos cinéticos desde el aclaramiento renal en tiempo real del paciente hasta los niveles de expresión de bombas de eflujo cuantificados por RT-qPCR para simular la probabilidad de éxito bactericida (Jaiswal et al., 2022). Fisiopatológicamente, la eficacia de los nuevos betalactámicos y péptidos antimicrobianos (AMPs) depende críticamente de la saturación de los mecanismos de resistencia adaptativa, un equilibrio que la IA logra predecir mediante algoritmos de aprendizaje por refuerzo (Reinforcement Learning) (Elshobary et al., 2025).

Como bien argumentan (Boussios et al., 2023), el uso de plataformas web automatizadas para la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) permite recalibrar la dosis basándose en predicciones bayesianas, asegurando que la fracción libre del antibiótico se mantenga constantemente por encima de la CMI genotípica específica del aislado (Bilal et al., 2025). Este enfoque es vital para superar la barrera de impermeabilidad en patógenos como

Pseudomonas aeruginosa, donde la subexpresión de la porina OprD exige infusiones prolongadas o continuas para alcanzar densidades farmacológicas críticas en el periplasma (W. Wu et al., 2024). Además, la IA generativa facilita el descubrimiento y la optimización *de novo* de combinaciones sinérgicas y adyuvantes inhibidores de eflujo, como la piperina, que restauran la sensibilidad de las cepas MDRO al interferir con la bioenergética de la membrana (Liu et al., 2025).

La relevancia diagnóstica de integrar la IA en tiempo real reside en su capacidad para mitigar el fenómeno de la heterorresistencia y la emergencia de células persistentes (Bilal et al., 2025). Al monitorizar la cinética de despolarización de la membrana mediante sensores microfluídicos integrados con modelos de aprendizaje profundo, es posible ajustar la presión farmacológica para prevenir que subpoblaciones minoritarias transiten hacia una resistencia genética estable (Tamami et al., 2025). En conclusión, el diseño de terapias personalizadas mediante inteligencia artificial representa el núcleo operativo de la medicina de precisión infectológica, garantizando que cada intervención terapéutica sea una respuesta molecular específica a la arquitectura del resistoma del paciente, con el fin último de salvaguardar la viabilidad de la era antibiótica (Tamami et al., 2025).

10.4. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Gobernanza Antimicrobiana Digital está marcada por la tensión dialéctica entre la sofisticación tecnológica y la persistente incertidumbre en la validación clínica universal de los algoritmos predictivos (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el problema de la "caja negra" (black box) inherente a los modelos de aprendizaje profundo; si bien estas redes logran precisiones diagnósticas superiores al 95% para la predicción de CMIs a partir de WGS, la falta de interpretabilidad mecánica dificulta la confianza del clínico y la asunción de responsabilidad legal en caso de fracaso terapéutico (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la transición hacia una IA explicable (Explainable AI) es un requisito imperativo para integrar estos sistemas en las guías de práctica clínica internacionales (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto del enfoque "One Health" en la arquitectura de los sistemas de vigilancia global (Elbehiry et al., 2025). Aunque herramientas metagenómicas han permitido mapear la diseminación transfronteriza del resistoma entre reservorios ambientales y humanos, la magnitud de la contribución de la contaminación por metales pesados en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria sigue siendo difícil de

cuantificar sin modelos de probabilidad de gran escala (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la cama del paciente para incluir el monitoreo del mobiloma ambiental, identificando nexos de transferencia horizontal de genes antes de que nuevos determinantes de resistencia extrema se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala (LLMs) representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la quimioterapia convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural y la inteligencia artificial sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la supervivencia de la civilización moderna en la era post-antibiótica (Tamami Tualombo et al., 2025).

10.5. Procesamiento de lenguaje natural (PLN) para la vigilancia de antibióticos en historias clínicas

La transición de la vigilancia epidemiológica desde registros tabulares rígidos hacia la decodificación semántica de la narrativa médica constituye un avance disruptivo en la Gobernanza Antimicrobiana, donde el Procesamiento de Lenguaje Natural (PLN) permite extraer inteligencia operativa de las notas de evolución, informes de interconsulta y descripciones quirúrgicas (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, el éxito de la terapia dirigida depende de la correlación precisa entre la sintomatología inflamatoria del paciente y el inicio de la presión antibiótica óptima; sin embargo, gran parte de esta información reside en datos no estructurados que los sistemas de vigilancia convencionales no pueden procesar (Y. Wang et al., 2025). Mediante el empleo de arquitecturas de Transformadores (Hugging Face, BERT) y modelos de lenguaje de gran escala (LLMs), es posible identificar patrones de prescripción discordantes o la emergencia de efectos adversos sutiles, como la toxicidad pancreática o renal, antes de que se reflejen en los valores analíticos.

La metodología analítica del PLN en este entorno clínico se fundamenta en la extracción de entidades biomédicas (NER) y el mapeo de términos diagnósticos hacia códigos internacionales como el ICD-10 (Bilal et al., 2025). Como bien argumentan Han et al. (2024), el uso de librerías especializadas como SciSpaCy facilita la identificación de interacciones fármaco-patógeno complejas, permitiendo distinguir entre una portación colonizante y una verdadera sinergia infecciosa mediante el análisis del sentimiento y el contexto clínico del relato médico (Y et al., 2025). La relevancia clínica de esta tecnología es absoluta para los programas de administración de antimicrobianos (ASP), ya que permite realizar auditorías en tiempo real sobre la "etiqueta de prescripción", detectando la inercia terapéutica o el uso injustificado de carbapenémicos en pacientes cuya evolución clínica sugiere una desescalada precoz hacia agentes de espectro reducido (Bilal et al., 2025).

Desde el prisma de la Resistómica Clínica, el PLN se integra con herramientas de term-weighting (tf-idf) para priorizar historias clínicas de pacientes infectados por clones de alto riesgo, como el linaje hipervirulento ST2096 de *Klebsiella pneumoniae* (Tamami Tualombo et al., 2025). Al procesar miles de notas clínicas, los algoritmos pueden identificar "palabras clave" asociadas al fracaso terapéutico paradójico, como la persistencia de fiebre a pesar de una CMI in vitro favorable, alertando sobre la posible existencia de heterorresistencia poblacional o la presencia de plásmidos híbridos no detectados por el antibiograma estándar (Bilal et al., 2025). Hacia el futuro, la implementación de estos sistemas en plataformas de farmacometría digital permitirá ajustar la dosificación minuta a minuto, asegurando que la narrativa del paciente sea un sensor dinámico que guíe la medicina de precisión infectológica en la era de la multirresistencia extrema.

10.6. Modelos predictivos de riesgo de infección por bacterias multirresistentes al ingreso

La gestión proactiva del paciente crítico exige la capacidad de anticipar la colonización por organismos multirresistentes (MDRO) en la "hora de oro" de la admisión hospitalaria, donde la implementación de modelos predictivos basados en aprendizaje automático permite una estratificación del riesgo con precisión quirúrgica (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la vulnerabilidad del huésped ante la infiltración por patógenos ESKAPE está condicionada por un interactoma complejo de variables, que incluyen la integridad de las barreras mucosas, el historial de exposición previa a beta-lactámicos con inhibidores y la carga de comorbilidades cuantificada mediante el Índice de Charlson (Peri

et al., 2024). Estos algoritmos analizan de forma masiva los Registros Electrónicos de Salud (EHR), capturando covariables estocásticas que los modelos de regresión logística convencionales suelen omitir, tales como la proximidad geoespacial a pacientes portadores de *blaNDM* o el tiempo de estancia previo en unidades con alta endemicidad genómica (Y. Li et al., 2024).

La metodología analítica para la construcción de estos modelos integra técnicas de bosques aleatorios (Random Forest) y máquinas de vectores de soporte (SVM), las cuales han demostrado una sensibilidad superior al 90% en la predicción de la adquisición de enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE) (Bilal et al., 2025). Como bien explican (Y. Li et al., 2024), la validación de estos sistemas bajo la declaración TRIPOD asegura la transparencia y reproducibilidad de los resultados, facilitando la toma de decisiones sobre el aislamiento preventivo y el inicio de protocolos de descontaminación dirigida (Peri et al., 2024). La relevancia diagnóstica es absoluta en el manejo de brotes nosocomiales; al identificar tempranamente a los "pacientes puente", es posible interrumpir la trayectoria de transmisión de plásmidos multirresistentes antes de que el resistoma estructural se fije en el reservorio ambiental del hospital (Hala et al., 2024).

Desde la perspectiva de la salud pública digital, la integración de la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) con estos modelos de riesgo potencia la detección de determinantes de resistencia silentes directamente desde el microbioma intestinal del paciente al ingreso (Bilal et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Y. Li et al., 2024) subrayan que el uso de redes neuronales recurrentes (RNN) permite monitorizar la dinámica temporal de los factores de riesgo, disparando alertas de vigilancia proactiva cuando la probabilidad de infección invasiva supera un umbral crítico de (Bilal et al., 2025). En conclusión, los modelos predictivos al ingreso constituyen el primer escudo defensivo de la Gobernanza Antimicrobiana, transformando el flujo de datos del EHR en una herramienta estratégica indispensable para contener la progresión de la multirresistencia en el ecosistema sanitario moderno (Tamami et al., 2025).

10.7. Uso de la visión computacional en la interpretación automatizada de pruebas de susceptibilidad

La automatización de la microbiología diagnóstica ha alcanzado un hito fundamental mediante la aplicación de la visión computacional, tecnología que utiliza algoritmos de redes

neuronales convolucionales (CNN) para la interpretación de alta fidelidad de los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana (AST) (Luna-De-Alba et al., 2024). Fisiopatológicamente, la respuesta bacteriana a los fármacos se manifiesta a través de cambios biomecánicos en la integridad de la membrana y variaciones en la cinética de replicación, los cuales generan patrones de difracción y turbidez que la visión artificial logra cuantificar a nivel de píxel (Luna-De-Alba et al., 2024). La implementación de sistemas como el WASPLab, integrados con análisis de imagen digital de medios cromogénicos, permite la detección de colonias de enterococos resistentes a la vancomicina (VRE) o de MRSA en fracciones del tiempo requerido por la observación humana, eliminando la subjetividad del operador y estandarizando la lectura de los halos de inhibición (Bilal et al., 2025).

Desde un prisma analítico avanzado, el uso de la imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS) y la microscopía lens-free facilita el seguimiento en tiempo real del crecimiento bacteriano en microgotas picolítricas, permitiendo capturar el fenómeno de la latencia metabólica o persistencia (Graf et al., 2025). Como bien argumentan (Graf et al., 2025), el procesamiento computacional de estas firmas ópticas permite predecir los valores de CMI analizando la cinética de despolarización de la membrana bajo gradientes automatizados de antibióticos, proporcionando resultados procesables en menos de 5 horas (Graf et al., 2025). Esta rapidez es vital para saturar los mecanismos de eflujo activo de la familia RND, cuya sobreexpresión, detectada visualmente por cambios en el volumen citoplasmático bacteriano, correlaciona con la probabilidad de fracaso terapéutico in vivo (W. Wu et al., 2024).

La relevancia clínica de la visión computacional se extiende a la monitorización de biofilms maduros en superficies de dispositivos médicos (Bilal et al., 2025). El uso de aplicaciones móviles basadas en IA para la lectura de antibiogramas por disco-difusión permite democratizar el acceso al diagnóstico de precisión en entornos de recursos limitados, facilitando una intervención dirigida de alta fidelidad en la periferia sanitaria (Bilal et al., 2025). Hacia el futuro, la fusión de la visión artificial con sensores bioquímicos en tiempo real permitirá una vigilancia del resistoma de campo omnipresente, asegurando que cada hebra de información visual sea traducida en una decisión terapéutica que salvaguarde la eficacia de la medicina moderna frente a la crisis global de resistencia antimicrobiana.

10.8. Ética y transparencia en los algoritmos de decisión clínica para enfermedades infecciosas

La integración masiva de la inteligencia artificial en la práctica clínica infectológica ha suscitado un debate epistemológico y legal sobre la opacidad de los algoritmos de "caja negra", cuya falta de interpretabilidad mecanística compromete la asunción de responsabilidad médica ante desenlaces adversos (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la decisión terapéutica en un cuadro de sepsis por patógenos ESKAPE implica un equilibrio delicado entre la erradicación bacteriana acelerada y la preservación de la función orgánica del huésped; por tanto, el uso de modelos predictivos que sugieren regímenes de dosis altas de polimixinas o tigeciclina debe estar sustentado en una lógica médica explicable que el clínico pueda validar (Bilal et al., 2025). La ética de la inteligencia sanitaria exige que los algoritmos de decisión no solo operen con alta precisión diagnóstica, sino que respeten la autonomía del paciente y la integridad de la privacidad de los datos genómicos en el ecosistema digital.

La metodología para garantizar la transparencia analítica se centra en el desarrollo de la IA Explicable (XAI), utilizando técnicas como los valores SHAP o los mapas de prominencia para identificar qué determinantes genéticos o variables fisiológicas han condicionado la predicción de susceptibilidad farmacológica (Bilal et al., 2025). Como bien señalan (Bilal et al., 2025), la dependencia excesiva de modelos de lenguaje de gran escala (LLMs) para la consulta infectológica entraña el riesgo de sesgos algorítmicos o alucinaciones biológicas, lo que subraya la necesidad imperativa de mantener la supervisión humana experta sobre las recomendaciones generadas por la máquina. La relevancia clínica de este enfoque es determinante para evitar la estigmatización de grupos poblacionales en los modelos de riesgo de infección por MDRO, asegurando que la equidad sanitaria sea un pilar fundamental de la Gobernanza Antimicrobiana.

Desde el prisma regulatorio, la supervisión de estos sistemas por organismos como la FDA debe evolucionar para certificar la seguridad cibernética y la estabilidad evolutiva de los algoritmos frente a la microevolución bacteriana incesante (Bilal et al., 2025). La aplicación de principios de transparencia por diseño en los Gemelos Digitales de administración de antimicrobianos facilitará la transición hacia una medicina de precisión infectológica que sea tanto tecnológicamente avanzada como éticamente robusta. En conclusión, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere un nuevo contrato social entre la tecnología y la clínica, donde la Resistómica Estructural sea navegada con herramientas digitales que antepongan la

veracidad científica y la protección del paciente a la mera eficiencia computacional, salvaguardando así el futuro de la salud pública global (Tamami et al., 2025).

10.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Gobernanza Antimicrobiana Digital se define por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades diagnósticas y la persistente incertidumbre en la validación universal de los desenlaces terapéuticos (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de la CMI genotípica estimada por IA frente a la microdilución convencional; si bien herramientas de aprendizaje profundo logran precisiones superiores al 95% para enterobacterias, la magnitud real de la resistencia funcional en aislados con mecanismos de impermeabilidad adaptativa sigue siendo difícil de cuantificar sin la integración de la transcriptómica cuantitativa (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre genotipo y fenotipo exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos genómicos con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir el éxito clínico con precisión estocástica (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales no hospitalarios en la arquitectura de la vigilancia global bajo el enfoque "One Health" (Elbehiry et al., 2025). Aunque herramientas metagenómicas han permitido mapear la diseminación transfronteriza del resistoma entre aguas residuales, suelos agrícolas y el paciente crítico, la contribución exacta de la contaminación por metales pesados a la mortalidad hospitalaria urbana sigue siendo objeto de modelado estocástico complejo (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el monitoreo del mobiloma ambiental, identificando nexos de transferencia horizontal de genes antes de que nuevos determinantes de resistencia extrema se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

En las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era

antibiótica convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural y la inteligencia artificial explicable sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas (Tamami et al., 2025).

10.10. Validación clínica de herramientas de soporte a la decisión asistidas por IA

La transición de los modelos algorítmicos desde entornos controlados de desarrollo hacia la práctica clínica activa constituye un hito epistemológico en la Gobernanza Antimicrobiana, donde la validación clínica de las herramientas de soporte a la decisión asistidas por inteligencia artificial (IA) debe trascender la mera optimización de métricas estadísticas de precisión (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la toma de decisiones en el paciente séptico es un proceso de alta complejidad determinado por la interacción dinámica entre la carga del resistoma bacteriano y la respuesta inflamatoria sistémica del huésped (Elshobary et al., 2025). En este escenario, la validación de un modelo predictivo, como los sistemas de alerta temprana para sepsis basados en redes neuronales recurrentes, exige demostrar una reducción tangible en la latencia diagnóstica y una mejora en la tasa de supervivencia libre de disfunción multiorgánico. Como argumentan (Bilal et al., 2025), la eficacia de estas herramientas no reside únicamente en su capacidad de predecir la susceptibilidad fenotípica a partir de datos genómicos, sino en su integración fluida dentro de los flujos de trabajo clínicos para mitigar la inercia terapéutica.

La metodología analítica para la validación clínica se fundamenta en estudios prospectivos de implementación que evalúen el impacto de las recomendaciones algorítmicas sobre la elección del régimen antibiótico inicial (Bilal et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Y. Wang et al., 2025) han documentado que el uso de sistemas de soporte a la decisión en infecciones del tracto urinario permite un ajuste preciso de la terapia empírica, reduciendo la exposición innecesaria a fluoroquinolonas y cefalosporinas de amplio espectro sin comprometer los desenlaces clínicos de curación bacteriológica (Peri et al., 2024). Sin embargo, un reto crítico detectado es el fenómeno del sesgo de automatización (automation bias), donde el clínico podría delegar de forma acrítica su discernimiento diagnóstico a la recomendación de la máquina (Bilal et al., 2025). Por ello, la validación debe incorporar modelos de IA explicable (XAI), los cuales proporcionan una trazabilidad mecánica de por qué un aislado de *Klebsiella pneumoniae* hipervirulento ha sido clasificado como resistente

basándose en polimorfismos sutiles detectados por secuenciación metagenómica (Bilal et al., 2025).

La relevancia de este proceso de validación es absoluta para garantizar la equidad sanitaria y la seguridad del paciente (Bilal et al., 2025). Los algoritmos deben ser sometidos a escrutinios rigurosos para detectar sesgos poblacionales que podrían derivar de bases de datos genómicas subrepresentadas, asegurando que la Resistómica Clínica beneficie de igual manera a diversas etnias y regiones geográficas (Bilal et al., 2025). Hacia el futuro, la validación clínica de herramientas de IA se integrará con marcos regulatorios dinámicos, tales como los propuestos por la FDA, que certifiquen no solo el rendimiento estático del software, sino su capacidad de aprendizaje adaptativo frente a la microevolución bacteriana incesante, garantizando que el soporte a la decisión evolucione al mismo ritmo que los patógenos MDRO (Bilal et al., 2025).

10.11. Reducción de la variabilidad clínica mediante protocolos automatizados de administración

La heterogeneidad en las prácticas de prescripción y administración de antimicrobianos constituye uno de los principales motores de la emergencia de resistencias; por ello, el desarrollo de protocolos automatizados de administración representa una estrategia cardinal para la estandarización de la farmacoterapia de precisión (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, el éxito de los betalactámicos y otros agentes tiempo-dependientes está supeditado al mantenimiento de concentraciones libres por encima de la CMI genotípica ($fT > CMI$), un equilibrio que se ve comprometido por la variabilidad inter-individual en el volumen de distribución y el aclaramiento renal aumentado (ARC) del paciente crítico (Boussios et al., 2023). La automatización de estos procesos se materializa mediante el uso de Gemelos Digitales (Digital Twins), modelos virtuales que mimetizan la fisiología del paciente y recalculan dinámicamente la dosis óptima basándose en flujos de datos cinéticos capturados por monitorización terapéutica de fármacos (TDM) en tiempo real (Esposito et al., 2025).

Como señalan (Choi et al., 2025), la implementación de aplicaciones web automatizadas para la TDM permite eliminar el error humano en la interpretación de los niveles plasmáticos, ajustando los regímenes de infusión (extendida o continua) para saturar los mecanismos de eflujo activo de la familia RND en patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* (W. Wu et al., 2024). Estos protocolos automatizados actúan sobre la mecanotransducción de la administración, asegurando que cada miligramo de fármaco se posicione dentro del rango

bactericida óptimo y minimizando el riesgo de toxicidad colateral, como la neurotoxicidad por carbapenémicos o la nefrotoxicidad por polimixinas (Bilal et al., 2025). La relevancia clínica de este enfoque en los programas de administración de antimicrobianos (ASP) es determinante, ya que facilita la desescalada dirigida precoz al integrar datos de susceptibilidad molecular instantánea con la evolución clínica del paciente (Bilal et al., 2025).

Desde la perspectiva de la inteligencia sanitaria, la automatización permite capturar el resistoma funcional activo del foco infeccioso mediante modelos de aprendizaje por refuerzo, los cuales aprenden de cada trayectoria terapéutica exitosa para refinar los protocolos de dosificación poblacionales (Bilal et al., 2025). Esta reducción de la variabilidad clínica es vital para prevenir la emergencia de subpoblaciones heteroresistentes que suelen florecer bajo la presión antibiótica subóptima y errática (Bilal et al., 2025). En conclusión, los protocolos automatizados de administración constituyen la infraestructura operativa de la Resistómica de Precisión, transformando el hospital en un entorno de inteligencia reactiva que antepone la exactitud farmacométrica a la inercia de la praxis convencional.

10.12. Integración de datos multiómicos en plataformas de inteligencia sanitaria

La consolidación de una medicina de precisión infectológica requiere la fusión analítica de múltiples capas de información biológica, donde la integración de datos multiómicos en plataformas de inteligencia sanitaria permite decodificar el interactoma complejo entre el patógeno, el huésped y el entorno (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la resistencia antimicrobiana no es un atributo genético estático, sino una propiedad emergente de redes de regulación que abarcan desde el genoma estructural hasta el metaboloma dinámico (Elshobary et al., 2025). Estas plataformas integran de manera sinérgica datos de secuenciación de genoma completo (WGS), perfiles de metatranscriptómica cuantitativa que reflejan la expresión real de las bombas de eflujo *in vivo* y datos proteómicos obtenidos por espectrometría de masas para predecir el fracaso terapéutico con una resolución multi-dimensional.

Desde una perspectiva de ingeniería de datos, el procesamiento de este flujo masivo de información exige procesos rigurosos de limpieza y preprocesamiento de datos, eliminando duplicidades genómicas y normalizando las señales proteómicas para alimentar algoritmos de aprendizaje automático no supervisado, como el clustering de K-means (Bilal et al., 2025). Como bien argumentan (Alcock et al., 2023), el uso de modelos de IA multimodal permite identificar biomarcadores de resistencia crípticos que las herramientas genómicas cualitativas suelen omitir, tales como cambios en la fluidez de la membrana bacteriana detectados mediante

firmas ópticas microfluídicas (Bilal et al., 2025). La relevancia clínica de esta integración radica en su capacidad para ofrecer un fenotipado holístico del paciente infectado por clones de alto riesgo, guiando la selección de combinaciones sinérgicas de antibióticos y adyuvantes que actúen sobre diferentes niveles de la maquinaria celular bacteriana (Tamami et al., 2025).

La arquitectura de estas plataformas de inteligencia sanitaria se expande bajo el enfoque "One Health", incorporando datos del resistoma ambiental procedentes de reservorios de aguas residuales y suelos agrícolas (Elbehiry et al., 2025). El empleo de Análisis de Datos Topológicos (TDA) dentro de estas plataformas facilita la visualización de rutas de transferencia horizontal de genes no lineales, revelando cómo plásmidos multirresistentes portadores de genes *mcr-1* o *blaNDM* transitan fluidamente entre el microbioma humano y los ecosistemas circundantes (Bilal et al., 2025). En conclusión, la integración multiómica representa el cerebro computacional de la Gobernanza Antimicrobiana Moderna, asegurando que cada decisión terapéutica sea una síntesis de la realidad molecular del paciente, protegiendo así la eficacia de los antimicrobianos para las generaciones futuras (Tamami et al., 2025).

10.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Gobernanza Antimicrobiana Digital está marcada por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades diagnósticas y la persistente brecha en la validación ética de los algoritmos predictivos (Tamami et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la interpretabilidad de los modelos de "caja negra"; aunque arquitecturas de aprendizaje profundo logran precisiones diagnósticas superiores al 95% para la predicción de CMIs a partir de WGS, la ausencia de una explicación mecanística dificulta la asunción de responsabilidad legal y médica en caso de desenlaces adversos (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la transición hacia una IA explicable (Explainable AI) no es solo un requisito técnico, sino un imperativo ético para integrar estas herramientas en las guías de práctica clínica internacionales.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales no hospitalarios en la arquitectura de la resistencia global bajo el enfoque "One Health" (Elbehiry et al., 2025). Aunque herramientas de metagenómica a gran escala han permitido mapear la diseminación transfronteriza del resistoma entre aguas residuales y el paciente crítico, la contribución exacta de la contaminación por metales pesados en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria por patógenos ESKAPE sigue siendo objeto de modelado estocástico complejo (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica

ambiental debe ser integrada como un componente centinela de los sistemas de inteligencia sanitaria para anticipar la infiltración de nuevos determinantes de resistencia extrema, como las variantes de *blaOXA-48*, antes de que se establezcan clínicamente (S. Zhang et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la genómica de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles y dispositivos lab-on-a-chip integrados con bioinformática en el borde (*edge computing*) (Ardila et al., 2023). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del resistoma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala (LLMs) representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una transformación radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la inteligencia artificial y la ética de datos sean los pilares para navegar una evolución microbiana que desafía las fronteras de la ciencia contemporánea (Tamami et al., 2025).

Capítulo 11:

Programas PROA 2.0: Gobernanza y Administración de Antimicrobianos

11.1. Evolución de los equipos PROA hacia la gestión de datos genómicos

La arquitectura de los Programas de Optimización del Uso de Antimicrobianos (PROA) ha experimentado una metamorfosis estructural, transitando desde modelos de auditoría retrospectiva basados en el fenotipo hacia un ecosistema de Gobernanza 2.0 que integra flujos masivos de datos genómicos en tiempo real (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la administración de antimicrobianos en la era de la multirresistencia extrema no puede depender de la latencia diagnóstica inherente a los cultivos convencionales; la supervivencia en cuadros de choque séptico está condicionada por la capacidad de los equipos PROA para identificar, en la "hora de oro", el resistoma estructural del patógeno (Elshobary et al., 2025). Como bien señalan (Hasan et al., 2025), la evolución de estos equipos hacia la Resistómica de Precisión exige la incorporación de especialistas en bioinformática clínica que interpreten las firmas genómicas obtenidas mediante secuenciación de lectura larga (ONT), permitiendo detectar no solo la especie bacteriana, sino la estabilidad de sus megaplásmidos portadores de carbapenemasas tipo NDM o KPC (Hala et al., 2024).

La implementación analítica de esta evolución se sustenta en la creación de Sistemas de Aprendizaje Antimicrobiano (Antimicrobial Learning Systems), los cuales fusionan datos genómicos con los registros electrónicos de salud (EHR) para generar perfiles de riesgo individualizados (Bilal et al., 2025). Estos sistemas utilizan algoritmos de aprendizaje profundo para predecir el éxito terapéutico de los nuevos betalactámicos, evaluando cómo las mutaciones en los reguladores de las bombas de eflujo, como el gen *mexR* en *Pseudomonas aeruginosa*, alterarán la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) funcional intra-paciente (W. Wu et al., 2024). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la gestión de datos genómicos permite a los equipos PROA realizar una vigilancia del mobiloma proactiva, identificando trayectorias de transferencia horizontal de genes entre el microbioma intestinal del paciente y el patógeno invasor antes de que se consume el fracaso bacteriológico (Elshobary et al., 2025).

La relevancia de esta transición radica en la capacidad de los equipos PROA para orquestar intervenciones "quirúrgicas" de control de infecciones (Elbehiry et al., 2025). Al monitorizar el flujo genómico en las unidades de cuidados intensivos, es posible identificar reservorios ambientales silenciosos, como equipos médicos mal descontaminados o sistemas de drenaje que actúan como "incubadores evolutivos", permitiendo que los protocolos de

higiene se basen en la realidad molecular del nicho clínico (Pauwels et al., 2025). En conclusión, la evolución hacia los Programas PROA 2.0 constituye el pilar operativo de la medicina de precisión infectológica, donde la gobernanza de los datos genómicos es la brújula para navegar una crisis de resistencia que desafía la resiliencia de la civilización moderna (Tamami et al., 2025).

11.2. Indicadores de calidad en la administración de antibióticos de última generación

La optimización de la farmacoterapia dirigida contra patógenos MDRO exige la definición de indicadores de calidad multidimensionales que trasciendan la mera reducción del consumo volumétrico, enfocándose en la adecuación molecular y la precisión farmacocinética de los regímenes administrados (Boussios et al., 2023). Fisiopatológicamente, la eficacia de los nuevos inhibidores de betalactamasas, como el avibactam o el vaborbactam, está intrínsecamente supeditada al cumplimiento de los objetivos de exposición libre no ligada ($fT > CMI$), un parámetro que se ve distorsionado por la variabilidad inter-individual en el aclaramiento renal aumentado (ARC) del paciente crítico (Boussios et al., 2023). Los indicadores PROA modernos deben incorporar métricas de Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA) superiores al 90% para aislados con perfiles de porinas restrictivos, asegurando que el flujo de antibiótico supere la capacidad catalítica de las enzimas periplasmáticas (W. Wu et al., 2024).

Como señalan (Pauwels et al., 2025), el uso de la clasificación AWaRe (Access, Watch, Reserve) de la Organización Mundial de la Salud constituye el estándar de oro para monitorizar la calidad de la prescripción, estableciendo que al menos el 60-70% del consumo hospitalario total debe provenir del grupo de "Acceso" para prevenir la selección innecesaria de clones hipervirulentos (Pauwels et al., 2025). Sin embargo, en centros de alta complejidad, la calidad se mide mediante el indicador de "Tiempo hasta la Terapia Efectiva Molecularmente Dirigida", el cual evalúa la rapidez con la que el régimen empírico se ajusta tras la identificación genómica del aislado (Peri et al., 2024). La relevancia diagnóstica de este indicador se potencia mediante la integración de Gemelos Digitales (Digital Twins) en el proceso de dosificación, permitiendo documentar el porcentaje de pacientes que alcanzan niveles valle terapéuticos en las primeras 24 horas de tratamiento, minimizando así el riesgo de toxicidad pancreática o renal asociada a antibióticos de último recurso como la colistina (Boussios et al., 2023).

Desde el prisma de la gobernanza, los indicadores de calidad deben incluir la monitorización de la resiliencia del microbioma comensal, cuantificada mediante perfiles de

secuenciación de ARNr 16S en pacientes expuestos a carbapenémicos (Elbehiry et al., 2025). Un indicador de éxito fundamental es la tasa de desescalada dirigida hacia antibióticos de espectro reducido tras la obtención de un resultado de mNGS negativo para genes de resistencia crítica, lo que protege la diversidad ecológica del huésped y reduce el riesgo de infecciones secundarias por *Clostridioides difficile* (Peri et al., 2024). En conclusión, los indicadores de calidad 2.0 transforman la administración de antimicrobianos en una ciencia de datos reactiva, garantizando que cada dosis administrada sea una respuesta precisa a la arquitectura estructural del resistoma y a la fisiología dinámica del paciente séptico.

11.3. Economía de la salud aplicada a la implementación de tecnologías de diagnóstico rápido

La viabilidad financiera de los sistemas de salud contemporáneos ante la marea de la multirresistencia extrema depende de un análisis crítico de la economía de la salud, donde la inversión inicial en tecnologías de diagnóstico rápido (RDTs) se justifica por la mitigación masiva de los costes indirectos derivados de las infecciones nosocomiales (Peri et al., 2024). Fisiopatológicamente, la estancia prolongada en las unidades de cuidados intensivos, impulsada por el fracaso terapéutico de las terapias empíricas inadecuadas, genera una carga económica logarítmica asociada al soporte multiorgánico y a la disfunción endotelial persistente (Hattab et al., 2024). Como bien explican (Peri et al., 2024), la implementación de plataformas de PCR multiplex y espectrometría de masas MALDI-TOF integradas con programas PROA logra una reducción neta en la duración de la hospitalización (LOS) y en el uso innecesario de antibióticos de alto coste, equilibrando la balanza de coste-efectividad hacia el ahorro institucional (Peri et al., 2024).

La metodología analítica para evaluar el impacto económico utiliza modelos de Análisis de Coste-Utilidad (CUA) y años de vida ajustados por calidad (QALYs), incorporando variables estocásticas como la reducción de la mortalidad por sepsis grave (Feduniw et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Feduniw et al., 2025) han documentado que el uso de pruebas de Punto de Atención (Point-of-Care), como la cuantificación de Proteína C-Reactiva (PCR) o procalcitonina, permite evitar el inicio de tratamientos innecesarios en un porcentaje significativo de infecciones respiratorias agudas, con un coste por infección evitada que resulta competitivo frente a las intervenciones preventivas tradicionales (Feduniw et al., 2025). La relevancia clínica de estas tecnologías se expande con el desarrollo de dispositivos de microfluídica Lab-on-a-Chip, los cuales ofrecen una identificación rápida de patógenos

ESKAPE en menos de 5 horas, facilitando una intervención dirigida de alta fidelidad que previene la progresión hacia estados de choque refractario (Graf et al., 2025).

Desde la perspectiva de la gobernanza global, la democratización del acceso a las RDTs en entornos de recursos limitados es un imperativo ético y económico (Bilal et al., 2025). El uso de modelos de suscripción antimicrobiana (Antimicrobial Subscription Models), combinados con la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) asistida por inteligencia artificial, permite optimizar el inventario de antibióticos de "última línea", asegurando que su uso se restrinja a pacientes con perfiles genómicos confirmados (Boussios et al., 2023). En conclusión, la economía de la salud aplicada a la microbiología diagnóstica demuestra que el diagnóstico rápido no es un gasto, sino una inversión estratégica indispensable para salvaguardar la viabilidad de la medicina moderna y contener la hemorragia financiera provocada por la pandemia silenciosa de la resistencia antimicrobiana (Bilal et al., 2025).

11.4. Estrategias de comunicación para la desescalada antibiótica basada en mNGS

La consolidación de la medicina de precisión infectológica requiere una transformación en la prescripción narrativa, donde las estrategias de comunicación de los equipos PROA logren traducir la complejidad de la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) en decisiones clínicas procesables de desescalada antibiótica (W. Zhao et al., 2025). Fisiopatológicamente, la inercia terapéutica en el paciente crítico es impulsada por el miedo al infratratamiento de focos profundos, como el líquido cefalorraquídeo o el tejido óseo; sin embargo, la mNGS ofrece una sensibilidad diagnóstica superior al 90% incluso en muestras de baja biomasa, permitiendo descartar con alta fidelidad la presencia de genes de resistencia extrema como *bla*NDM-5 o *mcr*-1 (W. Zhao et al., 2025). Como señalan (Matzaras et al., 2025), la comunicación efectiva de estos resultados negativos es vital para que el clínico responsable acepte retirar antibióticos de amplio espectro, protegiendo así la homeostasis del microbioma intestinal del paciente (Elbehiry et al., 2025).

La implementación analítica de estas estrategias se apoya en el uso de "Antibiotic Time-outs" de 48 a 72 horas, donde el equipo PROA presenta al facultativo un resumen gráfico del interactoma molecular del paciente (Elshobary et al., 2025). Esta interfaz de comunicación debe utilizar la inteligencia artificial multiómica para visualizar la ausencia de determinantes de resistencia estructural, reforzando la seguridad biológica de transitar desde una terapia combinada masiva hacia una monoterapia de espectro reducido (Bilal et al., 2025). Según argumentan (Elbehiry et al., 2025), la transparencia en el reporte metagenómico detallando la

profundidad de cobertura y la ausencia de variantes alostéricas en las porinas es determinante para construir la confianza mutua entre el laboratorio de microbiología y las unidades de cuidados críticos (Elbehiry et al., 2025).

La relevancia de esta comunicación radica en la mitigación del fenómeno de la heterorresistencia poblacional, donde el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro puede seleccionar subpoblaciones minoritarias persistentes (Bilal et al., 2025). Las estrategias PROA 2.0 integran perfiles de metabolómica cinética para evidenciar que el patógeno ha entrado en una fase de muerte celular irreversible, justificando una desescalada precoz incluso ante cuadros clínicos complejos. En conclusión, la comunicación para la desescalada basada en mNGS constituye el cerebro narrativo de la Gobernanza Antimicrobiana, asegurando que el poder del diagnóstico genómico se traduzca en una praxis clínica ética y ecológicamente responsable que preserve el limitado arsenal antibiótico para las generaciones futuras (Tamami et al., 2025).

11.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Gobernanza Antimicrobiana 2.0 está marcada por la tensión dialéctica entre la sofisticación tecnológica de los equipos PROA y la persistente brecha en la estandarización ética de las intervenciones asistidas por inteligencia artificial (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo del resistoma silente; si bien la mNGS identifica con precisión la presencia de genes de resistencia, la magnitud real de la expresión enzimática *in vivo* bajo condiciones de estrés oxidativo sigue siendo difícil de cuantificar sin la integración de la metatranscriptómica cuantitativa (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre la detección de un gen como *blaOXA-23* y el fracaso terapéutico clínico exige el desarrollo de modelos de IA explicable (XAI) que permitan al clínico validar la lógica del soporte a la decisión antes de modificar un esquema terapéutico crítico (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto del enfoque "One Health" en la arquitectura de los programas PROA hospitalarios (Elbehiry et al., 2025). Aunque herramientas de Análisis de Datos Topológicos (TDA) han mapeado rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y reservorios ambientales, la contribución exacta de la contaminación por antibióticos en suelos agrícolas a la mortalidad hospitalaria urbana sigue siendo objeto de modelado estocástico complejo (Guerrero-Flores et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la cama del paciente para incluir el

monitoreo del mobiloma ambiental, identificando nexos de transferencia de plásmidos multirresistentes antes de que nuevos determinantes se filtren en la población hospitalaria (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición *in situ* del resistoma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la inteligencia artificial y la gobernanza digital sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas, asegurando la supervivencia de la civilización moderna (Tamami et al., 2025).

11.6. Impacto de la regulación internacional en la disponibilidad de nuevos antibióticos

La arquitectura regulatoria global enfrenta hoy una paradoja existencial, mientras la evolución bacteriana acelera hacia fenotipos de resistencia total, el motor de innovación farmacológica se encuentra en un estado de letargo sistémico debido a fallos estructurales en el mercado de antimicrobianos (Vitale et al., 2021). Fisiopatológicamente, el éxito de un nuevo antibiótico contra patógenos ESKAPE depende de su capacidad para eludir los mecanismos de Resistómica Estructural, como las bombas de eflujo de la familia RND o la impermeabilidad por porinas defectuosas; sin embargo, bajo el paradigma de gobernanza actual, el éxito clínico de estas moléculas es decir, su uso restringido para preservar su eficacia precipita su fracaso comercial (W. Wu et al., 2024). Las regulaciones internacionales, lideradas por agencias como la FDA y la EMA, están transitando hacia modelos de incentivos de desvinculación (de-linkage), donde el retorno de la inversión para la industria no dependa del volumen de ventas, sino del valor social intrínseco de la molécula como bien público (Elbehiry et al., 2025).

Como bien explican (Y. Wang et al., 2025), estrategias legislativas como la Ley PASTEUR en los Estados Unidos o los modelos de suscripción implementados por el NHS en el Reino Unido representan un cambio de paradigma en la economía de la salud (Congress.gov, 2023; NHS, 2024). Estos modelos operan bajo una lógica de "seguro médico de antibióticos",

donde los sistemas de salud pagan una tarifa fija anual para asegurar el acceso a fármacos de última línea, como el cefiderocol o las nuevas combinaciones de betalactámicos con inhibidores, independientemente de la carga de prescripción real (Elbehiry et al., 2025). La relevancia clínica de este enfoque radica en que permite que los programas de administración de antimicrobianos (ASP) mantengan estas moléculas en la "Reserva" (según la clasificación AWaRe de la OMS), garantizando que su potencia catalítica no se vea erosionada por una presión selectiva innecesaria.

Desde la perspectiva de la vigilancia regulatoria, el impacto de estas políticas se monitoriza mediante indicadores de estabilidad del pipeline, evaluando si los nuevos agentes poseen mecanismos de acción verdaderamente innovadores o si son meras optimizaciones de familias preexistentes (Vitale et al., 2021). Investigaciones lideradas por (Vitale et al., 2021) subrayan que el análisis crítico de la evidencia revela una brecha alarmante en el desarrollo de fármacos dirigidos específicamente contra bacterias Gram negativas XDR, lo que exige una coordinación internacional que alinee los procesos de validación clínica con las necesidades epidemiológicas de cada región (Elbehiry et al., 2025). En conclusión, la regulación internacional constituye el cerebro macroeconómico de la Resistómica de Precisión, asegurando que la medicina moderna disponga de las herramientas moleculares necesarias para intervenir en cuadros de sepsis refractaria sin comprometer la sostenibilidad del arsenal terapéutico global.

11.7. Políticas de acceso y equidad en el diagnóstico de precisión microbiológico

La democratización de las tecnologías de diagnóstico rápido (RDTs) y la secuenciación metagenómica constituye el pilar ético de la Gobernanza 2.0, pues la equidad sanitaria en la era digital no solo implica el acceso al antibiótico, sino la capacidad de prescribirlo bajo la guía de la inteligencia molecular (Elbehiry et al., 2025). Fisiopatológicamente, la disparidad en el acceso a pruebas como la PCR multiplex o la secuenciación de nanoporos (ONT) en entornos de recursos limitados (LMICs) perpetúa ciclos de mortalidad elevada, ya que la ausencia de datos de susceptibilidad molecular obliga al clínico a utilizar terapias empíricas de amplio espectro, acelerando paradójicamente la selección de resistencias en nichos de alta vulnerabilidad. Como señalan (Matzaras et al., 2025), las barreras para la equidad diagnóstica trascienden el coste del equipo, abarcando deficiencias estructurales en el mantenimiento de la cadena de frío, la inestabilidad del suministro eléctrico y la escasez de personal capacitado en bioinformática clínica.

La implementación analítica de políticas de equidad se fundamenta en el desarrollo de dispositivos de microfluídica Lab-on-a-Chip y sensores diagnósticos "extreme point-of-care", diseñados para operar fuera de laboratorios centralizados y proporcionar resultados procesables en menos de 5 horas (Graf et al., 2025). Estas herramientas permiten la detección de genes de resistencia estructural, como *blaNDM-5* o *mcr-1*, directamente desde muestras de orina o sangre en clínicas rurales, facilitando una intervención dirigida de alta fidelidad que previene la diseminación de clones de alto riesgo (Elbehiry et al., 2025). Como bien argumentan (Elbehiry et al., 2025), la integración de estas plataformas con sistemas de tele-microbiología permite que expertos distantes interpreten perfiles genómicos complejos, superando la latencia diagnóstica y garantizando que la medicina de precisión no sea un privilegio de los centros de excelencia urbanos (Elbehiry et al., 2025).

La relevancia de esta aproximación bajo el enfoque "One Health" es absoluta, ya que la vigilancia del resistoma en comunidades desatendidas actúa como un sistema de alerta temprana para la salud global (S. Zhang et al., 2025). El uso de modelos de Análisis de Datos Topológicos (TDA) para mapear la transferencia horizontal de plásmidos entre reservorios ambientales y humanos en regiones con saneamiento deficiente revela la urgencia de integrar la vigilancia genómica en las políticas de salud pública nacionales (Guerrero et al., 2025). En conclusión, las políticas de acceso y equidad deben garantizar que la Resistómica Estructural sea una herramienta ubicua, transformando el diagnóstico microbiológico de una métrica estadística en un derecho humano fundamental para salvaguardar la vida en la era post-antibiótica.

11.8. Educación médica continua en resistómica estructural para prescriptores

La metamorfosis de los equipos PROA hacia la gestión de datos genómicos exige una redefinición de las competencias clínicas, donde la educación médica continua en resistómica estructural se convierte en el motor de cambio conductual para los prescriptores (Elbehiry et al., 2025). Fisiopatológicamente, la comprensión de por qué un antibiótico fracasa no puede limitarse a la lectura de una CMI en papel; el prescriptor moderno debe entender la dinámica biofísica de la interacción fármaco-patógeno, reconociendo cómo fenómenos como la heterorresistencia poblacional o la latencia metabólica invalidan el AST fenotípico convencional. Como explican (Pauwels et al., 2025), el entrenamiento debe trascender el conocimiento técnico para enfocarse en la resolución de problemas en entornos reales,

utilizando simulaciones basadas en casos clínicos multiómicos que integren perfiles de WGS con parámetros de farmacocinética poblacional (Boussios et al., 2023).

La metodología pedagógica para el PROA 2.0 incorpora el uso de hubs de aprendizaje compartido (Drive-AMS) y redes de mentoría inter-hospitalarias que facilitan la traducción de datos genómicos en decisiones de desescalada (Pauwels et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Y. Wang et al., 2025) subrayan que el comportamiento prescriptivo está influenciado por la "etiqueta de prescripción" y la jerarquía médica, lo que exige intervenciones de ciencias sociales para dismantelar la inercia terapéutica que perpetúa el uso de carbapenémicos ante el miedo a lo desconocido molecular (Charani et al., 2024; Lorencatto et al., 2018). El uso de "Antibiotic Time-outs" asistidos por herramientas de inteligencia artificial explicable (XAI) permite al clínico validar la lógica del soporte a la decisión, reforzando la confianza en el diagnóstico de precisión microbiológico (Bilal et al., 2025).

La relevancia de esta educación es determinante para el éxito de los programas de administración de antimicrobianos pediátricos y neonatales, donde la vulnerabilidad del microbioma en desarrollo exige una precisión extrema en la dosificación (Esposito et al., 2025). Los prescriptores deben ser capacitados en la interpretación de perfiles de metatranscriptómica cuantitativa, reconociendo que la detección de un gen de resistencia silente no siempre correlaciona con la ineficacia clínica si los niveles de expresión son basales (Jaiswal et al., 2022). Hacia el futuro, la educación continua integrará el uso de Gemelos Digitales (Digital Twins) de formación, permitiendo a los facultativos experimentar con diferentes regímenes terapéuticos "in silico" antes de su aplicación en el paciente crítico (Esposito et al., 2025). En conclusión, la formación en resistómica estructural es el cerebro narrativo de la Gobernanza Antimicrobiana, asegurando que cada decisión terapéutica sea una síntesis ética de la evidencia genómica y la realidad fisiológica del paciente.

11.9. Modelos de reembolso hospitalario para pruebas de diagnóstico molecular avanzado

La sostenibilidad financiera de la microbiología de precisión está supeditada al diseño de modelos de reembolso hospitalario que capturen el valor total (Total Value of Ownership) de las pruebas de diagnóstico molecular avanzado, integrando no solo el coste directo del ensayo sino el ahorro masivo derivado de la optimización clínica (Peri et al., 2024). Fisiopatológicamente, la demora en la identificación del resistoma estructural en pacientes con

bacteriemia por MDRO incrementa exponencialmente el riesgo de falla orgánica endotelial y choque séptico, extendiendo la duración de la hospitalización (LOS) en unidades de cuidados intensivos, lo que genera una carga económica logarítmica para la institución (Peri et al., 2024). Los modelos de reembolso convencionales, basados en el pago por volumen de pruebas, resultan obsoletos ante tecnologías como mNGS o PCR multiplex, las cuales deben evaluarse por su impacto en la reducción de la estancia media y la mortalidad (Peri et al., 2024).

La metodología para la validación económica de estos modelos utiliza análisis de coste-utilidad (CUA) y simulaciones de impacto presupuestario, incorporando variables estocásticas procedentes de la farmacometría digital (Feduniw et al., 2025). Como bien demuestran (Peri et al., 2024) mediante un meta-análisis de red, el uso de RDTs combinado con la intervención activa de equipos PROA reduce el tiempo hasta la terapia efectiva en más de 24 horas, lo que correlaciona con un ahorro neto por paciente que compensa con creces el precio de la plataforma diagnóstica (Peri et al., 2024). La transición hacia modelos de reembolso basados en resultados (Outcome-based reimbursement) incentivaría a los hospitales a invertir en secuenciación de nanoporos y microfluídica, ya que la celeridad diagnóstica se traduce en una menor utilización de recursos de soporte vital y una reducción en el uso innecesario de antibióticos de alto coste (Boussios et al., 2023).

La relevancia de estos modelos financieros se potencia bajo el enfoque "One Health", donde la inversión en diagnóstico ambiental y humano se sincroniza para prevenir brotes nosocomiales de alto coste (Elbehiry et al., 2025). La aplicación de modelos de suscripción para el diagnóstico, de manera análoga a la de los antibióticos, facilitaría la disponibilidad constante de reactivos para mNGS incluso en períodos de baja incidencia, manteniendo una vigilancia genómica centinela que proteja la viabilidad operativa del hospital (Matzaras et al., 2025). En conclusión, el diseño de nuevos esquemas de reembolso constituye la infraestructura económica de la Resistómica Clínica, permitiendo que la innovación biotecnológica se traduzca en una praxis clínica sostenible que anteponga el ahorro por salud a la contabilidad de costes aislados, garantizando así la resiliencia del sistema sanitario frente a la multirresistencia extrema.

11.10. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

En la actual Gobernanza Antimicrobiana 2.0 se define por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades diagnósticas y la persistente incertidumbre en la validación ética de las intervenciones asistidas por inteligencia artificial (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de

las controversias más agudas radica en el valor predictivo de la CMI genotípica estimada por IA frente a la microdilución convencional; si bien herramientas de aprendizaje profundo logran precisiones superiores al 95% para enterobacterias, la magnitud real de la resistencia funcional en aislados con mecanismos de impermeabilidad adaptativa sigue siendo difícil de cuantificar sin la integración de la transcriptómica cuantitativa (Jaiswal et al., 2022). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre genotipo y fenotipo exige el desarrollo de modelos de IA explicable (XAI) que integren datos genómicos con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir el éxito clínico con precisión estocástica.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los reservorios ambientales no hospitalarios en la arquitectura de la vigilancia global bajo el enfoque "One Health" (Elbehiry et al., 2025). Aunque herramientas metagenómicas han permitido mapear la diseminación transfronteriza del resistoma entre aguas residuales, suelos agrícolas y el paciente crítico, la contribución exacta de la contaminación por metales pesados a la mortalidad hospitalaria urbana sigue siendo objeto de modelado estocástico complejo (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el monitoreo del mobiloma ambiental, identificando nexos de transferencia horizontal de genes antes de que nuevos determinantes de resistencia extrema se filtren en la población humana (Elbehiry et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición *in situ* del resistoma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la inteligencia artificial explicable y la gobernanza digital sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas (Tamami et al., 2025).

11.11. Gobernanza clínica para la restricción de fármacos de reserva (AWaRe de la OMS)

La arquitectura contemporánea de la Gobernanza Antimicrobiana ha evolucionado hacia un modelo de control restrictivo fundamentado en la clasificación AWaRe (Access, Watch, Reserve) de la Organización Mundial de la Salud, la cual actúa como una brújula regulatoria para mitigar la erosión del arsenal terapéutico frente a patógenos con resistencia extrema (Elbehiry et al., 2025). Fisiopatológicamente, la administración indiscriminada de agentes de amplio espectro, clasificados mayoritariamente en los grupos "Watch" y "Reserve", ejerce una presión selectiva masiva sobre el resistoma estructural de la microbiota humana, favoreciendo la fijación de genes de carbapenemasas y mutaciones en reguladores transcripcionales como *mexR* (W. Wu et al., 2024). La gobernanza clínica 2.0 establece que el éxito de los sistemas de salud depende de alcanzar el objetivo estratégico de que al menos el 70% del consumo total de antibióticos provenga del grupo "Access", reservando las moléculas de última línea para cuadros confirmados de sepsis por microorganismos multirresistentes (Pauwels et al., 2025).

La implementación operativa de estas restricciones se sustenta en protocolos de administración dirigida molecularmente, donde el inicio de fármacos de reserva tales como el cefiderocol, la tigeciclina o las nuevas combinaciones de betalactámicos con inhibidores de serino-betalactamasas debe estar precedido por una validación diagnóstica de alta resolución (Elbehiry et al., 2025). Como bien explican (Elbehiry et al., 2025), el uso de guías de práctica clínica "listas para la acción" (practice-ready), alineadas con las recomendaciones de la IDSA 2024 y la ESCMID, permite estandarizar la transición desde el tratamiento empírico hacia la terapia definitiva, protegiendo a los agentes del grupo "Reserve" de una exposición innecesaria que precipite la emergencia de clones hipervirulentos. Esta gobernanza exige que las instituciones sanitarias cuenten con una Resistómica de Precisión que vincule el fenotipo clínico con perfiles de secuenciación metagenómica, asegurando que el mecanismo enzimático del patógeno coincida con el espectro de inhibición del antibiótico de reserva seleccionado.

La relevancia de este marco de gobernanza se intensifica en las unidades de cuidados intensivos, donde la latencia entre la toma de muestras y el ajuste terapéutico correlaciona directamente con la mortalidad (Elshobary et al., 2025). Las estrategias PROA 2.0 integran indicadores de calidad que monitorizan el "Tiempo hasta la Terapia Efectiva Molecularmente Dirigida", utilizando tableros de control epidemiológico que disparan alertas automáticas cuando un fármaco de reserva se prescribe sin una justificación genómica robusta. En conclusión, la restricción basada en AWaRe constituye el cerebro administrativo de la

Gobernanza Antimicrobiana Moderna, transformando la prescripción en un acto de responsabilidad ecológica que antepone la preservación de la viabilidad antibiótica global a la conveniencia de la cobertura empírica masiva, garantizando así la sostenibilidad de la medicina avanzada.

11.12. Papel del farmacéutico clínico en la optimización terapéutica del paciente con MDRO

En el ecosistema de los Programas PROA 2.0, el farmacéutico clínico ha trascendido su función tradicional de dispensación para consolidarse como el especialista en ingeniería farmacométrica, responsable de personalizar los regímenes antimicrobianos mediante la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) asistida por inteligencia artificial (Boussios et al., 2023). Fisiopatológicamente, el paciente infectado por patógenos ESKAPE presenta a menudo un estado hiperdinámico caracterizado por el aclaramiento renal aumentado (ARC) o el edema tisular masivo, fenómenos que diluyen las concentraciones plasmáticas y provocan fallos terapéuticos al situar los niveles valle en rangos sub-inhibitorios (Boussios et al., 2023). El papel del farmacéutico clínico es determinante para ajustar las dosis basándose en el cumplimiento de los objetivos de exposición libre no ligada ($fT > CMI$), asegurando que la presión farmacológica supere la capacidad catalítica de las carbapenemasas periplasmáticas y prevenga la selección de subpoblaciones heteroresistentes (W. Wu et al., 2024).

La metodología analítica aplicada por el farmacéutico integra el uso de Gemelos Digitales (Digital Twins) y plataformas web automatizadas, las cuales permiten realizar predicciones bayesianas de los parámetros farmacocinéticos individuales a partir de escasas muestras sanguíneas (Esposito et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Choi et al., 2025) subrayan que el empleo de estas herramientas reduce drásticamente el error humano y facilita la implementación de regímenes de infusión extendida o continua, optimizando la Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA) para antibióticos tiempo-dependientes en pacientes críticos (Boussios et al., 2023). La relevancia clínica de esta intervención es absoluta para agentes de estrecho margen terapéutico como la colistina; el farmacéutico clínico debe equilibrar la necesidad de dosis bactericidas masivas frente a determinantes de resistencia estructural como el gen *mcr-1* con la mitigación del riesgo de nefrotoxicidad y toxicidad mitocondrial.

Desde la perspectiva de la gestión hospitalaria, el farmacéutico clínico lidera la implementación de sistemas de puntuación de agudeza antimicrobiana (Antimicrobial Patient Acuity Scoring), los cuales priorizan la revisión de pacientes con bacteriemias por Gram

negativos XDR o aquellos con variabilidad farmacocinética extrema (Peri et al., 2024). Como señalan (Peri et al., 2024), la participación activa del farmacéutico en el equipo multidisciplinario de control de brotes facilita la integración de resultados de diagnóstico rápido (mNGS, PCR multiplex) en el diseño de planes terapéuticos sinérgicos que exploten las vulnerabilidades de la envoltura celular bacteriana (Elshobary et al., 2025). En conclusión, el farmacéutico clínico constituye el pilar operativo de la farmacoterapia de ultra-precisión, garantizando que cada intervención terapéutica sea una respuesta molecularmente ajustada que salvaguarde la seguridad del paciente y la eficacia de los antimicrobianos de última línea.

11.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada de la Resistómica Clínica y la Gobernanza Antimicrobiana se define por una tensión dialéctica entre el avance tecnológico exponencial y la persistente brecha en la traducción ética de estos datos hacia desenlaces universales de salud pública (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo del resistoma latente detectado mediante secuenciación metagenómica (mNGS); aunque la identificación de genes como *blaOXA-23* o *blaNDM* es un indicador preciso de resistencia estructural, la magnitud real del fracaso terapéutico in vivo depende de redes de regulación transcripcional sutiles y del estado metabólico bacteriano, variables que el diagnóstico genómico cualitativo no logra capturar plenamente (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), el análisis crítico de la evidencia exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren perfiles de metatranscriptómica cuantitativa con cinéticas de despolarización de membrana para predecir el éxito clínico con precisión estocástica.

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real del enfoque "One Health" en la vigilancia y el control de la resistencia hospitalaria (Elbehiry et al., 2025). Aunque el uso de Análisis de Datos Topológicos (TDA) ha permitido mapear rutas de transferencia horizontal masiva entre el microbioma humano y reservorios ambientales (como aguas residuales y suelos agrícolas), la contribución exacta de la contaminación ambiental por antibióticos a la mortalidad por sepsis en centros urbanos sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad de gran escala (Guerrero et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la cama del paciente para incluir el mapeo del mobiloma ambiental, identificando "puntos calientes" de evolución bacteriana antes de que nuevos determinantes de resistencia extrema se filtren en la población hospitalaria.

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del resistoma bacteriano y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la inteligencia artificial explicable y la gobernanza digital sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas.

Capítulo 12:

El Ecosistema One Health 2026: Vigilancia Ambiental y Sostenibilidad

12.1. Flujo de genes de resistencia entre el entorno agrícola, animal y humano

La arquitectura de la resistencia antimicrobiana contemporánea se define por una dinámica de interconectividad biogeoquímica, donde el flujo de genes de resistencia (ARGs) entre los compartimentos agrícola, animal y humano constituye una red de transferencia horizontal masiva (HGT) que desafía la compartimentación tradicional de la salud pública (Elbehiry et al., 2025). Fisiopatológicamente, el entorno ambiental no actúa meramente como un receptáculo pasivo, sino como un reactor evolutivo donde la presión selectiva ejercida por residuos antibióticos a concentraciones subletales y la presencia de metales pesados catalizan la fijación de determinantes genéticos en elementos genéticos móviles (MGEs) (S. Zhang et al., 2025). Como bien señalan (S. Zhang et al., 2025), el análisis metagenómico global ha revelado la existencia de un "resistoma central" compartido, donde las heces humanas actúan como un nexo de acumulación de genes de resistencia a betalactámicos y tetraciclinas, los cuales se filtran hacia el suelo y el agua mediante la aplicación de abonos orgánicos y vertidos incontrolados.

La translocación molecular de estos genes se ve facilitada por la promiscuidad de plásmidos de amplio rango de hospederos, como los pertenecientes a las familias IncF e IncP, que superan las barreras taxonómicas entre bacterias comensales del suelo y patógenos humanos (Guerrero et al., 2025). Investigaciones lideradas por (Matzaras et al., 2025) han documentado que la aplicación de estiércol porcino y avícola en terrenos agrícolas no solo introduce antibióticos residuales, sino que incrementa de manera exponencial la diversidad del resistoma en el microbioma de la rizosfera, permitiendo que genes como *blaCTX-M* o *mcr-1* asciendan por la cadena trófica mediante la colonización de tejidos vegetales comestibles (S. Zhang et al., 2025). Esta "migración vertical" desde el sustrato edáfico hacia la dieta humana representa una vulnerabilidad crítica, ya que la ingestión de productos frescos contaminados con bacterias portadoras de Resistómica Estructural permite la siembra de estos determinantes en el microbioma intestinal del consumidor (Hattab et al., 2024).

La relevancia de este flujo genómico se potencia por el papel de la fauna silvestre, particularmente aves migratorias como las gaviotas (*Larus* spp.), que actúan como vectores bio-geográficos de largo alcance (Elbehiry et al., 2025). Estos animales, al alimentarse en vertederos o aguas residuales urbanas, adquieren clones de alto riesgo de *Escherichia coli* y

Klebsiella pneumoniae portadores de carbapenemasas, transportándolos hacia ecosistemas prístinos y zonas de producción acuícola (Y. Li et al., 2024). En conclusión, el flujo de ARGs bajo el paradigma One Health exige una vigilancia que trascienda la cama del paciente para mapear el interactoma molecular en el continuo suelo-planta-animal-humano, asegurando que la medicina de precisión infectológica considere la ecología microbiana global como el determinante primario de la eficacia terapéutica futura (Guerrero et al., 2025).

12.2. Vigilancia del resistoma en aguas residuales urbanas y hospitalarias

El monitoreo de las aguas residuales se ha consolidado como la herramienta centinela definitiva de la era digital, permitiendo capturar una radiografía de alta resolución de la salud poblacional y de la circulación de patógenos multirresistentes sin la latencia diagnóstica de la clínica individual (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) operan como "puntos calientes" de evolución bacteriana; la alta densidad celular en los lodos activos, combinada con gradientes de antibióticos y desinfectantes, favorece la formación de biofilms maduros donde la transferencia horizontal de genes por conjugación y transducción mediada por fagos alcanza tasas órdenes de magnitud superiores a las de los entornos naturales (Elbehiry et al., 2025). Como argumentan (Matzaras et al., 2025), las aguas residuales hospitalarias presentan una densidad enzimática de carbapenemasas (como *bla*NDM-5 y *bla*OXA-23) que a menudo sobrevive a los procesos de desinfección secundaria, "sembrando" el resistoma estructural en los sistemas de alcantarillado urbano (Matzaras et al., 2025).

Técnicamente, la vigilancia del resistoma en el agua utiliza la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS) y la PCR digital en gotas (ddPCR) para cuantificar la abundancia absoluta de ARGs y la integridad de las plataformas móviles de resistencia. Esta aproximación permite detectar la emergencia de linajes hipervirulentos, como el clon ST11 de *K. pneumoniae*, en la comunidad mucho antes de que se manifiesten brotes clínicos en las unidades de cuidados. Investigaciones lideradas por (W. Zhao et al., 2025) han demostrado una concordancia genómica absoluta entre aislados ambientales de sifones hospitalarios y cepas causantes de sepsis en pacientes críticos, confirmando que el microbioma acuático del hospital actúa como un reservorio crónico que retroalimenta la endemidad genómica (W. Zhao et al., 2025).

La relevancia de integrar estos datos en tableros de control epidemiológico es vital para la Gobernanza Antimicrobiana (Bilal et al., 2025). El uso de modelos de Análisis de Datos

Topológicos (TDA) permite visualizar nubes de conectividad genómica donde los plásmidos híbridos transitan entre enterobacterias humanas y bacterias ambientales de los géneros *Aeromonas* o *Vibrio*, facilitando la identificación de rutas de escape genético hacia reservorios acuáticos (Guerrero et al., 2025). Hacia el futuro, la implementación de sensores bioquímicos automáticos en los colectores urbanos proporcionará alertas instantáneas sobre la infiltración de nuevos determinantes de resistencia extrema, transformando la infraestructura de saneamiento en un sistema de inteligencia biológica reactivo que salvaguarda la resiliencia de la medicina contemporánea.

12.3. Impacto del cambio climático en la propagación de patógenos resistentes

La crisis climática global actúa como un multiplicador de riesgos sistémicos para la resistencia antimicrobiana, alterando la biofísica de los ecosistemas y forzando una reconfiguración de los nichos ecológicos bacterianos (Matzaras et al., 2025). Fisiopatológicamente, el incremento de la temperatura ambiental media está correlacionado con una aceleración en la tasa de mutación bacteriana y en la frecuencia de la transferencia horizontal de genes, ya que el estrés térmico induce respuestas de SOS y modula la fluidez de la membrana citoplasmática, facilitando el intercambio de macromoléculas de ADN (W. Wu et al., 2024). Como señalan (Matzaras et al., 2025), cada incremento de 10 °C en la temperatura mínima local se asocia con un aumento significativo en las tasas de resistencia de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, sugiriendo que el calentamiento global expande la "ventana de selección" para fenotipos resistentes.

El impacto climático se manifiesta también a través de la alteración de los ciclos hidrológicos, donde las inundaciones extremas y las tormentas provocan el desbordamiento de los sistemas de alcantarillado, movilizand o el resistoma estructural desde las PTAR hacia suelos agrícolas y acuíferos potables (Matzaras et al., 2025). Este fenómeno de "derrame genómico" incrementa la exposición humana a patógenos portadores de metalo-betalactamasas en regiones previamente consideradas de bajo riesgo (Elbehiry et al., 2025). Además, el cambio climático expande el rango geográfico de vectores invertebrados y favorece la supervivencia de bacterias resistentes en aerosoles atmosféricos, permitiendo una diseminación transcontinental de ARGs mediante el transporte de partículas de polvo y humedad (Y. Li et al., 2024).

La relevancia diagnóstica de mapear esta interacción reside en la necesidad de integrar covariables meteorológicas en los modelos de farmacocinética poblacional y de predicción de

brotes (Bilal et al., 2025). La medicina de precisión debe considerar cómo los cambios en la salinidad y el pH del agua, derivados de la intrusión marina o la acidificación, afectan la biodisponibilidad de los antibióticos en el entorno y potencian la co-selección de resistencias mediada por metales pesados (Matzaras et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana en 2026 requiere una visión de Salud Planetaria, donde la mitigación del cambio climático sea reconocida como una intervención terapéutica fundamental para preservar la eficacia de los antimicrobianos y asegurar la supervivencia de la civilización frente a una evolución microbiana impulsada por el desequilibrio ecológico.

12.4. Regulación del uso de antibióticos en la industria ganadera y acuicultura

La sostenibilidad de la era antibiótica está intrínsecamente ligada a la desvinculación del crecimiento económico agropecuario del consumo masivo de antimicrobianos, lo que ha impulsado una regulación internacional estricta bajo el enfoque One Health (Matzaras et al., 2025). Fisiopatológicamente, el uso profiláctico y como promotores de crecimiento de antibióticos de importancia crítica para la medicina humana como las colistinas, fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación genera una presión selectiva incesante en el microbioma animal, facilitando la emergencia del gen *mcr-1* y su posterior salto hacia poblaciones humanas mediante la cadena de suministro alimentario (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). La regulación contemporánea, liderada por la Unión Europea (Regulación 2019/6) y la OMS, prohíbe el uso preventivo de estos fármacos en animales sanos, exigiendo que la intervención terapéutica sea siempre curativa y bajo supervisión veterinaria (Vitale et al., 2021).

En la industria de la acuicultura, la regulación enfrenta retos biofísicos particulares, dado que los antibióticos se administran directamente al agua, lo que favorece una dispersión descontrolada de residuos hacia el bentos y la microbiota acuática circundante (Vitale et al., 2021). Como bien señalan (Matzaras et al., 2025), la acumulación de fármacos en los sedimentos marinos propicia la formación de "hotspots" de multirresistencia donde bacterias de los géneros *Vibrio* y *Aeromonas* intercambian integrones con patógenos humanos, erosionando la eficacia de los agentes del grupo "Reserve" de la clasificación AWaRe (Vitale et al., 2021). La implementación de políticas de bioseguridad y vacunación animal sistemática como la inmunización de aves contra *E. coli* ha demostrado ser la estrategia más eficaz para reducir la necesidad de antimicrobianos sin comprometer la seguridad alimentaria global (Elbehiry et al., 2025).

La relevancia clínica de estas regulaciones se manifiesta en la reducción documentada de la biomasa de genes *mcr-I* en humanos tras la prohibición de la colistina como aditivo en piensos en regiones como China (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la gobernanza debe evolucionar hacia marcos de incentivos económicos de desvinculación, donde los productores agropecuarios sean recompensados por alcanzar indicadores de calidad en la salud intestinal animal y por la implementación de sistemas de tratamiento de efluentes que eliminen el residuo farmacológico antes de su descarga ambiental (Elbehiry et al., 2025). En conclusión, la regulación del uso de antibióticos en animales constituye la infraestructura ética de la Resistómica Global, asegurando que la producción de alimentos no se convierta en el motor de una pandemia silente que comprometa el éxito de la quimioterapia moderna en la salud humana (Elbehiry et al., 2025).

12.5. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada del ecosistema One Health 2026 está marcada por la tensión dialéctica entre la sofisticación de la vigilancia genómica y la persistente brecha en la gobernanza ambiental vinculante. Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo de los genes detectados por metagenómica ambiental; si bien la mNGS identifica con precisión la presencia de ARGs en el suelo o el agua, la magnitud real de su transferencia hacia patógenos clínicos y su expresión funcional en el huésped sigue siendo objeto de modelado estocástico complejo (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), la brecha entre el resistoma de campo y el éxito clínico exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos geoclimáticos con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir la emergencia de brotes nosocomiales con precisión planetaria (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto real de los adyuvantes de co-selección, como los microplásticos, en la arquitectura de la resistencia global (Matzaras et al., 2025). Aunque herramientas metagenómicas han mapeado cómo los microplásticos actúan como balsas para la formación de biofilms multirresistentes en ríos y océanos, la contribución exacta de este "plastisferio" a la mortalidad hospitalaria por patógenos ESKAPE sigue siendo difícil de cuantificar sin estudios longitudinales de gran escala (Matzaras et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el monitoreo del mobiloma ambiental en microplásticos, identificando nexos de transferencia horizontal de

genes antes de que nuevas variantes alostéricas de porinas se filtren en la población humana (S. Zhang et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la genómica ambiental mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles y biosensores ópticos avanzados integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición *in situ* del mobiloma en sistemas de tratamiento de aguas y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la sostenibilidad ambiental y la gobernanza One Health sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geopolíticas (Tamami et al., 2025).

12.6. Detección de residuos de antibióticos en el medio ambiente mediante sensores biotecnológicos

La monitorización de la contaminación farmacológica en matrices ambientales ha trascendido la era de la analítica centralizada para consolidarse en un paradigma de vigilancia biotecnológica ubicua, donde la implementación de sensores avanzados permite la cuantificación de analitos antimicrobianos con una resolución temporal y espacial sin precedentes (Matzaras et al., 2025). Fisiopatológicamente, la persistencia de residuos de antibióticos en suelos y aguas incluso a concentraciones del orden de microgramos por litro induce una presión selectiva sub-inhibitoria que altera la arquitectura de la envoltura celular bacteriana y dispara mecanismos de Resistómica Estructural, favoreciendo la fijación de genes de resistencia en comunidades microbianas ambientales (W. Wu et al., 2024). Técnicamente, esta detección se apoya hoy en la integración de nanomateriales con arquitecturas de sensores ópticos y electroquímicos, los cuales emplean la resonancia de plasmón superficial o cambios en la fluorescencia ratiométrica para identificar la huella molecular de agentes del grupo "Reserve", como las polimixinas y los nuevos betalactámicos (Bilal et al., 2025).

Como bien argumentan (Graf et al., 2025), el uso de la imagen de dispersión de luz resuelta por ángulo (ARS) en dispositivos microfluídicos permite monitorizar cómo los residuos ambientales afectan la biomasa bacteriana en tiempo real, detectando desviaciones estocásticas en la densidad citoplasmática que preceden a los cambios en la densidad óptica

convencional (Graf et al., 2025). Este "fenotipado ambiental" se complementa con la espectroscopia Raman de alta resolución, la cual decodifica las vibraciones moleculares de los residuos farmacológicos en aguas residuales hospitalarias, permitiendo mapear la descarga enzimática de carbapenemasas antes de su infiltración en los ecosistemas urbanos (Bilal et al., 2025). La relevancia diagnóstica de estos sensores radica en su capacidad para actuar como sistemas de alerta temprana dentro del marco "One Health", identificando "hotspots" evolutivos donde la transferencia horizontal de genes por conjugación alcanza tasas críticas debido a la co-selección mediada por metales pesados y microplásticos (Guerrero-Flores et al., 2025).

Desde la perspectiva de la inteligencia sanitaria, los datos generados por estos sensores biotecnológicos alimentan algoritmos de aprendizaje profundo (Deep Learning) que predicen la trayectoria evolutiva del resistoma de campo (Bilal et al., 2025). La aplicación de modelos de red neuronal permite discernir si la presencia de un ARG específico, como *blaNDM-5*, en el ambiente acuático representa un riesgo inminente de derrame hacia poblaciones humanas o si el gen se encuentra en un estado de latencia metabólica (Bilal et al., 2025). En conclusión, la detección mediante sensores biotecnológicos constituye el cerebro sensorial de la Gobernanza Ambiental, transformando la infraestructura de saneamiento en una red de inteligencia biológica reactiva que salvaguarda la eficacia de la medicina moderna frente a la marea de la multirresistencia global (Bilal et al., 2025).

12.7. Nefrología y ecología: El impacto ambiental de los residuos de fármacos nefrotóxicos

La intersección entre la nefrología clínica y la ecología microbiana revela una vulnerabilidad sistémica en la gestión de los antimicrobianos de última línea, donde la excreción renal de fármacos nefrotóxicos condiciona la arquitectura del resistoma en el entorno hospitalario (Boussios et al., 2023). Fisiopatológicamente, antibióticos como la colistina y los aminoglucósidos se eliminan mayoritariamente por ultrafiltración glomerular y secreción tubular, alcanzando concentraciones urinarias masivas que superan con creces los umbrales bactericidas (Boussios et al., 2023). Sin embargo, en pacientes con disfunción renal, la alteración del aclaramiento plasmático provoca no solo toxicidad sistémica, sino una descarga errática de metabolitos activos hacia los sistemas de drenaje hospitalario, convirtiendo a los sifones y alcantarillas en "incubadores de endemidad" para patógenos ESKAPE (Matzaras et al., 2025).

Analíticamente, el impacto ecológico de estos residuos nefrotóxicos se manifiesta en la selección de linajes de *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* portadores de mutaciones en el sistema *mcr-1* o en bombas de eflujo de la familia RND, las cuales expulsan simultáneamente antibióticos y desinfectantes (W. Wu et al., 2024). Como señalan (Matzaras et al., 2025), la vigilancia genómica mediante mNGS en aguas residuales ha documentado una correlación directa entre la carga de prescripción de nefrotóxicos en las unidades de cuidados intensivos y la abundancia de genes de resistencia estructural en los efluentes hospitalarios (Elbehiry et al., 2025). La relevancia clínica de este fenómeno es absoluta para los programas de Antimicrobial Stewardship (ASP), ya que la presencia de estos fármacos en el ambiente acuático del hospital retroalimenta la colonización de dispositivos médicos y superficies inertes, perpetuando ciclos de infección intrahospitalaria de difícil erradicación (Michaelis & Grohmann, 2023).

Hacia el futuro, la mitigación de este impacto ecológico exige transitar hacia una nefrología verde, donde el uso de adyuvantes de "ahorro renal" se combine con sistemas de tratamiento de aguas *in situ* que empleen oxidación avanzada para inactivar los residuos farmacológicos antes de su descarga urbana (Elshobary et al., 2025). La implementación de Gemelos Digitales (Digital Twins) que incorporen la covariable de la función renal permitirá optimizar la dosificación no solo para la curación del paciente, sino para minimizar la huella genómica ambiental de la terapia (Bilal et al., 2025). En conclusión, la ecología de los residuos nefrotóxicos constituye un pilar crítico de la Resistómica de Campo, exigiendo una visión integradora que reconozca que la protección del riñón del paciente y la preservación del microbioma ambiental son dos caras de la misma moneda en la lucha contra la resistencia antimicrobiana (Bilal et al., 2025).

12.8. Sostenibilidad del laboratorio de microbiología frente al uso de plásticos y reactivos

El laboratorio de microbiología clínica, motor diagnóstico de la medicina de precisión, enfrenta el desafío imperativo de reconciliar su sofisticación analítica con la sostenibilidad ambiental, reduciendo la carga masiva de residuos plásticos y la huella química de sus reactivos (Y. Li et al., 2024). Fisiopatológicamente, el diagnóstico convencional de infecciones por MDRO depende de ensayos macroscópicos de cultivo y susceptibilidad que generan toneladas de biomasa contaminada y plásticos de un solo uso; sin embargo, la transición hacia la microfluídica cinética de gota única permite una reducción drástica en el volumen de

materiales, operando en escalas picolítricas que minimizan el impacto ecológico (Graf et al., 2025). La metodología de "menos es más" propuesta por (Y. Li et al., 2024) utiliza estrategias de monitoreo óptico sin lentes (lens-free) para capturar la cinética de muerte bacteriana, eliminando la necesidad de grandes volúmenes de medios de cultivo y reactivos cromogénicos (Y. Li et al., 2024).

Técnicamente, la sostenibilidad se potencia mediante el desarrollo de recursos diagnósticos circulares, donde el uso de polímeros biodegradables y la síntesis verde de nanopartículas como la mediada por extractos vegetales para la detección de patógenos reemplazan a los reactivos tóxicos convencionales (Matzaras et al., 2025). Como bien argumentan (Bilal et al., 2025), la integración de la inteligencia artificial en el borde (edge computing) permite optimizar los flujos de secuenciación de nanoporos, reduciendo el consumo energético de los clústeres bioinformáticos y extendiendo la vida útil de los sensores de detección (Bilal et al., 2025). La relevancia clínica de un laboratorio sostenible radica en su resiliencia operativa; al disminuir la dependencia de suministros plásticos globales, las instituciones pueden mantener una vigilancia del resistoma estructural constante incluso ante crisis en la cadena de suministro (Elbehiry et al., 2025).

Desde el prisma de la gobernanza, la sostenibilidad del laboratorio debe ser evaluada mediante indicadores de eco-eficiencia diagnóstica, integrando el coste del residuo en el análisis de reembolso de las pruebas moleculares avanzadas (Matzaras et al., 2025). El uso de plataformas mNGS y dispositivos Lab-on-a-chip que ofrezcan resultados en menos de 5 horas no solo mejora el pronóstico del paciente séptico, sino que reduce la huella de carbono hospitalaria al acortar la estancia media y optimizar el uso de recursos de soporte vital (Peri et al., 2024). En conclusión, el laboratorio de microbiología del futuro debe ser un baluarte de la Resistómica Verde, asegurando que la búsqueda de la precisión molecular no comprometa la integridad de los ecosistemas que el enfoque One Health busca proteger (Bilal et al., 2025).

12.9. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada del ecosistema One Health 2026 está marcada por la tensión dialéctica entre la explosión de capacidades de vigilancia digital y la persistente incertidumbre en la estandarización de los umbrales de intervención ambiental (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en el valor predictivo del ADN libre de resistencia (cfDNA-ARG) detectado en aguas residuales; si bien la secuenciación metagenómica identifica con precisión la presencia de genes como *mcr-1* o variantes de

blaOXA-48, la probabilidad real de que estos fragmentos genéticos se integren funcionalmente en patógenos humanos bajo condiciones ambientales fluctuantes sigue siendo objeto de debate estocástico (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), el análisis crítico de la evidencia exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial multiómica que integren datos geoclimáticos con cinéticas de despolarización de membrana en tiempo real para predecir la expansión de brotes con precisión planetaria (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto del plastisferio hospitalario en la dinámica poblacional del resistoma (Matzaras et al., 2025). Aunque herramientas metagenómicas han mapeado cómo los microplásticos actúan como balsas para la formación de biofilms multirresistentes en ríos y océanos, la contribución exacta de esta contaminación por plásticos a la mortalidad por sepsis en centros urbanos sigue siendo difícil de cuantificar sin modelos de probabilidad de gran escala (S. Zhang et al., 2025). El análisis crítico sugiere que la vigilancia debe trascender la cama del paciente para incluir el monitoreo del mobiloma ambiental en microplásticos, identificando nexos de transferencia horizontal de genes antes de que nuevas variantes alostéricas de porinas se filtren en la población humana (S. Zhang et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la genómica ambiental mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y biosensores ópticos avanzados integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición *in situ* del mobiloma en sistemas de tratamiento de aguas y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en proteínas ancestrales mediante modelos de lenguaje de gran escala (LLMs) representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la sostenibilidad ambiental y la gobernanza One Health sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geopolíticas (Tamami Tualombo et al., 2025).

12.10. Hacia un tratado global de vigilancia genómica de la resistencia

La arquitectura de la seguridad sanitaria mundial en 2026 exige la consolidación de un tratado global de vigilancia genómica, un marco normativo vinculante que trascienda la mera compartición de datos estocásticos para instituir una infraestructura de inteligencia molecular

interoperable (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la resistencia antimicrobiana (RAM) no reconoce fronteras geopolíticas, ya que los determinantes de Resistómica Estructural, tales como los megaplásmidos portadores de *blaNDM-5* o las variantes de porinas con permeabilidad selectiva alterada, se diseminan mediante flujos biogeoquímicos masivos que conectan los microbiomas humanos con reservorios ambientales distantes (Elbehiry et al., 2025). Un tratado global permitiría estandarizar el uso de la secuenciación de genoma completo (WGS) y la metagenómica de nueva generación (mNGS) como las herramientas diagnósticas de referencia, eliminando la latencia informativa que actualmente permite la fijación de clones de alto riesgo en nichos clínicos vulnerables (Hasan et al., 2025).

La implementación analítica de este tratado se fundamenta en la creación de una Red de Inteligencia Genómica Global, donde el mapeo del mobiloma el conjunto total de plásmidos e integrones actúe como un sistema de alerta temprana ante la emergencia de nuevos fenotipos de pan-resistencia (Elshobary et al., 2025). Como bien argumentan (Matzaras et al., 2025), la transición hacia una vigilancia en tiempo real requiere que los laboratorios de microbiología de todo el orbe operen bajo protocolos de bioinformática unificados, permitiendo que la detección de un determinante de resistencia estructural crítico en un hospital de baja complejidad dispare automáticamente protocolos de contención internacional (Tamami Tualombo et al., 2025). La relevancia clínica de esta gobernanza es absoluta, ya que facilita la identificación de trayectorias de transferencia horizontal de genes (HGT) a escala planetaria, revelando cómo la presión selectiva en sistemas de alcantarillado urbanos puede predecir el fracaso terapéutico en unidades de cuidados intensivos a miles de kilómetros de distancia (S. Zhang et al., 2025).

Desde la perspectiva de la equidad sanitaria, el tratado debe instituir mecanismos de desvinculación económica (de-linkage) y transferencia tecnológica, asegurando que los países de bajos y medianos ingresos (LMICs) no sean solo proveedores de muestras genómicas, sino copartícipes activos en el diagnóstico de precisión (Matzaras et al., 2025). La aplicación de modelos de suscripción antimicrobiana y de reembolso basados en el valor social de los antibióticos de reserva, como se propone en el enfoque One Health, es vital para incentivar la innovación sin comprometer la administración responsable (Elbehiry et al., 2025). En conclusión, un tratado global de vigilancia genómica constituye el cerebro estratégico de la Resistómica Clínica, transformando la lucha contra la RAM en una ciencia de datos reactiva que salvaguarda la viabilidad de la medicina contemporánea para las futuras generaciones (Bilal et al., 2025).

12.11. Educación comunitaria en el uso responsable de antimicrobianos desde una visión sistémica

La contención de la marea de multirresistencia extrema requiere una transformación radical en la percepción pública de los antibióticos, donde la educación comunitaria se aleje del enfoque punitivo individual para adoptar una visión sistémica fundamentada en la ecología microbiana y la salud planetaria (Matzaras et al., 2025). Fisiopatológicamente, la exposición inapropiada a antimicrobianos en la comunidad no solo selecciona mutantes resistentes en el individuo, sino que altera la arquitectura del resistoma poblacional, incrementando la biomasa de genes de resistencia estructural que posteriormente se filtran hacia el entorno mediante el saneamiento deficiente (S. Zhang et al., 2025). Como señalan (Matzaras et al., 2025), el comportamiento prescriptivo y el consumo ciudadano están condicionados por normas sociales y jerarquías culturales, lo que exige intervenciones educativas que utilicen la inteligencia social para dismantelar la inercia del uso injustificado de carbapenémicos ante síntomas virales leves (Bilal et al., 2025).

La metodología analítica para esta educación sistémica integra el concepto de "Resiliencia del Microbioma", enseñando a la población que cada dosis de antibiótico innecesaria actúa como un disruptor biológico que debilita las barreras mucosas y favorece la colonización por patógenos ESKAPE portadores de plásmidos multirresistentes (Elbehiry et al., 2025). Investigaciones lideradas por Almutairi et al. (2023) mediante estudios cuasi-experimentales han demostrado que el uso de programas de formación interactivos en escuelas y centros comunitarios reduce la demanda de antibióticos OTC y mejora la adherencia a los regímenes prescritos, mitigando así el fenómeno de la heterorresistencia inducida por dosis subterapéuticas (Bilal et al., 2025). La relevancia de este enfoque radica en su capacidad para prevenir el "derrame" de resistencias desde el ámbito humano hacia el ambiente agrícola y animal, cerrando el ciclo de transmisión que el enfoque One Health busca interrumpir (Matzaras et al., 2025).

Desde el prisma de la gobernanza digital, la educación comunitaria 2026 debe apoyarse en herramientas de soporte a la decisión ciudadana, tales como aplicaciones móviles integradas con perfiles epidemiológicos locales que adviertan sobre la circulación de linajes hipervirulentos en el vecindario (Bilal et al., 2025). El uso de campañas de comunicación basadas en la transparencia genómica, como el sistema de "etiqueta roja" para antibióticos de último recurso en regiones como India, facilita una comprensión pública de la escasez del arsenal terapéutico (Pauwels et al., 2025). En conclusión, la formación comunitaria bajo una

visión sistémica constituye la infraestructura ética de la Gobernanza Antimicrobiana, asegurando que el uso responsable de los fármacos sea una responsabilidad compartida que anteponga la integridad de la biosfera microbiana al alivio sintomático inmediato (Bilal et al., 2025).

12.12. Visión 2030: De la resistómica estructural a la erradicación de la sepsis prevenible

La hoja de ruta hacia la década de 2030 sitúa a la Resistómica Estructural como el motor tecnológico primordial para alcanzar el objetivo de la erradicación de la sepsis prevenible, transformando el manejo de las infecciones críticas mediante la fusión de la nanomedicina y la inteligencia multiómica (Bilal et al., 2025). Fisiopatológicamente, la mortalidad por sepsis en patógenos MDRO no es solo el resultado de la virulencia bacteriana, sino de un fracaso en la cinética de intervención; por tanto, la visión 2030 apuesta por dispositivos de diagnóstico instantáneo sensores de nanoporos y lab-on-a-chip que detecten el resistoma funcional directamente del torrente circulatorio en menos de una hora (Ardila et al., 2023). Este paradigma permite saturar los mecanismos de eflujo activo de la bacteria antes de que esta inicie la cascada de disfunción endotelial masiva, asegurando que la terapia dirigida se inicie en la "hora de platino" del paciente séptico (W. Wu et al., 2024).

Analíticamente, la transición hacia 2030 se apoya en el desarrollo de adyuvantes inhibidores de la resistómica, moléculas diseñadas mediante inteligencia artificial generativa que bloquean selectivamente las maquinarias de resistencia adaptativa, tales como los sistemas de secreción tipo VI o las bombas RND, restaurando la potencia de los betalactámicos convencionales (W. Wu et al., 2024). Como señalan (Esposito et al., 2025), el uso ubicuo de Gemelos Digitales (Digital Twins) de pacientes sépticos permitirá simular intervenciones de ultra-precisión infectológica, optimizando la Probabilidad de Alcanzar el Objetivo (PTA) según el perfil genómico específico del clon infectante y la respuesta inflamatoria del huésped (Bilal et al., 2025). La relevancia clínica de esta visión es absoluta para la pediatría y la neonatología, donde la erradicación de la sepsis por Gram negativos XDR mediante péptidos antimicrobianos (AMPs) inspirados en la inmunidad ancestral promete reducir drásticamente la mortalidad neonatal global (Y. Wang, Zhao, et al., 2025).

Hacia el futuro, la integración de la vigilancia genómica ambiental bajo el enfoque "One Health" actuará como un escudo preventivo planetario, identificando la emergencia de superclones antes de su infiltración clínica (Elbehiry et al., 2025). La implementación de sistemas basados en CRISPR-Cas para la edición in situ del mobiloma en comunidades

humanas de alto riesgo representa la frontera biotecnológica definitiva para eliminar los reservorios de resistencia extrema (Bilal et al., 2025). En conclusión, la visión 2030 redefine la lucha contra la sepsis como una ciencia de precisión genómica y proactividad biológica; mediante la desarticulación de la Resistómica Estructural, la medicina moderna recuperará su capacidad para salvaguardar la vida humana frente a la evolución bacteriana, consolidando un ecosistema sanitario resiliente y sostenible (Tamami et al., 2025).

12.13. Controversias actuales, análisis crítico de la evidencia y perspectivas futuras

La actual encrucijada del ecosistema One Health 2026 se caracteriza por una tensión dialéctica entre el avance tecnológico exponencial y la persistente incertidumbre en la validación universal de los criterios de intervención clínica (Tamami Tualombo et al., 2025). Una de las controversias más agudas radica en la "caja negra" diagnóstica de la metagenómica; si bien la mNGS identifica con precisión la presencia de genes de resistencia extrema en el ambiente y la clínica, la brecha entre la detección genómica y la ineficacia terapéutica funcional *in vivo* sigue siendo difícil de predecir sin la integración de modelos de metatranscriptómica cuantitativa que evalúen el nivel real de expresión enzimática (Bilal et al., 2025). Como argumentan (Bilal et al., 2025), el análisis crítico de la evidencia exige el desarrollo de modelos de inteligencia artificial explicable (XAI) que permitan al clínico discernir si la resistencia detectada es constitutiva o inducida por el estrés del nicho infeccioso (Bilal et al., 2025).

Otro área de intenso debate crítico es el impacto del cambio climático como modulador biofísico de la transferencia horizontal de genes (Matzaras et al., 2025). Aunque modelos estocásticos correlacionan el incremento de la temperatura con una mayor fluidez de la membrana y, por ende, con una aceleración en la conjugación bacteriana, la magnitud exacta de esta interacción en la arquitectura del resistoma hospitalario urbano sigue siendo objeto de modelado planetario complejo (W. Wu et al., 2024). El análisis crítico sugiere que la vigilancia genómica debe trascender la cama del paciente para incluir perfiles de metabolómica ambiental, identificando nexos de co-selección entre microplásticos, metales pesados y genes de resistencia extrema antes de que estos se infiltren en la cadena alimentaria humana (S. Zhang et al., 2025).

Hacia el futuro, las perspectivas se centran en la democratización del acceso a la medicina de precisión mediante el desarrollo de secuenciadores de nanoporos portátiles de bajo coste y dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (Point-of-Care) integrados con bioinformática en el borde (Bilal et al., 2025). La implementación de sistemas basados en

CRISPR-Cas para la desensibilización in vivo de patógenos MDRO y el diseño de péptidos antimicrobianos (AMPs) optimizados estocásticamente representan las fronteras biotecnológicas para superar el agotamiento de la era antibiótica convencional (Y. Wang, Zhao, et al., 2025). En última instancia, la lucha contra la resistencia antimicrobiana requiere una metamorfosis radical del paradigma clínico, donde la Resistómica Estructural, la inteligencia artificial y la gobernanza One Health sean los pilares para navegar una evolución microbiana que no conoce fronteras taxonómicas ni geográficas.

Bibliografia

- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A. R., Wlodarski, M. A., Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S. A., Tsang, K. K., Baker, S. J. C., Dave, M., McCarthy, M. C., Mukiri, K. M., Nasir, J. A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., ... McArthur, A. G. (2023). CARD 2023: Expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D690-D699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
- Ardila, C. M., Jiménez-Arbeláez, G. A., & Vivares-Builes, A. M. (2023). The Potential Clinical Applications of a Microfluidic Lab-on-a-Chip for the Identification and Antibiotic Susceptibility Testing of *Enterococcus faecalis*-Associated Endodontic Infections: A Systematic Review. *Dentistry Journal*, 12(1), 5. <https://doi.org/10.3390/dj12010005>
- Bilal, H., Khan, M. N., Khan, S., Shafiq, M., Fang, W., Khan, R. U., Rahman, M. U., Li, X., Lv, Q.-L., & Xu, B. (2025). The role of artificial intelligence and machine learning in predicting and combating antimicrobial resistance. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 27, 423-439. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2025.01.006>
- Boussios, S., Devo, P., Goodall, I. C. A., Sirlantzis, K., Ghose, A., Shinde, S. D., Papadopoulos, V., Sanchez, E., Rassy, E., & Ovsepian, S. V. (2023). Exosomes in the Diagnosis and Treatment of Renal Cell Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 14356. <https://doi.org/10.3390/ijms241814356>
- Choi, Y.-K., Jayanti, R. P., Uyen, N. T. H., Cho, Y.-S., & Shin, J.-G. (2025). Web-based automated therapeutic drug monitoring application for precision medicine in tuberculosis management. *Translational and Clinical Pharmacology*, 33(2), 51. <https://doi.org/10.12793/tcp.2025.33.e9>
- Denk-Lobnig, M., & Wood, K. B. (2023). Antibiotic resistance in bacterial communities. *Current Opinion in Microbiology*, 74, 102306. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2023.102306>

- Elbehiry, A., Marzouk, E., & Abalkhail, A. (2025). Antimicrobial resistance at a turning point: Microbial drivers, one health, and global futures. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1698809. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1698809>
- Elshobary, M. E., Badawy, N. K., Ashraf, Y., Zatioun, A. A., Masriya, H. H., Ammar, M. M., Mohamed, N. A., Mourad, S., & Assy, A. M. (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>
- Esposito, S., Campana, B. R., Seferi, H., Cinti, E., & Argentiero, A. (2025). Digital Twins in Pediatric Infectious Diseases: Virtual Models for Personalized Management. *Journal of Personalized Medicine*, 15(11), 514. <https://doi.org/10.3390/jpm15110514>
- Feduniw, S., Zeber-Lubecka, N., Pruc, M., Gaca, Z., Szarpak, Ł., & Ciebiała, M. (2025). Does the Vaginal Microbiota Influence the Incidence of the Preterm Premature Rupture of Membranes? *Journal of Clinical Medicine*, 14(18), 6577. <https://doi.org/10.3390/jcm14186577>
- Feng, Y., Lu, X., Zhao, J., Li, H., Xu, J., Li, Z., Wang, M., Peng, Y., Tian, T., Yuan, G., Zhang, Y., Liu, J., Zhang, M., Zhu La, A. L. T., Qu, G., Mu, Y., Guo, W., Wu, Y., Zhang, Y., ... Kan, B. (2025). Regional antimicrobial resistance gene flow among the One Health sectors in China. *Microbiome*, 13(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01983-x>
- Franklin, A. M., Weller, D. L., Durso, L. M., Bagley, M., Davis, B. C., Frye, J. G., Grim, C. J., Ibekwe, A. M., Jahne, M. A., Keely, S. P., Kraft, A. L., McConn, B. R., Mitchell, R. M., Ottesen, A. R., Sharma, M., Strain, E. A., Tadesse, D. A., Tate, H., Wells, J. E., ... Garland, J. L. (2024). A one health approach for monitoring antimicrobial resistance: Developing a national freshwater pilot effort. *Frontiers in Water*, 6, 1359109. <https://doi.org/10.3389/frwa.2024.1359109>
- Gaub, A., & Rahman, K. M. (2023). Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*, 12(11), 1590. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111590>
- Graf, M., Sarkar, A., Svensson, C.-M., Munser, A.-S., Schröder, S., Müller, E., Hengoju, S., Figge, M. T., & Rosenbaum, M. A. (2025). Multiplexed, rapid phenotypic antibiotic

- susceptibility testing based on angle-resolved light scattering imaging of microfluidic droplets. *Journal of Advanced Research*, S2090123225007519. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2025.09.047>
- Grobeisen-Duque, O., Mora-Vargas, C. D., Villavicencio-Carrisoza, O., Flores-Villanueva, J., Martinez-Salazar, M. G., Flores-Herrera, H., Leon-Juarez, M., Zaga-Clavellina, V., Cerna-Cortes, J. F., Rivera-Gutierrez, S., Rosas-Balan, A., Aguilera-Arreola, Ma. G., & Helguera-Repetto, A. C. (2025). Association of substance use and vaginal infection with UTI in adolescent pregnant patients: A retrospective study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 25(1), 1189. <https://doi.org/10.1186/s12884-025-08364-8>
- Guerrero-Flores, S., Contreras-Peruyero, H., Ibarra-Rodríguez, J. M., Lovaco-Flores, J. A., Nieto-de La Rosa, F. S., Fontove-Herrera, F., & Sélem-Mojica, N. (2025). Topological data analysis captures horizontal gene transfer in antimicrobial resistance gene families among clinically relevant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1461293. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1461293>
- Hala, S., Malaikah, M., Huang, J., Bahitham, W., Fallatah, O., Zakri, S., Antony, C. P., Alshehri, M., Ghazzali, R. N., Ben-Rached, F., Alsahafi, A., Alsaedi, A., AlAhmadi, G., Kaaki, M., Alazmi, M., AlhajHussein, B., Yaseen, M., Zowawi, H. M., Alghoribi, M. F., ... Pain, A. (2024). The emergence of highly resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* CC14 clone in a tertiary hospital over 8 years. *Genome Medicine*, 16(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13073-024-01332-5>
- Hasan, G. M., Mohammad, T., Shamsi, A., Sohal, S. S., & Hassan, Md. I. (2025). Applications of Genome Sequencing in Infectious Diseases: From Pathogen Identification to Precision Medicine. *Pharmaceuticals*, 18(11), 1687. <https://doi.org/10.3390/ph18111687>
- Hattab, S., Ma, A. H., Tariq, Z., Vega Prado, I., Drobish, I., Lee, R., & Yee, R. (2024). Rapid Phenotypic and Genotypic Antimicrobial Susceptibility Testing Approaches for Use in the Clinical Laboratory. *Antibiotics*, 13(8), 786. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13080786>

- Hwengwere, K., Paramel Nair, H., Hughes, K. A., Peck, L. S., Clark, M. S., & Walker, C. A. (2022). Antimicrobial resistance in Antarctica: Is it still a pristine environment? *Microbiome*, 10(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01250-x>
- Iskandar, K., Molinier, L., Hallit, S., Sartelli, M., Hardcastle, T. C., Haque, M., Lugova, H., Dhingra, S., Sharma, P., Islam, S., Mohammed, I., Naina Mohamed, I., Hanna, P. A., Hajj, S. E., Jamaluddin, N. A. H., Salameh, P., & Roques, C. (2021). Surveillance of antimicrobial resistance in low- and middle-income countries: A scattered picture. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 10(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00931-w>
- Jaiswal, U., Arun, A., Singh, A. P., Choudhury, S., Prabhu, S. N., & Gangwar, N. (2022). Imipenem Induced Transcriptional Modulation of Multidrug Efflux Pumps and Porin Genes in Carbapenem Resistant Escherichia coli Isolates of Animal Origin. *Indian Journal of Animal Research*, (Of). <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-4880>
- Jia, H., Li, X., Zhuang, Y., Wu, Y., Shi, S., Sun, Q., He, F., Liang, S., Wang, J., Draz, M. S., Xie, X., Zhang, J., Yang, Q., & Ruan, Z. (2024). Neural network-based predictions of antimicrobial resistance phenotypes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from whole genome sequencing and gene expression. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(12), e01446-24. <https://doi.org/10.1128/aac.01446-24>
- Korczak, L., Majewski, P., Iwaniuk, D., Sacha, P., Matulewicz, M., Wieczorek, P., Majewska, P., Wieczorek, A., Radziwon, P., & Tryniszewska, E. (2024). Molecular mechanisms of tigecycline-resistance among Enterobacterales. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1289396. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1289396>
- Li, C., McCrone, S., Warrick, J. W., Andes, D. R., Hite, Z., Volk, C. F., Rose, W. E., & Beebe, D. J. (2023). Under-oil open microfluidic systems for rapid phenotypic antimicrobial susceptibility testing. *Lab on a Chip*, 23(8), 2005-2015. <https://doi.org/10.1039/D3LC00066D>
- Li, Y., Cui, X., Yang, X., Liu, G., & Zhang, J. (2024). Artificial intelligence in predicting pathogenic microorganisms' antimicrobial resistance: Challenges, progress, and prospects. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1482186. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1482186>

- Li, Z., Yang, Y., Wang, X., Yang, N., He, L., Wang, J., Ping, F., Xu, L., Zhang, H., Li, W., & Li, Y. (2024). Comparative analysis of atherosclerotic cardiovascular disease burden between ages 20–54 and over 55 years: Insights from the Global Burden of Disease Study 2019. *BMC Medicine*, 22(1), 303. <https://doi.org/10.1186/s12916-024-03527-4>
- Liu, Y., Wang, Z., Jian, Z., Liu, P., Li, Y., Qin, F., Yan, Q., & Liu, W. (2025). Nosocomial transmission, adaption and clinical outcomes of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Microbiology*, 25(1), 376. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04096-z>
- Luna-De-Alba, A., Flores-Treviño, S., Camacho-Ortiz, A., Contreras-Cordero, J. F., & Bocanegra-Ibarras, P. (2024). Genetic Characterization of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* and Synergy Assessment of Antimicrobial Combinations. *Antibiotics*, 13(11), 1079. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111079>
- Matzaras, R., Biros, D., Sakkou, S. F., Lymperatou, D., Filippas-Ntekouan, S., Prokopidou, A., Konstantopoulou, R., Samanidou, V., Athanasiou, L., Christou, A., Adamidis, P.-S., Koutsogianni, A. D., Liamis, G., Milionis, H., Florentin, M., & Christaki, E. (2025). Risk Factors Associated with Community-Onset Infections Due to Multidrug-Resistant Organisms. *Antibiotics*, 14(11), 1073. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14111073>
- Michaelis, C., & Grohmann, E. (2023). Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. *Antibiotics*, 12(2), 328. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>
- Nasrollahian, S., Graham, J. P., & Halaji, M. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1387497. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>
- Pauwels, I., Versporten, A., Ashiru-Oredope, D., Costa, S. F., Maldonado, H., Porto, A. P. M., Mehtar, S., Goossens, H., Anthierens, S., & Vlieghe, E. (2025). Implementation of hospital antimicrobial stewardship programmes in low- and middle-income countries: A qualitative study from a multi-professional perspective in the Global-PPS network. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 14(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s13756-025-01541-6>

- Pérez-Ibave, D. C., Burciaga-Flores, C. H., García-Mejía, X., Alcorta-Nuñez, F., Solís-Coronado, O., Escamilla, M. G., Vidal-Gutiérrez, O., & Garza-Rodríguez, M. L. (2025). Hallmarks of Bacterial Vaginosis. *Diagnostics*, 15(9), 1090. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15091090>
- Peri, A. M., Chatfield, M. D., Ling, W., Furuya-Kanamori, L., Harris, P. N. A., & Paterson, D. L. (2024). Rapid Diagnostic Tests and Antimicrobial Stewardship Programs for the Management of Bloodstream Infection: What Is Their Relative Contribution to Improving Clinical Outcomes? A Systematic Review and Network Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 79(2), 502-515. <https://doi.org/10.1093/cid/ciae234>
- Sultana, S., Wagatsuma, Y., Sharmin, R., Ahmed, D., Chowdhury, A. H., Haque, A., Ahmed, T., Brüßow, H., & Sarker, S. A. (2025). Effects of fructo-oligosaccharides on genitourinary tract infections and birth outcomes in pregnant women: A randomized controlled trial in Bangladesh. *Tropical Medicine and Health*, 53(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s41182-025-00788-4>
- Tamami Tualombo, S. B., Yauri Bucheli, M. F., & Alcocer Negrete, I. D. R. (2025). Antimicrobial resistance in clinical Gram-negative bacilli: Phenotypic and genotypic characterization in Ecuador. *BioNatura Journal: Ibero-American Journal of Biotechnology and Life Sciences*, 2(3), 17. <https://doi.org/10.70099/BJ/2025.02.03.13>
- Thai, T. D., Nithimongkolchai, N., Kaewseekhao, B., Samarnjit, J., Sukkasem, C., Wonglakorn, L., Sirichoat, A., Nithichanon, A., & Faksri, K. (2025). MALDI-TOF mass spectrometry discriminates drug-susceptible and -resistant strains in *Mycobacterium abscessus*. *PLOS ONE*, 20(3), e0319809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0319809>
- Vitale, S. G., Ferrari, F., Ciebiera, M., Zgliczyńska, M., Rapisarda, A. M. C., Vecchio, G. M., Pino, A., Angelico, G., Knafel, A., Riemma, G., De Franciscis, P., & Cianci, S. (2021). The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 180. <https://doi.org/10.3390/ijms23010180>
- Wang, R., Zhang, A., Sun, S., Yin, G., Wu, X., Ding, Q., Wang, Q., Chen, F., Wang, S., Van Dorp, L., Zhang, Y., Jin, L., Wang, X., Balloux, F., & Wang, H. (2024). Increase in antioxidant capacity associated with the successful subclone of hypervirulent

- carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11-KL64. *Nature Communications*, 15(1), 67. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44351-3>
- Wang, Y., Li, Q., Bi, L., Wang, B., Lv, T., & Zhang, P. (2025). Global trends in the burden of ischemic heart disease based on the global burden of disease study 2021: The role of metabolic risk factors. *BMC Public Health*, 25(1), 310. <https://doi.org/10.1186/s12889-025-21588-9>
- Wang, Y., Zhao, L., Li, Z., Xi, Y., Pan, Y., Zhao, G., & Zhang, L. (2025). A generative artificial intelligence approach for the discovery of antimicrobial peptides against multidrug-resistant bacteria. *Nature Microbiology*, 10(11), 2997-3012. <https://doi.org/10.1038/s41564-025-02114-4>
- Wu, W., Huang, J., & Xu, Z. (2024). Antibiotic influx and efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Regulation and therapeutic implications. *Microbial Biotechnology*, 17(5), e14487. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14487>
- Wu, Y., Gu, L., & Huang, X. (2025). MiR-143-5p serves as a diagnostic biomarker in patients with sepsis and regulates sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction. *Hereditas*, 163(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s41065-025-00623-0>
- Xing, Z., Jiang, H., Liu, X., Chai, Q., Xin, Z., Zhu, C., Bao, Y., Chen, H., Gao, H., & Ma, D. (2024). Integrating DNA/RNA microbe detection and host response for accurate diagnosis, treatment and prognosis of childhood infectious meningitis and encephalitis. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 583. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05370-w>
- Zhang, C., Peng, J., Liu, Z., & Zhou, Q. (2023). Kidney Involvement in Autoinflammatory Diseases. *Kidney Diseases*, 9(3), 157-172. <https://doi.org/10.1159/000529917>
- Zhang, J., Gao, L., Zhu, C., Jin, J., Song, C., Dong, H., Li, Z., Wang, Z., Chen, Y., Yang, Z., Tan, Y., & Wang, L. (2022). Clinical value of metagenomic next-generation sequencing by Illumina and Nanopore for the detection of pathogens in bronchoalveolar lavage fluid in suspected community-acquired pneumonia patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1021320. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1021320>

- Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 12, 766364. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- Zhang, P., Wang, S., Wu, T., Su, Z., Deng, W., & Zhang, Q. (2026). Association between systemic inflammatory response index and cardiovascular disease risk in rheumatoid arthritis patients: A machine learning based on US and Chinese cohorts. *Clinical Rheumatology*, 45(2), 755-766. <https://doi.org/10.1007/s10067-025-07915-w>
- Zhang, Q., Xu, N., Lei, C., Chen, B., Wang, T., Ma, Y., Lu, T., Penuelas, J., Gillings, M., Zhu, Y., Fu, Z., & Qian, H. (2023). Metagenomic Insight into The Global Dissemination of The Antibiotic Resistome. *Advanced Science*, 10(33), 2303925. <https://doi.org/10.1002/advs.202303925>
- Zhang, S., Li, X., Li, X., Fu, Y., Chen, L., Wang, W., Lin, Q., Lou, H., Yao, Y., Chen, W., Zhong, C., Ye, J., Yao, Y., Guo, H., Yu, Y., & Zhou, H. (2025). Optimisation and clinical validation of a metagenomic third-generation sequencing approach for aetiological diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid of patients with pneumonia. *eBioMedicine*, 116, 105752. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2025.105752>
- Zhang, X., Chen, Y., Zhu, K., Yu, X., & Zhao, J. (2025). Characteristics of vaginal microbiota in pregnant women with cervical insufficiency and its association with adverse pregnancy outcomes. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 41(5), 1381-1387. <https://doi.org/10.12669/pjms.41.5.11966>
- Zhao, J., Sun, Y., Tang, J., Guo, K., Wang, K., Zhuge, J., & Fang, H. (2024). The clinical application of metagenomic next-generation sequencing in immunocompromised patients with severe respiratory infections in the ICU. *Respiratory Research*, 25(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02991-z>
- Zhao, J., Zhuge, R., Hu, B., Wang, Y., Wang, X., Zhang, Y., Yuan, L., Qiu, C., Yan, Y., Zhang, X., Hua, Z., Tang, J., Guo, K., Sun, Y., Wang, K., Qiu, L., Luo, J., Zhang, W., Zhuge, J., & Fang, H. (2025). Clinical impact of bronchoalveolar lavage fluid metagenomic next-generation sequencing in immunocompromised patients with severe community-

acquired pneumonia in ICU: A multicenter retrospective study. *Infection*, 53(5), 1911-1927. <https://doi.org/10.1007/s15010-025-02520-0>

Zhao, M., Zhang, Y., Chen, L., Yan, X., Xu, T., Fu, M., Han, Y., Zhang, Y., Zhang, B., Cao, J., Lin, J., Shen, D., Li, S., Zhu, C., & Zhao, W. (2024). Nanopore sequencing of infectious fluid is a promising supplement for gold-standard culture in real-world clinical scenario. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1330788. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1330788>

Zhao, W., Sun, P., Li, W., & Shang, L. (2025). Machine Learning-Based Prediction Model for Multidrug-Resistant Organisms Infections: Performance Evaluation and Interpretability Analysis. *Infection and Drug Resistance*, Volume 18, 2255-2269. <https://doi.org/10.2147/IDR.S459830>

Zhao, Y., Zhang, W., & Zhang, X. (2024). Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1458316. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1458316>

Glosario

A

AcrAB-TolC: Complejo tripartito de bomba de eflujo de *Escherichia coli* que expulsa múltiples antibióticos mediante la fuerza motriz de protones.

Análisis de Datos Topológicos (TDA): Método computacional que identifica patrones complejos y eventos de transferencia horizontal en datos genómicos.

ARGs (Genes de Resistencia a Antimicrobianos): Genes que confieren resistencia frente a uno o varios antimicrobianos.

B

Bacteriófago: Virus que infecta bacterias y puede movilizar genes mediante transducción.

Biofilm (Biopelícula): Comunidad de microorganismos adherida a una superficie e inmersa en una matriz extracelular protectora.

BLEE: Betalactamasas de espectro extendido capaces de hidrolizar numerosos antibióticos betalactámicos.

Bombas de eflujo RND: Transportadores que expulsan compuestos tóxicos del interior bacteriano hacia el exterior.

C

Carbapenemasas: Enzimas que inactivan carbapenémicos, considerados antibióticos de último recurso.

CMI: Concentración mínima inhibitoria necesaria para impedir el crecimiento visible de un microorganismo.

CRISPR-Cas: Sistema de edición y defensa genética con potencial para eliminar plásmidos de resistencia.

E

Envoltura celular: Conjunto de estructuras que rodean la célula bacteriana, incluyendo membranas y pared celular.

EPS: Matriz de sustancias poliméricas extracelulares que estabiliza las biopelículas.

ESKAPE: Grupo de patógenos prioritarios con elevada capacidad para desarrollar resistencia antimicrobiana.

F

Fenotipado rápido: Conjunto de métodos que permiten determinar rápidamente la susceptibilidad antimicrobiana.

Fuerza motriz de protones (PMF): Gradiente electroquímico que suministra energía a diversos sistemas bacterianos.

G

Genotipo: Conjunto de características genéticas presentes en un microorganismo.

H

Homología persistente: Herramienta matemática utilizada para detectar estructuras topológicas en datos genómicos.

I

Integrón: Elemento genético que captura y reorganiza casetes de genes de resistencia.

Inteligencia artificial: Algoritmos capaces de predecir perfiles de resistencia a partir de información genómica.

L

Lípido A: Componente del lipopolisacárido que constituye la diana principal de las polimixinas.

M

MALDI-TOF: Técnica de espectrometría de masas utilizada para identificar microorganismos con rapidez.

mcr-1: Gen plasmídico que confiere resistencia a la colistina mediante modificación del Lípido A.

Metagenómica: Estudio del material genético presente en comunidades microbianas completas.

MexAB-OprM: Sistema de bomba de eflujo característico de *Pseudomonas aeruginosa*.

Mobiloma: Conjunto de elementos genéticos móviles responsables de la circulación de genes entre bacterias.

N

NDM: Metalo-betalactamasa de gran relevancia clínica por conferir resistencia a carbapenémicos.

O

OmpC y OmpF: Porinas principales de enterobacterias que regulan el paso de moléculas hidrofílicas.

OMVs: Vesículas de membrana externa que participan en comunicación y protección bacteriana.

One Health: Enfoque que integra la salud humana, animal y ambiental.

OprD: Porina de *Pseudomonas aeruginosa* implicada en la entrada de carbapenémicos.

P

Persistencia bacteriana: Estado fisiológico reversible que favorece la supervivencia durante tratamientos.

PhoP/PhoQ: Sistema regulador que controla respuestas adaptativas frente al estrés ambiental.

Plásmido: Elemento genético extracromosómico capaz de transportar genes de resistencia.

PmrA/PmrB: Sistema regulador implicado en la resistencia a polimixinas.

Porinas: Proteínas de membrana que controlan el ingreso de moléculas al interior celular.

R

Resistoma: Conjunto de genes de resistencia presentes en un microorganismo o comunidad microbiana.

RT-qPCR: Técnica molecular para cuantificar la expresión génica.

S

Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS): Complejo proteico que facilita la transferencia conjugativa de ADN.

Stewardship antimicrobiano: Estrategia para optimizar el uso de antimicrobianos y reducir la resistencia.

Susceptibilidad antimicrobiana: Grado de sensibilidad de un microorganismo frente a un antimicrobiano.

T

Transducción: Transferencia de ADN bacteriano mediada por bacteriófagos.

Transferencia Horizontal de Genes (HGT): Intercambio de material genético entre bacterias sin reproducción.

Transposón: Elemento genético móvil capaz de desplazarse entre diferentes regiones del ADN.

W

WGS: Secuenciación completa del genoma para caracterizar microorganismos y sus mecanismos de resistencia