El arte de sobrevivir: estrategias bacterianas en ambientes humanos

Sarah Panera-Martínez[1*]

[1]Personal Docente e Investigador de la Universidad de León (ULE)

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3343-4318

*Autora de correspondencia: spanm@unileon.es

Resumen

Las bacterias son microorganismos primitivos que han desarrollado sofisticadas estrategias que les permiten sobrevivir y adaptarse en prácticamente cualquier lugar, incluidos los ambientes humanos, donde pueden comportarse como aliadas o como enemigos persistentes. Más allá de la resistencia a fármacos o desinfectantes, las bacterias han perfeccionado mecanismos de supervivencia comunitarios (como la formación de biopelículas) y fisiológicos (como la entrada en estado viable pero no cultivable; VBNC) que dificultan su detección y control. La resistencia bacteriana a los antibióticos es un fenómeno agravado por el uso excesivo de estos compuestos en medicina y ganadería, amenazando con revertir los avances médicos logrados en el último siglo para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Por otro lado, los biofilms constituyen estructuras protectoras donde las bacterias cooperan y se resguardan de los antimicrobianos o defensas del huésped. Además, su compleja matriz extracelular dificulta su erradicación y favorece el intercambio genético entre especies, lo que les convierte en reservorios de resistencia y persistencia bacterianas. Por su parte, las bacterias en estado VBNC reducen su metabolismo bajo condiciones ambientales desfavorables, pero reactivándose cuando las condiciones vuelven a ser favorables y pudiendo originar nuevas infecciones. Además, son capaces de pasar inadvertidas con los métodos de diagnóstico convencionales, suponiendo un grave problema a la hora de detectarlas. Es importante tener en cuenta que estas estrategias no ocurren de forma aislada, de manera que la coexistencia de resistencia a los antibióticos, formación de biofilms y entrada en estado VBNC genera sistemas de supervivencia altamente eficaces. En definitiva, comprender el «arte de sobrevivir» de las bacterias es el primer paso hacia el desarrollo de estrategias de detección y control más inteligentes y eficaces.

Palabras clave: Bacterias, resistencia a antibióticos, biofilms, viabilidad celular, mecanismos de supervivencia

Introducción

Las bacterias son uno de los grupos de organismos más antiguos de la Tierra, dominando el planeta mucho antes de que aparecieran los primeros animales o plantas. Son organismos unicelulares procariotas, es decir, cada bacteria está formada por una única célula sin núcleo definido y capaz de llevar a cabo por sí misma todas las funciones vitales. Por este motivo, a lo largo de esta revisión se usarán indistintamente los términos “bacteria”, “célula bacteriana” y “célula” para hacer referencia a estos microorganismos. A lo largo de millones de años, han podido prosperar en prácticamente casi todos los ecosistemas, incluyendo aquellos que suponen entornos muy hostiles, tales como fondos oceánicos, glaciares o aguas termales[1]. Han sido capaces de desarrollar multitud de mecanismos de defensa que les permiten evitar o mitigar el daño producido por amenazas externas, tanto bióticas (producidas por otras formas de vida) como abióticas (derivadas del medio ambiente que les rodea), convirtiéndolas así en auténticas maestras de la supervivencia[2].

Esta amplia distribución también afecta a ambientes humanos, ya que nuestro propio cuerpo está poblado por aproximadamente 38 billones de bacterias, tanto en su superficie como en las cavidades que comunican con el exterior y muchas de ellas cumplen funciones imprescindibles. Algunas ayudan a digerir los alimentos, mientras que otras fortalecen nuestro sistema inmunológico o incluso compiten con otros microorganismos que pueden ser potencialmente dañinos para nuestra salud, conocidos como patógenos[3]. Sin embargo, en esta propia convivencia con el ser humano también existe un riesgo, ya que algunos de estos microorganismos patógenos han desarrollado estrategias tan sofisticadas de supervivencia que les permiten aprovechar las oportunidades que ofrece el cuerpo humano para multiplicarse muy rápidamente y causar infecciones, suponiendo un problema de salud pública que afecta a millones de personas cada año[4,5].

Esta es una de las claves de su éxito, ya que les ha permitido evolucionar muy rápidamente, siendo capaces de adaptarse fenotípicamente (cambios producidos en su fisiología, pero sin alterar su material genético) o genotípicamente (producida por alguna mutación en sus genes) a entornos hostiles como los del cuerpo humano[6]. Este hecho ha permitido que se desarrollen variantes capaces de resistir al tratamiento con algunos medicamentos, como los antibióticos, o desinfectantes[7]. Además, son capaces de intercambiar estos genes de interés (como, por ejemplo, aquellos que confieren resistencia a un antibiótico determinado) incluso entre individuos de especies diferentes a través de un mecanismo conocido como transmisión horizontal de ADN[8]. Otros tipos de adaptaciones que han desarrollado estos microorganismos son: la capacidad que tienen algunas bacterias de formar biopelículas protectoras adheridas a diferentes tipos de superficies dentro de las que conviven en «comunidad»[9]; o la capacidad de pasar inadvertidas en los controles rutinarios entrando en un estado de «dormición» conocido como viable pero no cultivable[10].

Comprender cómo las bacterias son capaces de adaptarse a la especie humana no es exclusivamente una cuestión científica, sino también una necesidad urgente para la salud pública, ya que abre las puertas a nuevas formas de prevención, diagnóstico y tratamiento de infecciones[6, 11]. Por ello, a lo largo de esta revisión se van a explorar algunas de las principales adaptaciones bacterianas a los ambientes humanos, junto con las implicaciones que tienen para la salud y algunos de los desafíos que suponen para la medicina moderna. Porque, aunque diminutas e invisibles, las bacterias están siempre presentes, recordándonos que la evolución no es una carrera que se gana, sino una constante negociación entre formas de vida que comparten el mismo ecosistema y, en algunos casos, incluso el mismo cuerpo.

Los antibióticos y la resistencia bacteriana a ellos

En 1928, Alexander Fleming observó que la presencia del hongo *Penicillium notatum* inhibía el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*, gracias a la producción de una sustancia que posteriormente se caracterizó como penicilina[12,13]. A raíz de este hito, se identificaron multitud de compuestos diferentes (pero similares en estructura y composición) con los que se desarrollaron

medicamentos utilizados para tratar enfermedades de carácter infeccioso[14]. Estas sustancias se caracterizan porque son capaces de destruir o detener la multiplicación de las bacterias que producen infecciones y se conocen como antibióticos[12]. Gracias a su utilización en la medicina moderna se ha conseguido reducir considerablemente el número de fallecimientos asociados a enfermedades infecciosas[15]. No obstante, en las últimas décadas, su eficacia ha sido eclipsada por la aparición y propagación de microbios resistentes a ellos, fenómeno conocido como resistencia bacteriana a los antibióticos[15, 16].

En la actualidad, esta resistencia es un tema de gran relevancia para toda la sociedad, ya que se trata de una grave amenaza para la salud pública a nivel mundial e involucra a los principales grupos de microorganismos patógenos[12]. El problema asociado a estas resistencias es tan serio que algunos modelos matemáticos estiman que durante este siglo la tasa de mortalidad debida a infecciones bacterianas podría llegar a alcanzar progresivamente los mismos valores que hace 100 años, previamente al descubrimiento de los antibióticos[16]. Se prevé que en el año 2050 las bacterias resistentes a los antibióticos provoquen unos 10 millones de defunciones a nivel mundial (**Figura 1**), convirtiéndola en la primera causa de fallecimiento, por delante de las enfermedades cardiovasculares y del cáncer[17]. Tal es así, que ha llegado a definirse como pandemia mundial silenciosa[18], como uno de los principales desafíos sanitarios del siglo XXI[19] e incluso, como una posible catástrofe global[20].

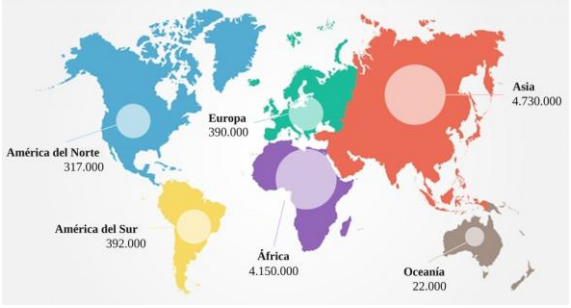


Figura 1. Número de defunciones atribuibles a infecciones producidas por bacterias resistentes a los antibióticos estimadas para el año 2050. Fuente: elaboración propia a partir de datos obtenidos de Edwards y col[17].

¿Por qué surge la resistencia a los antibióticos y cómo se propaga?

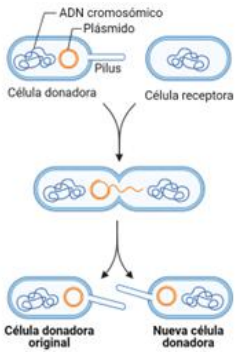
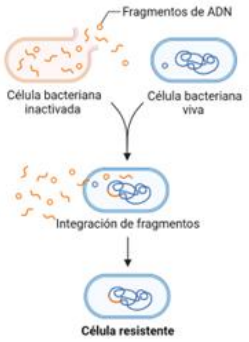
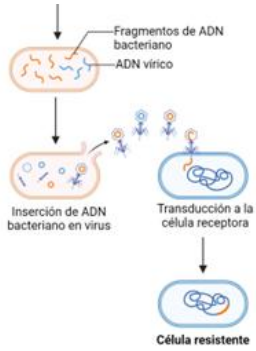
La resistencia a los antibióticos es un fenómeno natural que precede a la presión selectiva moderna del uso clínico de estos medicamentos y que surgió como respuesta de algunas bacterias a la interacción con otros microorganismos[21]. Sin embargo, el vertiginoso ritmo de aparición de cepas bacterianas con resistencia a múltiples antibióticos se asocia con el uso excesivo o inadecuado de estos antimicrobianos (especialmente cuando se aplican en dosis demasiado bajas o durante periodos muy cortos). Así, la resistencia a los antibióticos es más común en lugares donde se usan con frecuencia, como por ejemplo en los hospitales o en las explotaciones ganaderas[12, 22]. Algunos estudios establecen un vínculo directo entre el uso de antibióticos para tratar enfermedades en el ganado y la aparición de patógenos resistentes en humanos[23]. Esto se debe a que cuando un animal de abasto tiene en su cuerpo bacterias resistentes a los antibióticos, los alimentos obtenidos a partir de él (carne, leche, huevos) se pueden contaminar con estos microorganismos y llegar al consumidor o pasar al medio ambiente a través de agua contaminada[22]. La propagación de resistencias es especialmente preocupante en ambientes

acuáticos, ya que pueden propagarse fácilmente entre las comunidades microbianas acuáticas y contaminar peces o productos agrícolas a través del agua de riego[24].

Los mecanismos de resistencia a los antibióticos son muy diversos, pudiendo limitarse a cambios fisiológicos puntuales en las células bacterianas, derivados de la adaptación a un ambiente estresante, o a mutaciones en el material genético de las bacterias[25]. Cuando esta adaptación se debe a cambios fisiológicos entra en juego un concepto denominado resistencia cruzada a los antibióticos, como la propiciada por procesos de limpieza y desinfección de las instalaciones. Esto se debe a que muchas veces los mismos cambios que favorecen que estas bacterias sean capaces de soportar las condiciones adversas originadas por los desinfectantes también les confieren resistencia a los antibióticos[26]. Otros estudios sugieren que este fenómeno también ocurre en la naturaleza derivado del cambio climático, ya que el aumento de la temperatura puede afectar a la fisiología celular de las bacterias de manera muy similar que los antibióticos, facilitando así la aparición de resistencia a los mismos[24].

Por otro lado, cuando la resistencia se debe a la mutación de algún gen concreto se distinguen multitud de mecanismos de acción diferentes, entre los que destacan: la producción de sustancias capaces de destruir o modificar un antibiótico; y la alteración de la pared celular para impedir que el antibiótico penetre en la bacteria[27]. Además, un hecho preocupante en cuanto al control de la dispersión de estas resistencias es la capacidad que tienen las bacterias de transmitir estos genes tanto a su descendencia, por transmisión o evolución vertical, como a otras bacterias con las que conviven, mediante transferencia horizontal[28]. Existen diversos mecanismos de transferencia horizontal de genes (**Tabla 1**) siendo los más comunes; 1) la conjugación, en la que el gen de resistencia pasa desde una bacteria donante a otra receptora a través de estructuras tubulares formadas por las propias bacterias; 2) la transformación, en la que el gen de resistencia se encuentra libre en el ambiente y es introducido en una bacteria receptora; y 3) la transducción, en la que la transferencia del gen es mediada por la acción de un virus, denominado bacteriófago[29,30].

Tabla 1. Principales mecanismos de transmisión horizontal de genes en bacterias. Fuente: elaboración propia, adaptada de Liu y col. (2020)[30].

Conjugación	Transformación	Transducción
La transferencia de ADN se produce por contacto directo de célula a célula desde una bacteria donadora a otra receptora.	La transferencia de ADN se produce por captación de fragmentos de ADN de células bacterianas lisadas o inactivadas.	La transferencia de ADN desde una célula bacteriana donadora a otra receptora está mediada por la acción de un bacteriófago.
		

¿Qué son las biopelículas o biofilms bacterianos y cómo se forman?

Otra adaptación notable que las bacterias han desarrollado como mecanismo de defensa a las condiciones externas es la capacidad de formar biopelículas o biofilms, que son estructuras colectivas en las que las células bacterianas se agrupan y protegen dentro de una matriz viscosa[31]. Esta matriz está formada por sustancias extracelulares producidas por las propias bacterias y tiene la capacidad de mantenerlas unidas y adheridas entre sí y a las superficies con las que contactan siendo muy difíciles de eliminar[32]. Los biofilms son especialmente preocupantes para la salud humana cuando se forman sobre catéteres, prótesis y tejidos corporales (dentro de un contexto hospitalario) o sobre las superficies de contacto con los alimentos en mataderos, salas de despieces o cocinas (asociadas a la industria alimentaria).

La formación de biofilms es un proceso muy complejo que engloba varias etapas de desarrollo[33], pero que pueden simplificarse en cuatro fases independientes y secuenciales (**Figura 2**):

- **Adhesión:** las células bacterianas se adhieren a una superficie o a otro microorganismo previamente adherido a ella, aunque esta unión puede ser reversible si las condiciones externas no son favorables[34].
- **Colonización:** en este punto, las células se fijan irreversiblemente a la superficie aumentando la producción de sustancias adhesivas[35]. Además, esta etapa se asocia con la comunicación célula a célula, favoreciendo la formación de agregados celulares sobre los que se asentará posteriormente el biofilm[36].
- **Maduración:** durante esta etapa las células bacterianas se multiplican y producen una matriz extracelular compuesta por proteínas, lípidos (grasas), polisacáridos (azúcares) y ADN extracelular, hasta alcanzar una estructura tridimensional[33]. La matriz es importante para mantener las células

adheridas unas a otras, para proporcionar una fuente de nutrientes a las células, para crear una red de intercambio de recursos y material genético entre ellas y para protegerlas de las condiciones adversas[37, 38].

- **Dispersión:** en esta etapa final, las células se disocian del biofilm mientras los componentes de la matriz se degradan limitando el crecimiento bacteriano[39]. Las células bacterianas pueden propagarse por el ambiente e, incluso, colonizar nuevas superficies cercanas iniciando un nuevo evento de formación de biofilm[40]. Este proceso puede estar influido por ciertas condiciones ambientales estresantes, tales como la disponibilidad de nutrientes o los bajos niveles de oxígeno o pH, entre otros[41].

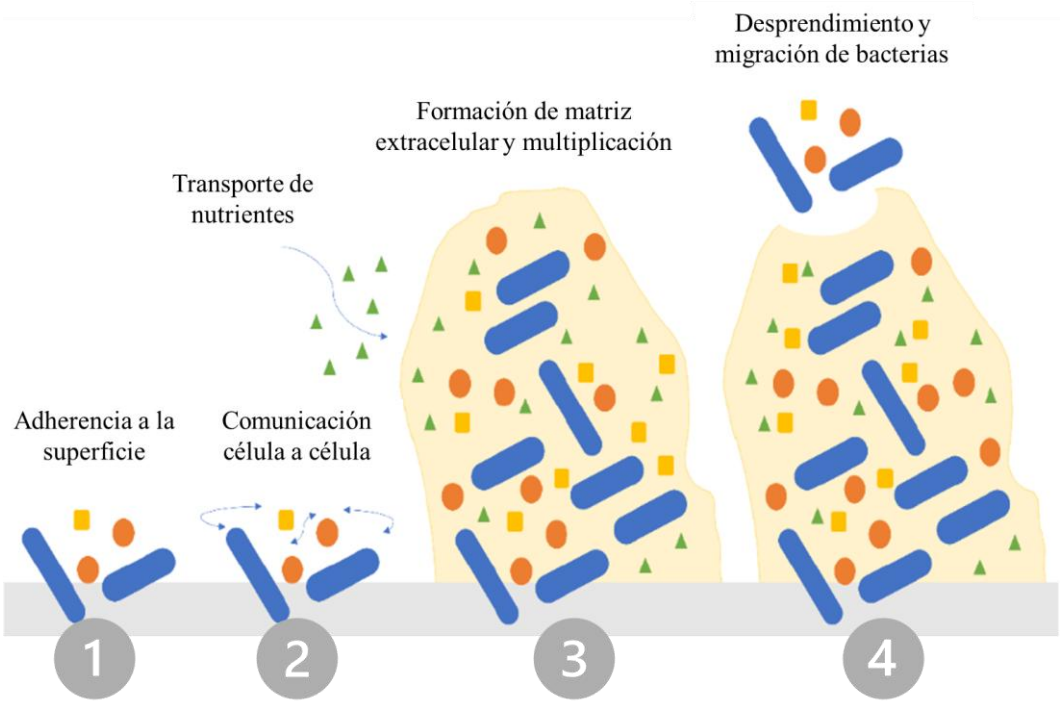


Figura 2. Estructura y fases de formación de un biofilm sobre una superficie (representada como una línea horizontal gris). Fuente: elaboración propia.

Este modelo puede no representar fielmente lo que ocurre realmente en la naturaleza, ya que el proceso de formación descrito puede no ser enteramente lineal, de manera que las fases de maduración y dispersión pueden llegar a ocurrir simultáneamente en diferentes regiones del mismo biofilm[42]. Además, las biopelículas presentes en la naturaleza suelen estar formadas por distintas especies bacterianas, lo que dificulta la comprensión de su complejidad estructural. Estas comunidades parecen más estables que las monoespecie, aunque dentro de ellas pueden producirse interacciones interespecíficas competitivas (por ejemplo, por nutrientes o espacio) o de apoyo (por ejemplo, suministrando protección frente a desinfectantes o antibióticos)[43].

Bacterias en modo hibernación: células viables no cultivables (VBNC)

Las comunidades bacterianas son muy complejas, existiendo células que se encuentran en diferentes estados fisiológicos, incluyendo tanto a células viables como inactivadas (**Figura 3**). Las bacterias en estado viable son células metabólica y

fisiológicamente activas y, por lo tanto, capaces de llevar a cabo todas las funciones básicas que las definen como seres vivos[44]. Por otro lado, las células inactivadas se corresponden con aquellas cuya membrana celular se encuentra comprometida y, por lo tanto, no son capaces de llevar a cabo los procesos biológicos. Dentro de las primeras se pueden distinguir claramente al menos dos poblaciones diferentes: por un lado, las bacterias cultivables, que son aquellas capaces de formar colonias y proliferar en medios de cultivo bajo condiciones experimentales, y, por otro, las bacterias en estado viable pero no cultivable (VBNC, por sus siglas en inglés, *viable but non-culturable*), que se asocian con las células metabólicamente activas pero que son incapaces de crecer y multiplicarse sobre un medio de cultivo[45]. Estas bacterias metabólicamente activas, pero no cultivables representan un gran desafío para la industria alimentaria, por ejemplo, ya que pasan totalmente desapercibidas por los métodos convencionales más utilizados para la detección y la cuantificación de microorganismos en los alimentos, que están basados completa o parcialmente en la aplicación de medios de cultivo[46-48].

La entrada de las células bacterianas en estado VBNC tiene causas variables entre las diferentes especies, pero hay una serie de factores comunes o variaciones en las condiciones ambientales que se asocian directamente con su aparición[49]. Algunos de los ejemplos más claros son los cambios bruscos en su entorno, ya sea por factores físicos (cambios de temperatura o aparición de radiaciones que impliquen daño celular[50,51]), químicos (presencia de metales pesados, desinfectantes o antimicrobianos[52]) o, incluso, biológicos (interacciones competitivas con otros microorganismos[53]). La habilidad de causar infección de las bacterias VBNC es un aspecto en continuo debate, ya que no se ha podido confirmar que todos los microorganismos patógenos sean capaces de mantener su nivel de virulencia cuando se encuentran en dicho estado. Sin embargo, si se ha podido comprobar que muchos de ellos son capaces de producir enfermedad por sí mismos o tras un proceso de reactivación[54] y, de hecho, se asume que una parte importante de las infecciones de origen alimentario están estrechamente relacionadas con la habilidad bacteriana de algunos microorganismos patógenos para sobrevivir en ambientes estresantes gracias a su entrada en el estado VBNC[55].

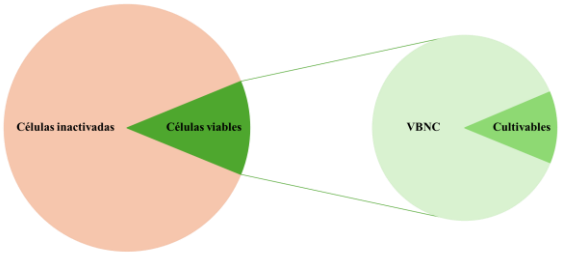


Figura 3. Representación gráfica de los diferentes estados fisiológicos en los que se encuentran las bacterias dentro de una misma población. VBNC: viables pero no cultivables Fuente: elaboración propia.

Cuando las condiciones ambientales son óptimas o se revierten los factores que indujeron a las bacterias al estado VBNC, éstas recuperan su capacidad de cultivo inicial y, por consiguiente, vuelven a realizar todos los procesos metabólicos y fisiológicos considerados dentro de los estándares de normalidad[56,57]. En la imagen de la **Figura 4** se observa cómo es una población bacteriana normal antes de la aparición de una situación

de estrés y cómo ésta va variando mientras la condición de estrés persiste o, finalmente, desaparece. En dicha representación, se tienen en cuenta varios grupos bacterianos: células viables, inactivadas, persistentes, VBNC y reactivadas. Las células persistentes constituyen una pequeña fracción de la población (normalmente inferior al 1 %) que, a diferencia de las células inactivadas, siguen siendo viables y, a diferencia de las células VBNC, conservan la capacidad de crecer en los medios de cultivo convencionales tras una breve fase de latencia; mientras que las VBNC se encuentran en un estado de dormición más profundo y requieren un periodo de reactivación mucho más largo. Ayrapetyan y colaboradores (2018) consideran que ambos estados forman parte de un mismo continuo de dormición, que supone una estrategia de supervivencia eficaz solo si las células pueden reactivarse y recuperar así su capacidad de cultivo y virulencia[58]. Sin embargo, otros autores han demostrado que algunos microorganismos patógenos, como *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, no necesitan de este proceso de reactivación celular para mantener su capacidad de infección en estado VBNC[59].

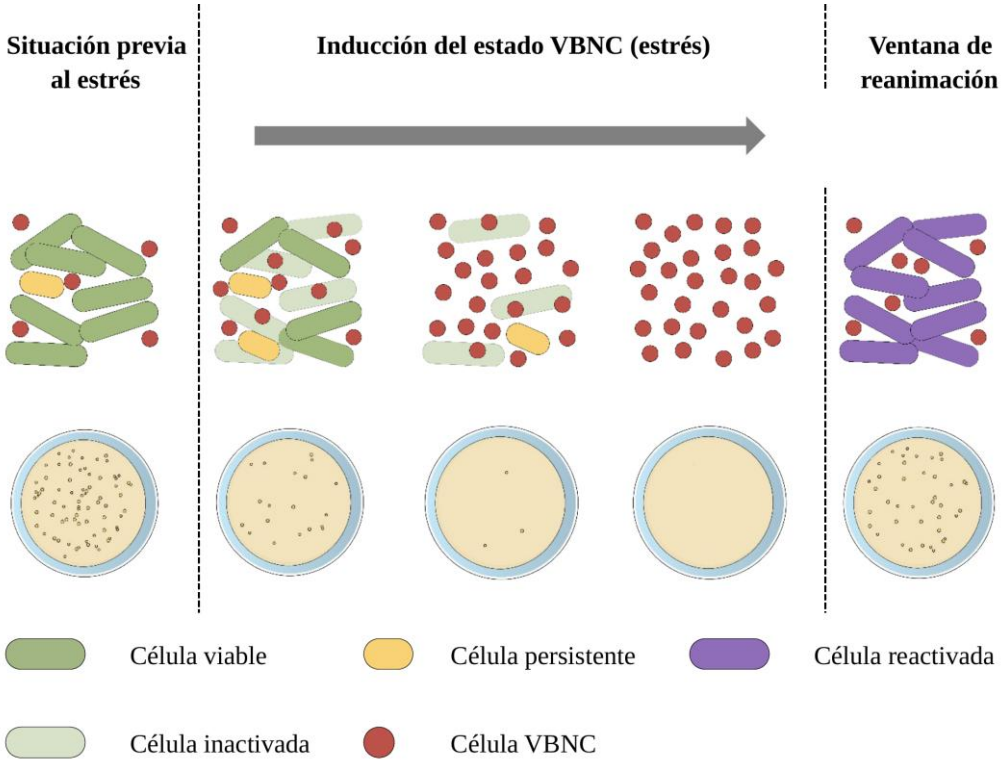


Figura 4. Esquema de la variación en la población bacteriana durante la inducción del estado VBNC (viables pero no cultivables) y su posterior reactivación. Fuente: adaptada de Ayrapetyan y col. (2018)[58].

Comparación con estrategias de supervivencia en la naturaleza

Todas estas estrategias pueden parecer, a priori, muy complejas, ya que en ocasiones es difícil comprender algo que no se ve a simple vista. Sin embargo, al compararlas con los mecanismos de defensa que se encuentran en la naturaleza y que se observan fácilmente en plantas o animales, se pueden identificar una serie de semejanzas que ayudan a entenderlas en mayor profundidad. De esta manera, la resistencia a los antibióticos podría compararse con la producción de toxinas en ciertos insectos o anfibios con coloración

aposemática, como por ejemplo ranas amarillas o rojas que «utilizan» colores llamativos para avisar a sus depredadores sobre su posible toxicidad[60]. En ambos casos, se trata de mecanismos activos de defensa, en los que el organismo produce sustancias que neutralizan directamente la amenaza. Por otro lado, la formación de biofilms, podría asemejarse a la construcción de refugios o colonias que emplean algunos animales. Las bacterias al unirse y rodearse de una matriz protectora crean una «fortaleza» comunitaria comparable a la creada en una colmena de abejas o en un hormiguero. Dentro de estos entornos, se crea un ambiente cooperativo donde los individuos se protegen mutuamente, comparten recursos y se comunican mediante señales que coordinan su comportamiento[61]. Finalmente, la entrada en estado VBNC de las células bacterianas podría relacionarse con estrategias de letargo o hibernación de algunos animales o semillas de plantas. En este estado las bacterias, al igual que, por ejemplo, los osos en periodos de hibernación reducen su metabolismo al mínimo, deteniendo casi todas sus funciones vitales para resistir, así, a la falta de nutrientes o las condiciones ambientales adversas[62].

Combinación de adaptaciones

Es importante tener en cuenta que estas adaptaciones no aparecen por sí solas en la naturaleza y que su combinación potencia o dificulta la eficacia de unas u otras. Si pensamos en todas las estrategias descritas en combinación, nos damos cuenta de que se trata de un mecanismo de supervivencia casi perfecto y extremadamente difícil de combatir. Por ejemplo, la propia conformación de biopelículas confiere a las bacterias que se encuentran en su interior cierto grado de resistencia a los antibióticos o desinfectantes[63]. Esto se debe a que el tratamiento puede únicamente afectar a las capas superiores del biofilm, quedando las bacterias del interior viables y con capacidad de regenerar la estructura completa en cuestión de días o incluso horas. Además, estas biopelículas, donde las bacterias se encuentran muy próximas entre sí, son ambientes idóneos para que se produzca intercambio de material genético a través de transferencia horizontal, que como se ha explicado anteriormente es un pilar fundamental en la propagación de genes de resistencia entre especies bacterianas[64].

Por otro lado, el microambiente que se origina dentro de estas biopelículas es muy distinto a las condiciones ambientales exteriores, ya que, en ellas, las bacterias pueden sufrir estrés asociado a baja disponibilidad de oxígeno y/o nutrientes, creando un ambiente idóneo para inducir la aparición de células en estado VBNC[65]. Además, las biopelículas formadas, por ejemplo, en superficies de industrias alimentarias están constantemente sometidas a continuos procesos de limpieza y desinfección, lo que provoca que las células de la superficie del biofilm también puedan ser propensas a entrar en estado VBNC tras la exposición prolongada a residuos desinfectantes[66]. De esta manera, es posible que estas comunidades bacterianas lleguen a pasar desapercibidas en los controles rutinarios que se realizan para detectar su presencia en las distintas superficies de las industrias alimentarias. También es muy importante tener en cuenta que los antibióticos son compuestos altamente efectivos contra células bacterianas que se encuentran en fase

de crecimiento activo, mientras que la baja actividad metabólica de las células en estado VBNC conlleva una disminución considerable de su efectividad[64].

Conclusiones y perspectivas a futuro

A lo largo de esta revisión se han explorado diferentes estrategias que permiten a las bacterias adaptarse y persistir en ambientes humanos, revelando un panorama complejo en el que estos microorganismos se describen como comunidades dinámicas, capaces de modificar su fisiología y comportamiento colectivo para sobrevivir en condiciones adversas. Estas adaptaciones complican tanto la detección como el tratamiento de infecciones. En primer lugar, las bacterias resistentes a múltiples antibióticos dificultan la elección de fármacos eficaces para su tratamiento, conllevando estancias hospitalarias prolongadas, mayores costes de los tratamientos y, en última instancia, a mayor número de defunciones asociadas a estas enfermedades. Por otro lado, los biofilms representan un entorno de protección colectiva y su eliminación exige el desarrollo de estrategias innovadoras que sean capaces de romper la matriz extracelular, detener la señalización entre células bacterianas o impedir los primeros pasos de adhesión celular. Además, la presencia de células en estado VBNC favorece que las bacterias pasen inadvertidas con los métodos de diagnóstico convencionales, generando falsos negativos y subestimando las infecciones persistentes. En consecuencia, se requiere el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico basadas en parámetros que permitan identificar y detectar microorganismos «dormidos» pero activos.

En definitiva, la resistencia y la persistencia bacterianas demandan un enfoque interdisciplinar, combinando microbiología, biotecnología, medicina e ingeniería de materiales para ser capaces de crear superficies antibiofilms, sistemas de liberación de fármacos controlados y métodos de diagnóstico rápidos y eficaces. Así mismo, resulta evidente la necesidad de reforzar e implementar las políticas de uso racional de los antibióticos en todos los ámbitos, pero sobre todo en medicina humana y veterinaria. Porque el arte de sobrevivir de las bacterias nos obliga a repensar nuestro propio arte de combatirlas. Entenderlas no solo como enemigas, sino como organismos extraordinariamente adaptables, es el primer paso hacia soluciones más inteligentes y sostenibles. Por lo que el futuro de la lucha contra las bacterias patógenas que nos rodean dependerá, en gran medida, de nuestra capacidad para anticipar y desactivar las estrategias que ellas llevan millones de años perfeccionando.

Bibliografía

1. Jain, V. y col. *Microbial diversity of cold-water reservoirs and their prospective applications* en Soni, R. y col. (eds) **Current status of freshwater microbiology**. Primera edición (2023). Singapore: Springer.

2. Smith, W. P. y col. **Bacterial defences: mechanisms, evolution and antimicrobial resistance**. *Nature Reviews Microbiology* 21(8), 519-534 (2023).

3. Capita, R. *Nutrición y microbiota. Lo esencial es invisible a los ojos*. Primera edición (2025). León: Servicio de Publicaciones Universidad de León

4. Elbehiry, A. y col. **An overview of the public health challenges in diagnosing and controlling human foodborne pathogens**. *Vaccines* 11(4), 725 (2023).

5. Soni, J., Sinha, S., y Pandey, R. **Understanding bacterial pathogenicity: a closer look at the journey of harmful microbes**. *Frontiers in Microbiology 15*, 1370818 (2024).

6. Culyba, M. J., y Van Tyne, D. **Bacterial evolution during human infection: Adapt and live or adapt and die**. *PLoS Pathogens* 17(9), e1009872 (2021).

7. Rozman, U. y col. **Reduced susceptibility and increased resistance of bacteria against disinfectants: A systematic review**. *Microorganisms* 9(12), 2550 (2021).

8. Arnold, B. J., Huang, I. T. y Hanage, W. P. **Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria**. *Nature Reviews Microbiol*ogy 20, 206-218 (2022).

9. Liu, X. y col. **Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria**. *Molecules*, 28(6), 2432 (2023).

10. Panera-Martinez, S. y col. **Prevalence and levels of cells of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in various physiological states naturally present in chicken meat**. *Food Control* 167, 110770 (2025).

11. La Rosa, R., Johansen, H. K. y Molin, S. **Persistent bacterial infections, antibiotic treatment failure, and microbial adaptive evolution**. *Antibiotics* 11(3), 419 (2022).

12. Capita, R. y Alonso-Calleja, C. **Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(1), 11-48 (2013).

13. Suárez, C. y Gudiol, F. **Antibióticos betalactámicos**. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica* 27(2), 116-129 (2009).

14. Kong, K. F., Schneper, L. y Mathee, K. **Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology**. *Apmis* 118(1), 1-36 (2010).

15. Fleischmann, S. y col. **How to evaluate non-growing cells—current strategies for determining antimicrobial resistance of VBNC bacteria**. *Antibiotics*, 10(2), 115 (2021).

16. Ausubel, J. H. y col. **Death and the human environment: the United States in the 20th century.** *Technology in Society*, 23(2), 131-146 (2001).

17. Edwards, M. y col. *Antibiotic resistance: modeling the impact on mortality and morbidity*. Primera edición (2019). Londres (Reino Unido): Institute and Faculty of Actuaries.

18. Mendelson, M., Sharland, M. y Mpundu, M. **Antibiotic resistance: calling time on the 'silent pandemic'**. *JAC-Antimicrobial Resistance* 4(2), dlac016 (2022).

19. World Health Organization. *Antibiotic Resistance: Global report on Surveillance*. Primera edición (2014). Ginebra (Suiza): WHO Press.

20. European Parliament. *Antibiotic Resistance. IP/A/STOA/*. Primera edición (2006). Bruselas (Bélgica): Policy Departament Economy and Science.

21. D'Costa, V. M. y col. **Antibiotic resistance is ancient**. *Nature*, 477(7365), 457-461 (2011).

22. Capita, R. y col. **La resistencia a los antibióticos también es un problema alimentario**. The Conversation (2021).

23. Levy, S. B., Fitzgerald, G. B. y Macone, A. B. **Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man**. *Nature*, 260(5546), 40-42 (1976).

24. Pepi, M. y Focardi, S. **Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the Mediterranean area**. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(11), 5723 (2021).

25. Normark, B. H. y Normark, S. **Evolution and spread of antibiotic resistance**. *Journal of internal medicine* 252(2), 91-106 (2002).

26. González-Machado, C., Capita, R. y Alonso-Calleja, C. (2025). **Effect of exposure to sub-inhibitory concentrations of biocides on the susceptibility to antibiotics of sessile cells of Listeria monocytogenes and *Salmonella enterica***. *Food Control* 168, 110881 (2025).

27. Mosquito, S. y col. **Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli***. *Revista Medicina y Salud Publica* 28(4), 648–656 (2011).

28. OMS. **Resistencia a los antimicrobianos**. Organización Mundial de la Salud (2020).

29. Herrera, M. L. y col. **Cepas de *Listeria monocytogenes* con resistencia antimicrobiana**. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera* 36(1–2), 31–35 (2001).

30. Liu, Y. y col. **Correlation between exogenous compounds and the horizontal transfer of plasmid-borne antibiotic resistance genes.** *Microorganisms* 8(8), 1211 (2020).

31. Gonzalez-Machado, C. y col. **Visualization and quantification of the cellular and extracellular components of *Salmonella* Agona biofilms at different stages of development.** *PLoS One* 13(7), e0200011 (2018).

32. Luo, Y. y col. **Mechanisms and control strategies of antibiotic resistance in pathological biofilms**. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 31(1), 1-7 (2021).

33. De Sousa, T. y col. **Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in Pseudomonas aeruginosa.** *International journal of molecular sciences 22*(23), 12892 (2021).

34. Asbury, J. y Jazayeri, J. A. **The significance of Pseudomonas aeruginosa infection and biofilms to cystic fibrosis patients: The need for the development of new therapies**. *Advances in Biotechnology and Microbiology* 8, 555742 (2018).

35. Garrett, T. R., Bhakoo, M. y Zhang, Z. **Bacterial adhesion and biofilms on surfaces**. *Progress in Natural Science* 18(9), 1049-1056 (2008).

36. Blank, E. y col. **Evaluation of biofilm colonization on multi-part dental implants in a rat model**. *BMC Oral Health* 21(1), 313 (2021).

37. Liaqat, I. y col. **Biofilm formation, maturation and prevention: a review**. *Journal of Bacteriology and Mycology* 6(1), 1092 (2019).

38. Schilcher, K. y Horswill, A. R. **Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies**. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 84(3), 10-1128 (2020).

39. Petrova, O. E. y Sauer, K. **Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion**. *Current opinion in microbiology* 30, 67-78 (2016).

40. Uppuluri, P. y Lopez-Ribot, J. L. **Go forth and colonize: dispersal from clinically important microbial biofilms**. *PLoS Pathogens* 12(2), e1005397 (2016).

41. Muhsin, J. y col. **Bacterial biofilm: its composition, formation and role in human infections**. *Journal of Microbiology and Biotechnology 4*, 1-14 (2015).

42. Sauer, K. y col. **The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation**. *Nature Reviews Microbiology* 20(10), 608-620 (2022).

43. Rodriguez-Melcon, C. y col. **Effect of low doses of disinfectants on the biofilm-forming ability of *Listeria monocytogenes***. *Foodborne pathogens and disease* 16(4), 262-268 (2019).

44. Fakruddin, M., Mannan, K. S. B. y Andrews, S. **Viable but nonculturable bacteria: food safety**

and public health perspective. *International Scholarly Research Notices* 2013, 703813 (2013).

45. Liu, J. y col. **Viable but nonculturable (VBNC) state, an underestimated and controversial microbial survival strategy**. *Trends in Microbiology* 31(10), 1013-1023 (2023).

46. Bonilauri, P. y col. **Detection of food hazards in foods: comparison of real time polymerase chain reaction and cultural methods**. *Italian Journal of Food Safety*, 5(1), 37-40 (2016).

47. Han, L. y col. **Viable but nonculturable Escherichia coli O157: H7 and *Salmonella enterica* in fresh produce: Rapid determination by loop-mediated isothermal amplification coupled with a propidium monoazide treatment**. *Applied and Environmental Microbiology* 86(7), e02566-19 (2020).

48. Witte, A. K. y col. **Implementation of the DEP-pooling approach for *L. monocytogenes* detection over 25-months by two diagnostic laboratories of an Austrian dairy company**. *Food Control* 118, 107385 (2020).

49. İzgördü, Ö. K., Darcan, C. y Kariptaş, E. **Overview of VBNC, a survival strategy for microorganisms**. *3 Biotech* 12(11), 307 (2022).

50. Fan, Z. y col. **Quantitative detection of VBNC state *Pseudomonas aeruginosa* contributing to accurate assessment of microbial inactivation in drinking water disinfection**. *Water* 16(2), 236 (2024).

51. Fu, Y. y col. **Induction of *Escherichia coli* O157: H7 into a viable but non-culturable state by high temperature and its resuscitation**. *Environmental Microbiology Reports* 12(5), 568-577 (2020).

52. Maertens, L., Matroule, J. Y. y Van Houdt, R. **Characteristics of the copper-induced viable-but-non-culturable state in bacteria**. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 37, 2021 (2021).

53. Bodor, A. y col. **Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives**. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 19, 1-22 (2020).

54. Liu, J. y col. **Discovery and control of culturable and viable but non-culturable cells of a distinctive *Lactobacillus harbinensis* strain from spoiled beer**. *Scientific Reports* 8(1), 11446 (2018).

55. Solano Gómez, J. A. y col. **Viable but non-cultivable bacteria (VBNC): when pathogens are present but not detected by conventional analysis**. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades* 4(1), 940-949 (2023).

56. Ding, T. y col. **Significance of viable but nonculturable Escherichia coli: induction, detection, and control**. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 27(3), 417-428 (2017).

57. Dong, K. y col. **Induction, detection, formation, and resuscitation of viable but non-culturable state microorganisms**. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19(1), 149-183 (2020).

58. Ayrapetyan, M., Williams, T. y Oliver, J. D. **Relationship between the viable but nonculturable state and antibiotic persister cells**. *Journal of Bacteriology* 200(20), 10-1128 (2018).

59. Highmore, C. J. y col. **Viable-but-nonculturable *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Thompson induced by chlorine stress remain infectious**. *MBio* 9(2), 10-1128 (2018).

60. Xu, C. y col. **Aposematic coloration from mid-Cretaceous Kachin amber.** *Philosophical transactions of the Royal Society B* 377(1847), 20210039 (2022).

61. Nadell, C. D., Xavier, J. B. y Foster, K. R. **The sociobiology of biofilms**. *FEMS Microbiology Reviews* 33(1), 206-224 (2009)

62. Lohuis, T. D., Harlow, H. J., y Beck, T. D. I. **Hibernating black bears (Ursus americanus) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia**. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 147(1), 20-28 (2007).

63. Dincer, S., Uslu, F. M. y Delik, A. *Antibiotic resistance in biofilm* en Dincer, S., Özdenefe, M. S. y Arkut, A. (eds). **Bacterial biofilms**, (2020). Londres (Reino Unido): IntechOpen

64. Lin, H. y col. **Viable but non-culturable *E. coli* induced by low level chlorination have higher persistence to antibiotics than their culturable counterparts**. *Environmental Pollution* 230, 242-249 (2017).

65. Rapacka-Zdonczyk, A. y col. **Development of antimicrobial phototreatment tolerance: Why the methodology matters**. *International Journal of Molecular Sciences* 22(4), 2224 (2021).

66. Guo, L. y col. **Induction of bacteria in biofilm into a VBNC state by chlorine and monitoring of biofilm structure changes by means of OCT**. *Science of the Total Environment* 891, 164294 (2023).