

Eficacia del sistema CRISPR-Cas9 en el abordaje de la farmacorresistencia bacteriana

Gómez Chamba Dayanara Isabel¹, Villavicencio Obando Alicia Silvana¹

¹ Laboratorio clínico, Facultad de Salud Humana, Universidad Nacional de Loja, Manuel Monteros, Loja, Ecuador.

Correspondencia: Alicia Villavicencio Obando, PhD

Correo electrónico:

alicia.villavicencio@unl.edu.ec

Dirección: Calle Manuel Monteros y Antonio Peña Celi, Loja-Ecuador.

Código postal: EC 110103

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4160-7015>

Teléfono: (593) 993325811

Fecha de recepción: 01-05-2025

Fecha de aprobación: 01-06-2025

Fecha de publicación: 30-06-2025

Membrete Bibliográfico

Gómez CH, Di. Villavicencio O, AS.

Eficacia del sistema CRISPR-Cas9 en el abordaje de la farmacorresistencia bacteriana. Rev. Méd. Ateneo.

Vol. 27 (1), pág 149-172.

Artículo acceso abierto.

RESUMEN

CRISPR-Cas9 un método de edición genómica que permite realizar modificaciones en el ADN gracias a que reconoce y corta secuencias específicas. La resistencia antimicrobiana es una amenaza de salud pública, en Ecuador se han reportado casos preocupantes de bacterias resistentes a antibióticos comúnmente utilizados. Este sistema podría revertir esta resistencia al eliminar o inactivar genes responsables, restaurando la susceptibilidad de las bacterias. El presente estudio tiene como objetivo realizar la revisión de datos sobre la aplicación de CRISPR-Cas9 en bacterias farmacorresistentes, detallando las más susceptibles, mecanismos genéticos modificados, aplicabilidad clínica, eficacia y desafíos de implementación. Para lo cual, se realizó una revisión sistemática donde se

incluyeron 17 estudios cuasi-experimentales obtenidos de Pubmed y Scopus en el período 2014-2024, y fueron evaluados con la herramienta JBI, evidenciando un bajo riesgo de sesgo. Se identificaron las bacterias más susceptibles, siendo *Escherichia coli* la principal (50%). Se detallaron mecanismos genéticos modificados, destacando el plásmido portador de *mcr-1* (18,8%). Además, se evaluó la eficacia de CRISPR-Cas9 comparando la concentración mínima inhibitoria antes y después de la edición genómica, demostrando que este método aumentó significativamente la susceptibilidad antibiótica de las bacterias. Se evidencia la eficacia del CRISPR-Cas9, mostrando resultados prometedores para aplicación en bacterias farmacorresistentes.

Palabras claves: CRISPR-Cas9, farmacorresistencia, antibiótico, edición del genoma, bacterias.

ABSTRACT

CRISPR-Cas9 is a genomic editing method that allows DNA modifications by recognizing and cutting specific DNA sequences. Antimicrobial resistance is a threat of public health, in Ecuador, there have been worrying cases of bacteria resistant to commonly used antibiotics. This system could reverse this resistance by eliminating or inactivating responsible genes, restoring the susceptibility of antibiotics bacteria. The present study aims to make data review on the application of CRISPR-CAS9 in drug-resistant bacteria, detailing the most susceptible, modified genetic mechanisms, clinical applicability, effectiveness and implementation challenges. For which, a systematic review was carried out where 17 experimental studies obtained from Pubmed and Scopus were included in the 2014-2024 period, and were evaluated with the JBI tool, evidencing a low risk of bias. The most susceptible bacteria were identified, being *Escherichia coli* the main (50%). Modified genetic mechanisms were detailed, highlighting the MCR-1 carrier plasmid (18.8%). In addition, the efficacy of CRISPR-CAS9 was evaluated comparing the minimum inhibitory concentration before and after the genomic edition, demonstrating that this method significantly increased the antibiotic susceptibility of bacteria. The effectiveness of the CRISPR-CAS9 is evidenced, showing promising results for application in drug-resistant bacteria.

Keywords: CRISPR-Cas9, drug resistance, antibiotic, genome editing, bacteria.

INTRODUCCIÓN

El CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas) es un método utilizado para la edición genómica. Adaptado de un sistema de defensa bacteriano en combinación con una endonucleasa como Cas9, es una tecnología que permite realizar cambios o modificaciones específicas en el ADN de organismos vivos. La tecnología CRISPR-Cas9 imita este mecanismo natural para realizar cortes controlados en secuencias específicas de ADN (1).

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en una de las principales amenazas de salud pública a las que se enfrenta la humanidad. En 2019, 1.27 millones de muertes fueron atribuibles a infecciones resistentes a los antimicrobianos. Seis patógenos multirresistentes ocasionaron la mayoría de estas muertes, lideradas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (2). La Organización Mundial de la Salud emitió que, si no se toman medidas, las enfermedades farmacorresistentes podrían causar 10 millones de defunciones anuales en el año 2050 (3).

En el año 2010, Ecuador dio a conocer uno de los primeros casos de resistencia antimicrobiana en *Klebsiella pneumoniae*. Esta bacteria desarrolló la enzima KPC-2, productora de carbapenemasas. Desde entonces, se han reportado innumerables investigaciones sobre la resistencia antimicrobiana. Entre los mecanismos más preocupantes de estas resistencias se encuentran: las enzimas BLEE, KPC, NDM y mcr-1 (4).

Según el reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos realizado por el Ministerio de Salud Pública de Ecuador, se detectó un incremento en el año 2014 al 2018, en la capacidad de ciertas bacterias patógenas de resistir a los efectos de varios antibióticos de uso empírico en servicios hospitalarios (5)

El sistema CRISPR-Cas9 ofrece una posible solución prometedora. Esta tecnología de edición genética permite realizar cambios precisos en el ADN bacteriano para revertir la resistencia antibiótica. Varios estudios han demostrado que CRISPR-Cas9 puede eliminar con éxito genes de resistencia en bacterias (6)

Es por ello, que surge la siguiente interrogante: ¿cuál es la eficacia del sistema CRISPR-Cas9 para revertir la farmacorresistencia y mejorar los resultados clínicos? Para dar respuesta a esta pregunta se ha propuesto realizar una revisión sistemática sobre este tema, con el propósito de analizar la aplicación del sistema CRISPR-Cas9 en el contexto de la farmacorresistencia bacteriana, detallando qué bacterias han mostrado mayor susceptibilidad, los mecanismos genéticos específicos que son modificados por dicho sistema, evaluando la aplicabilidad clínica y considerando aspectos como la eficacia y posibles desafíos para su implementación.

Teniendo como antecedente que la farmacorresistencia bacteriana constituye actualmente un grave problema de salud pública, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la eficacia del sistema CRISPR-Cas9 en la reversión de la resistencia antibiótica en bacterias patógenas, mediante una revisión sistemática de la literatura científica. Con ello, se busca consolidar un respaldo bibliográfico actualizado que permita a los profesionales de salud comprender el mecanismo acción del sistema CRISPR-Cas9, su efectividad en la modificación o eliminación de genes asociados a la resistencia, y orientar futuras investigaciones en este campo emergente de alto impacto biomédico.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión sistemática de la literatura científica siguiendo las pautas Cochrane y el enfoque PRISMA para evaluar la eficacia del sistema CRISPR-Cas9 en revertir la farmacorresistencia bacteriana. La pregunta de investigación se estructuró mediante el formato PICO, considerando pacientes con infecciones bacterianas farmacorresistentes. La búsqueda se ejecutó en PubMed y Scopus utilizando términos MeSH como "CRISPR-Cas9", " drug resistance", "antibiotic", "genome editing", "bacteria" asociados a través del operador booleano AND. Se incluyeron artículos en inglés publicados entre 2014-2024, con texto completo y acceso libre, excluyendo literatura gris.

De un total de 9,223 estudios, tras la eliminación de duplicados mediante las plataformas Covidence (7) y Rayyan (8), se seleccionaron 17 artículos para el análisis final, proceso que se detalla en la Figura 1. A continuación, se procedió a la extracción de datos relevantes, incluyendo título, autor, año, tipo de estudio y población, así como variables específicas como las bacterias susceptibles al sistema CRISPR-Cas9, los mecanismos de resistencia, y su eficacia y aplicabilidad clínica (Tabla Suplementaria 1). Todos los estudios seleccionados fueron evaluados mediante la herramienta JBI, evidenciando un bajo riesgo de sesgo (Tabla Suplementaria 2). Finalmente, la calidad metodológica de la revisión fue valorada aplicando la declaración PRISMA, alcanzando un cumplimiento del 74,07%, lo que indica un bajo riesgo de sesgo global (Tabla Suplementaria 3).

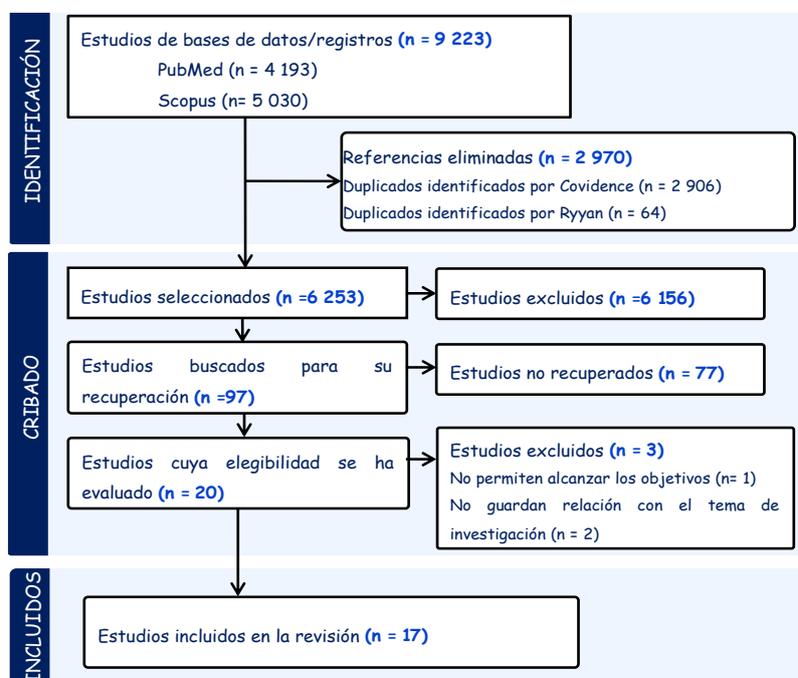


Figura1. Flujograma de búsqueda y selección de los estudios según modelo Prisma

RESULTADOS

Bacterias con mayor susceptibilidad al sistema CRISPR-Cas9

El análisis de 15 estudios reveló que *Escherichia coli* presenta la mayor susceptibilidad al sistema CRISPR-Cas9 para revertir la farmacorresistencia con el 50%, seguida por *Salmonella typhimurium* por 12.5%, mientras que *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shewanella algae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella aerogenes* y *Enterococcus faecium* mostraron menor susceptibilidad con el 6.25%, respectivamente, tal y como se muestra en la Figura 2.

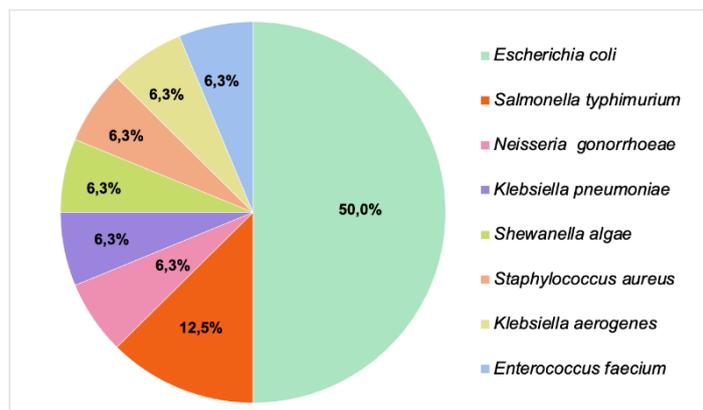


Figura 2. Bacterias con mayor susceptibilidad al sistema CRISPR-Cas9

Mecanismos genéticos modificados por el sistema CRISPR-Cas9

Se identificaron diversos mecanismos genéticos modificados por el sistema CRISPR-Cas9, donde el plásmido portador de *mcr-1* presentó el mayor porcentaje de modificación (18.8%), mientras que otros genes como *mtrE*, *bla OXA-48*, *CsgD*, *BaeSR*, *blaOXA-55* y *mecA* entre otros representaron el 6.3% cada uno (Figura 3).

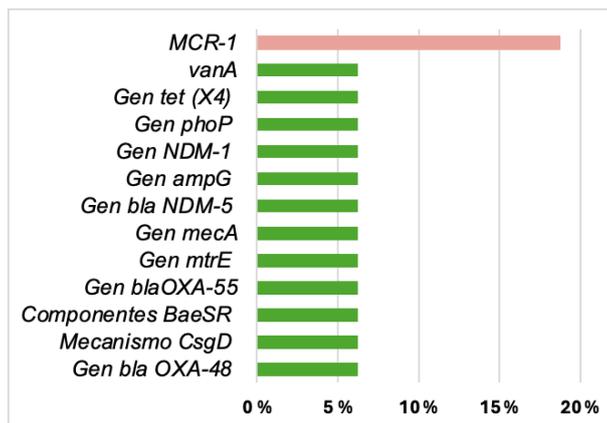


Figura 3. Mecanismos genéticos que son modificados por CRISPR-Cas9

Adicional a esto, en la Figura 4 se puede observar la clasificación de estos mecanismos, la más predominante es la inactivación enzimática con el 33%, seguida por el 27% de la modificación de lípidos/membrana externa, las bombas de eflujo con el 20%, modificación del sitio diana con 13% y biopelículas de 7%.

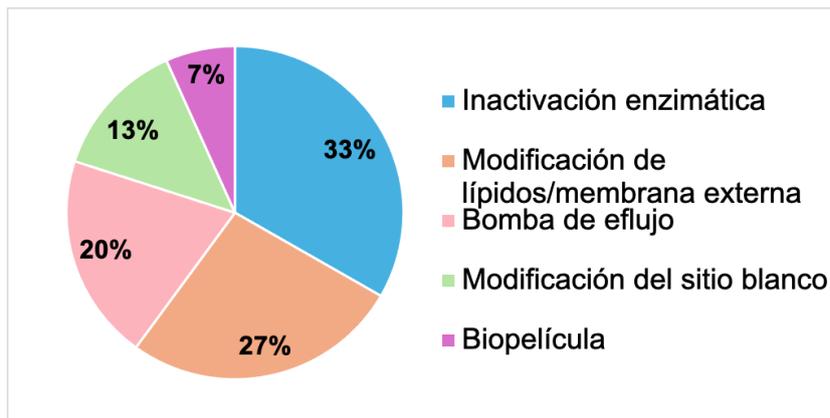


Figura 4. Clasificación de los mecanismos genéticos que aportan la resistencia

Eficacia del sistema CRISPR-Cas9 en la reversión de farmacorresistencia

Se realizó una comparación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en 9 estudios donde se demostró que el sistema CRISPR-Cas9 redujo significativamente la farmacorresistencia en todas las bacterias estudiadas, tal y como se representa en la Figura 5.

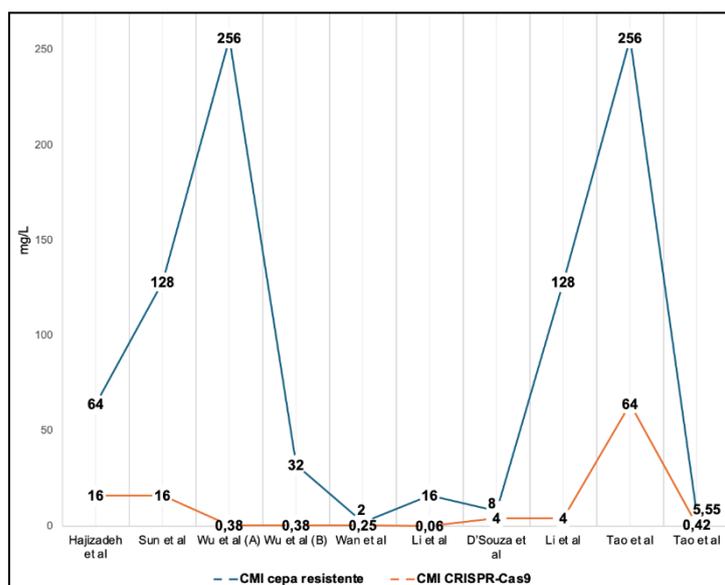


Figura 5. Eficacia y aplicabilidad clínica del sistema CRISPR-Cas9

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

La resistencia a los antimicrobianos representa una grave amenaza para la salud pública y la medicina moderna, debido a que puede hacer que una infección común, pase a ser intratable, llegando a ser mortales en algunos casos. El uso excesivo de antibióticos ha acelerado la evolución de cepas resistentes dificultando el desarrollo de nuevos tratamientos eficaces (9).

La tecnología de edición genética CRISPR-Cas9 puede emplearse para revertir la resistencia bacteriana a los antibióticos. Se pueden remover de manera selectiva los plásmidos que albergan los genes que confieren a las bacterias la capacidad de tolerar y neutralizar el efecto de ciertos antibióticos. Al deshacerse de estos plásmidos las bacterias se vuelven susceptibles a los antibióticos contra los que antes eran inmunes (10).

Se encontró que la bacteria más susceptible a la edición genómica por CRISPR-Cas9 es *Escherichia coli*. Bacteria Gram negativa intrínsecamente susceptible a la mayoría de los agentes antimicrobianos, pero con gran capacidad para acumular genes de resistencia, principalmente a través de la transferencia horizontal de genes, la conjugación y transferencia de plásmidos (11).

Yan y colegas mencionan que *E. coli* es más vulnerable al sistema CRISPR-Cas9, gracias a su amplia disponibilidad, lo que ha permitido que su trasfondo genético sea claro y a su sencilla operación de ingeniería genética. Además, estas bacterias tienen una extraordinaria capacidad de expresión de proteínas, lo que facilita la expresión y captación de proteínas extrañas, haciendo que la edición genética sea bastante simple y eficiente (12).

En contraste, un estudio realizado por Mohammed & Orzechowska, revela que *Salmonella Typhimurium* ha sido ampliamente estudiada y su genoma completo ha sido secuenciado. Esto proporciona información valiosa sobre sus genes y mecanismos de resistencia, lo que facilita la modificación de regiones genómicas de interés utilizando CRISPR-Cas9. Su caracterización genómica facilita que las variaciones genéticas de *S. Typhimurium* pueden ser identificadas y potencialmente editadas mediante CRISPR-Cas9 para reducir la farmacorresistencia (13).

Por otra parte, los mecanismos genéticos que fueron modificados por el sistema CRISPR-Cas9, encontrados en el presente estudio incluyen los genes *mcr-1*, *mtrE*, *bla OXA-48*, *CsgD*, *BaeSR*, *blaOXA-55*, *mecA*, *bla NDM-5*, *ampG*, *NDM-1*, *phoP*, *tet (X4)*, *vanA* y *bla KPC-2*. El gen *mcr-1*, el cual otorga resistencia al antibiótico colistina, representa el mecanismo genético de resistencia más predominante. Según Hajizadeh y cols., entre la clasificación de los mecanismos que confieren resistencia antimicrobiana, los más importantes son los genes que codifican enzimas que inactivan la función de los antibióticos, como betalactamasas (*bla OXA-48*, *blaOXA-55*, *bla NDM-5*, *NDM-1*, *bla KPC-2*), y el mecanismo que modifica los lípidos de la membrana celular de las bacterias como los genes *ampG* y *mrc-1*.

La eliminación de estos genes mediante CRISPR-Cas9 reduce la capacidad de las bacterias neutralizar la acción de los antibióticos (14).

Otro mecanismo de resistencia son las bombas de flujo. Según Li, al suprimir estos genes, se reduce significativamente la capacidad de la bacteria para expulsar activamente los antibióticos fuera de la célula. Esto aumenta la concentración intracelular de los fármacos y su eficacia (15).

En el estudio realizado por Dong et al. (14), que se centra en el gen *mcr-1*, el sistema CRISPR-Cas9 fue capaz de reconocer y eliminar de manera específica el plásmido que contenía este gen de resistencia. Por otro lado, no solo revirtió la resistencia a la colistina, sino que también confirió inmunidad contra una futura adquisición del gen *mcr-1* en las bacterias. Más aún, al eliminar el plásmido resistente, se evitó que más bacterias obtuvieran la resistencia mediante la transferencia horizontal o conjugación.

Los resultados de esta revisión sistemática demuestran que el sistema CRISPR-Cas9 es una herramienta alentadora para revertir la resistencia a antibióticos en diversas especies bacterianas. Los datos cuantitativos revelan reducciones significativas en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) después de la edición genómica con CRISPR-Cas9, lo que indica un aumento en la susceptibilidad a los antibióticos. Por ejemplo, en el estudio de Wu et al. (17), la CMI de meropenem para *Shewanella algae* disminuyó de 256 mg/L a 0,38 mg/L tras la eliminación del gen *blaOXA-55* con CRISPR-Cas9. De manera similar, el estudio realizado por Sun y colegas (18), demostró la eficacia del sistema, al obtener como resultado una reducción en el CMI en la cepa resistente de 128 mg/L a 16 mg/L, valor obtenido de la cepa modificada.

Cabe destacar que algunos autores, como Jackson et al., no presentan sus resultados en términos de CMI, sino que demuestran la reducción de la resistencia antibiótica mediante ensayos de difusión en disco, donde se observa un menor crecimiento alrededor de los discos de antibióticos después de la edición genómica con CRISPR-Cas9, indicando una mayor susceptibilidad (19).

Estos datos respaldan la aplicabilidad clínica de CRISPR-Cas9 contra infecciones bacterianas farmacorresistentes. Sin embargo, también se han identificado desafíos clave, Ekwebelem menciona como limitante los mecanismos de

administración del sistema CRISPR-Cas, así como los riesgos al utilizar sistemas de edición de genes (9).

CONCLUSIONES

- CRISPR-Cas9 ha demostrado ser efectivo contra agentes patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* que han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia antibiótica.
- La restauración de la susceptibilidad a los antibióticos por CRISPR-Cas9 implica la modificación y/o eliminación de genes que codifican la farmacorresistencia. Siendo el principal mecanismo editado el plásmido portador de *mcr-1*.
- El sistema CRISPR-Cas9 es altamente eficaz al reducir la concentración mínima inhibitoria de varios antibióticos contra bacterias resistentes, presentándose como un mecanismo potencialmente aplicable para tratar infecciones resistentes a fármacos.

Contribución del autor (s)

Gómez D: Recolección de datos, cribado de la información, escritura y análisis del artículo con lectura y aprobación de la versión final.

Villavicencio A: Diseño de estudio y contribución a la redacción científica del documento.

Información del autor (s)

Dayanara Gómez Licenciada en Laboratorio Clínico (Universidad Nacional de Loja). Loja-Ecuador.

Alicia Villavicencio Doctora en Biología Molecular, Biomedicina y Salud. Docente-Investigadora de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja. Loja-Ecuador. Maestría en Biología Molecular y Biomedicina (Universitat de Girona, España); Maestría en Bioinformática y Bioestadística (Universitat de Barcelona-Universitat Oberta de Catalunya).

Disponibilidad de datos

Los datos utilizados en esta revisión sistemática (estrategias de búsqueda, registros de estudios seleccionados y tablas de extracción) proceden de fuentes públicas (bases de datos bibliográficas y bibliotecas virtuales). Todos los archivos de extracción de datos se incluyen como material suplementario y están disponibles a solicitud del autor correspondiente.

Declaración de intereses

El autor no reporta conflicto de intereses.

Autorización de publicación

El autor autoriza su publicación en la revista Ateneo. El autor enviará firmado un formulario que será entregado por el Editor.

Consentimiento informado

No corresponde aplicar consentimiento informado, dado que este estudio es una revisión sistemática basada exclusivamente en datos publicados y accesibles públicamente..

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Raby B, Blank R. Genetics: Glossary of terms - UpToDate [Internet]. 2023. Available from: https://www.uptodate.com/contents/genetics-glossary-of-terms?search=crispr%20cas9&source=search_result&selectedTitle=2~28&usage_type=default&display_rank=2#H1815524937
2. Salam A, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, et al. Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare* 2023, Vol 11, Page 1946 [Internet]. 2023 Jul 5 [cited 2024 May 5];11(13):1946. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9032/11/13/1946/htm>
3. Organización Mundial de la Salud. Un nuevo informe insta a actuar con urgencia para prevenir una crisis causada por la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2019 [cited 2024 May 5]. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
4. Herrera E, Andrade D, Reinoso Y. Resistencia antimicrobiana en *Klebsiella pneumoniae*, Ecuador. *Revista Vive* [Internet]. 2021 Dec 13 [cited 2024 May 5];4(12):470–83. Available from: <https://revistavive.org/index.php/revistavive/article/view/125/424>
5. Ministerio de Salud Pública. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA REPORTE DE DATOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS. 2019; Available from: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf
6. Khambhati K, Bhattacharjee G, Gohil N, Dhanoa GK, Sagona AP, Mani I, et al. Phage engineering and phage-assisted CRISPR-Cas delivery to combat multidrug-resistant pathogens. *Bioeng Transl Med* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 May 5];8(2):e10381. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/btm2.10381>
7. Fernández H, King K, Enríquez C. Revisiones Sistemáticas Exploratorias como metodología para la síntesis del conocimiento científico. *Enfermería Universitaria* [Internet]. 2020 Feb 14 [cited 2024 May 6];17(1). Available from: <https://revista-enfermeria.unam.mx/ojs/index.php/enfermeriauniversitaria/article/view/697>
8. Rodríguez C. Herramientas de minería de texto que automatizan y ayudan en el proceso de revisión de la bibliografía. 2018 [cited 2024 May 6]; Available from: <https://zenodo.org/records/2550517>

9. Ekwebelem O, Aleke J, Ofielu E, Nnorom O. Retraction: CRISPR-Cas9 System: A Revolutionary Tool in the Fight Against Antimicrobial Resistance (Infectious Microbes & Diseases). *Infectious Microbes and Diseases* [Internet]. 2021 Jun 19 [cited 2024 May 13];3(2):51–6. Available from: https://journals.lww.com/imd/fulltext/2021/06000/crispr_cas9_system__a_revolutionary_tool_in_the.1.aspx
10. Tao S, Chen H, Li N, Liang W. The Application of the CRISPR-Cas System in Antibiotic Resistance. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2022 Aug 2 [cited 2024 May 13];15:4155–68. Available from: <https://www.dovepress.com/the-application-of-the-crispr-cas-system-in-antibiotic-resistance-peer-reviewed-fulltext-article-IDR>
11. Poirel L, Madec J, Lupo A, Schink A, Kieffer N, Nordmann P, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2018 Jul 27 [cited 2024 May 19];6(4). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>
12. Yan C, Chen F, Yang Y, Zhan Y, Herman R, Gong L, et al. The Transcription Factor CsgD Contributes to Engineered *Escherichia coli* Resistance by Regulating Biofilm Formation and Stress Responses. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023;24(18). Available from: NS
13. Mohammed M, Orzechowska B. Characterisation of phage susceptibility variation in *salmonella enterica* serovar typhimurium dt104 and dt104b. *Microorganisms* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 May 20];9(4). Available from: </pmc/articles/PMC8073726/>
14. Hajizadeh Y, Badmasti F, Oloomi M. Inhibition of the bla(OXA-48) gene expression in *Klebsiella pneumoniae* by a plasmid carrying CRISPRi-Cas9 system. *Gene* [Internet]. 2024;910:148332. Available from: NS
15. Li L, Li R, Qi C, Gao H, Wei Q, Tan L, et al. Mechanisms of polymyxin resistance induced by *Salmonella typhimurium* in vitro. *Vet Microbiol* [Internet]. 2021;257:109063. Available from: NS
16. Dong H, Xiang H, Mu D, Wang D, Wang T. Exploiting a conjugative CRISPR/Cas9 system to eliminate plasmid harbouring the mcr-1 gene from *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 2019 Jan 1;53(1):1–8.
17. Wu Z, Huang Y, Chao W, Ho S, Cheng J, Liu P. Reversal of carbapenem-resistance in *Shewanella algae* by CRISPR/Cas9 genome editing. *J Adv Res* [Internet]. 2019;18:61–9. Available from: NS

18. Sun F, Qi C, Wei Q, Zhang L, Fu H, Jiang X, et al. BaeR overexpression enhances the susceptibility of *acrB* deleted *Salmonella enterica* serovar Typhimurium to polymyxin. *Vet Microbiol* [Internet]. 2022;274:109552. Available from: NS
19. Jackson KA, Ayoub T, Pearson JE, Richmond JA. Combating Antimicrobial Resistance: Assessing Efflux Pump Deficient Environments in *Neisseria gonorrhoeae* and the Masking Effect on Antimicrobial-Resistant Mutations. *Undergrad Res Nat Clin Sci Technol J* [Internet]. 2021;5(1). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85172676292&doi=10.26685%2furncst.281&partnerID=40&md5=e632eedf96cb95032a4b6079d4d9f665>

TABLAS SUPLEMENTARIAS

Tabla Suplementaria 1. Tabla de características de los estudios incluidos en la revisión sistemática.

N°	Título	Autor/es	Año de Publicación	Tipo de estudio	Población de estudio	Objetivos	URL/DOI
1	Combating Antimicrobial Resistance: Assessing Efflux Pump Deficient Environments in <i>Neisseria gonorrhoeae</i> and the Masking Effect on Antimicrobial-Resistant Mutations	Jackson et al.	2021	Cuasi experimental	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Utilizar CRISPR-Cas9 para eliminar el gen <i>mtrE</i> y generar una bomba de eflujo deficiente.	https://doi.org/10.26685/urncst.281
2	Inhibition of the <i>bla</i> (OXA-48) gene expression in <i>Klebsiella pneumoniae</i> by a plasmid carrying CRISPRi-Cas9 system.	Hajizadeh et al.	2024	Cuasi experimental	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Investigar la expresión del gen <i>bla</i> OXA-48 resistente a los antibióticos, utilizando el sistema CRISPR Cas9.	https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148332

3	The Transcription Factor <i>CsgD</i> Contributes to Engineered <i>Escherichia coli</i> Resistance by Regulating Biofilm Formation and Stress Responses	Yan et al.	2023	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Utilizar <i>E. coli</i> para explorar el mecanismo <i>CsgD</i> a la formación de biopelículas utilizando el sistema de edición de genes CRISPR/Cas9.	https://doi.org/10.3390/ijms241813681
4	BaeR overexpression enhances the susceptibility of <i>acrB</i> deleted <i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> to polymyxin	Sun et al.	2022	Cuasi experimental	<i>Salmonella typhimurium</i>	Construir cepas de delección utilizando CRISPR/Cas9, para investigar el efecto del sistema de dos componentes <i>BaeSR</i> sobre la resistencia a la polimixina.	https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109552
5	Reversal of carbapenem-resistance in <i>Shewanella algae</i> by CRISPR/Cas9 genome editing	Wu et al.	2019	Cuasi experimental	<i>Shewanella algae</i>	Secuenciar el genoma de la cepa resistente a carbapenémicos de <i>Shewanella algae</i> , realizar la edición del genoma utilizando CRISPR/Cas9 para revertir la	https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.01.011

						resistencia a carbapenémicos.	
6	Reversal of mcr-1-Mediated Colistin Resistance in <i>Escherichia coli</i> by CRISPR-Cas9 System	Wan et al.	2020	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Desarrollar un sistema CRISPR-Cas9 mediado por un plásmido para la edición del genoma en <i>E. coli</i> y ofrecer una opción atractiva para eliminar el gen mcr-1.	https://doi.org/10.2147/IDR.S244885
7	Construction of a Gene Knockdown System Based on Catalytically Inactive ("Dead") Cas9 (dCas9) in <i>Staphylococcus aureus</i>	Zhao et al.	2017	Cuasi experimental	<i>Staphylococcus aureus</i>	Presentar un sistema eficiente y específico para la eliminación de genes en <i>S. aureus</i> basado en el sistema CRISPR.	https://doi.org/10.1128/AEM.00291-17
8	Targeted Elimination of <i>bla</i> NDM-5 Gene in <i>Escherichia coli</i> by Conjugative	Li et al.	2022	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Utilizar el sistema CRISPR-Cas9 para eliminar el plásmido que alberga <i>bla</i> NDM-5 y	https://doi.org/10.2147/IDR.S357470

	CRISPR-Cas9 System					sensibilizar <i>Escherichia coli</i> resistente a los carbapenémicos.	
9	A bacterial gene-drive system efficiently edits and inactivates a high copy number antibiotic resistance locus	Valderrama et al.	2019	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Desarrollar un sistema de impulsión genética que inactiva un marcador de resistencia a los antibióticos. Comparar frente al sistema CRISPR Cas.	https://doi.org/10.1038/s41467-019-13649-6
10	Role of <i>AmpG</i> in the resistance to β -lactam agents, including cephalosporins and carbapenems: candidate for a novel antimicrobial target	D'Souza et al.	2021	Cuasi experimental	<i>Klebsiella aerogenes</i>	Examinar el mecanismo de resistencia a los carbapenémicos en <i>K. aerogenes</i> . Además, incorporar un sistema knockout mediado por CRISPR-Cas9 para eliminar <i>ampG</i> y comprender su papel en la resistencia a los antimicrobianos.	https://doi.org/10.1186/s12941-021-00446-7

11	Phage-delivered sensitisation with subsequent antibiotic treatment reveals sustained effect against antimicrobial resistant bacteria	Liu et al.	2020	Cuasi experimental	Fago lisogénico aislado de <i>Escherichia coli</i>	Utilizar un sistema CRISPR/Cas9 para eliminar plásmidos que codifican <i>NDM-1</i> que median la resistencia antimicrobiana contra los carbapenémicos.	https://doi.org/10.7150/thno.42573
12	Efficient Genome Engineering of a Virulent <i>Klebsiella</i> Bacteriophage Using CRISPR-Cas9	Shen et al.	2018	Cuasi experimental	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Abordar la edición eficiente, rápida y rentable del genoma del fago <i>Klebsiella</i> basada en CRISPR.	https://doi.org/10.1128/jvi.00534-18
13	Mechanisms of polymyxin resistance induced by <i>Salmonella typhimurium</i> in vitro	Li et al.	2021	Cuasi experimental	<i>Salmonella typhimurium</i>	Utilizar el sistema de edición de genes CRISPR/Cas9 para construir mutantes de eliminación de genes en <i>Salmonella</i> para desactivar el gen <i>phoP</i> de AT-P128.	https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109063

14	Resensitizing tigeicycline- and colistin-resistant <i>Escherichia coli</i> using an engineered conjugative CRISPR/Cas9 system	Zhang et al.	2024	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Crear un plásmido que albergue el sistema CRISPR/Cas9 dirigido a las variantes <i>tet (X4)</i> y <i>mcr-1</i> para limitar la introducción de genes de resistencia adicionales en las bacterias resensibilizadas.	https://doi.org/10.1128/spectrum.03884-23
15	A Transposon-Associated CRISPR/Cas9 System Specifically Eliminates both Chromosomal and Plasmid-Borne <i>mcr-1</i> in <i>Escherichia coli</i>	He et al.	2021	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Desarrollar un sistema CRISPR/Cas9 capaz de ejercer un curado específico de secuencia contra el plásmido portador de <i>mcr-1</i> .	https://doi.org/10.1128/aac.01054-21
16	Targeted elimination of Vancomycin resistance gene <i>vanA</i> by CRISPR-Cas9 system	Tao, Hu, et al.	2023	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Construir un sistema CRISPR-Cas9 dirigido a plásmidos portadores de <i>vanA</i> que median la resistencia	https://doi.org/10.1186/s12866-023-03136-w

						bacteriana a los antibióticos de vancomicina.	
17	Elimination of <i>bla</i> (KPC-2)-mediated carbapenem resistance in <i>Escherichia coli</i> by CRISPR-Cas9 system.	Tao, Chen, et al.	2023	Cuasi experimental	<i>Escherichia coli</i>	Investigar el efecto del sistema CRISPR-Cas9 en la eliminación y propagación del gen <i>bla</i> KPC-2.	https://doi.org/10.1186/s12866-023-03058-7

Nota. CRISPR: Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y espaciadas regularmente

Tabla Suplementaria 2. Evaluación de la calidad de los estudios con la herramienta JBI.

N°	Autor	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	JBI %	Riesgo de sesgo
1	Jackson et al.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	88,89	Bajo
2	Hajizadeh et al	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
3	Yan et al	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
4	Sun et al	✓	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	77,78	Bajo
5	Wu et al	✓	X	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	77,78	Bajo
6	Wan et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo
7	Zhao et al	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
8	Li et al	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
9	Valderrama et al	✓	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	77,78	Bajo
10	D'Souza et al	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	77,78	Bajo

11	Liu et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo
12	Shen et al	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
13	Li et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo
14	Zhang et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo
15	He at al	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	88,89	Bajo
16	Tao et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo
17	Tao et al	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100	Bajo

Nota. JBI: Instituto Joanna Briggs.

Tabla Suplementaria 3. Evaluación de la calidad de la revisión sistemática

		Lista de verificación PRISMA 2020	Sí	Parcial	No
Título	1	Título	X		
Resumen	2	Resumen estructurado	X		
Introducción	3	Justificación	X		
	4	Objetivos	X		
Métodos	5	Criterios de elegibilidad	X		
	6	Fuentes de información	X		
	7	Estrategia de búsqueda	X		
	8	Proceso de selección de los estudios	X		
	9	Proceso de extracción de los datos	X		
	10	Lista de los datos	X		
	11	Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales	X		
	12	Medidas del efecto			X
	13	Métodos de síntesis		X	
	14	Evaluación del sesgo en la publicación	X		

	1 5	Evaluación de la certeza de la evidencia	X		
Resultados	1 6	Selección de estudios	X		
	1 7	Características del estudio	X		
	1 8	Riesgo de sesgo de los estudios individuales	X		
	1 9	Resultados de los estudios individuales	X		
	2 0	Resultados de la síntesis			X
	2 1	Sesgos en la publicación			X
	2 2	Certeza de la evidencia		X	
Discusión	2 3	Discusión	X		
Otra información	2 4	Registro y protocolo			X
	2 5	Financiación	X		
	2	Conflicto de intereses			X

	6				
	2	Disponibilidad de datos, códigos y otros materiales	X		
	7				
		Total	20	2	6
		%	74, 07	7,41	18, 53

Nota. PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis