

## Grao en Bioloxía

### Memoria do Traballo de Fin de Grao

**Revisión bibliográfica: Alternativas a los antibióticos ante la aparición de la multirresistencia bacteriana**

**Revisión bibliográfica: Alternativas aos antibióticos fronte a aparición da multirresistencia bacteriana**

**Literature review: Alternatives to antibiotics in response to the spread of bacterial multi-resistance**

**Alexia Fernández Campos**

**Curso: 2020 - 2021. Convocatoria: Xullo**

*Directora: María Ángeles Cid Blanco*

## ÍNDICE

1. Introducción .....	5
2. Objetivos .....	7
3. Material y métodos .....	7
4. Resultados y discusión .....	8
5. Conclusiones/Conclusiones/Conclusions .....	22
6. Bibliografía .....	24

## RESUMEN

A pesar de que la adquisición de resistencia a sustancias antibióticas es un proceso que se produce de forma natural en las poblaciones bacterianas, el uso de antibióticos por el ser humano ha acelerado el proceso de manera considerable. Las bacterias multirresistentes pueden convertirse en un problema de salud a nivel mundial, y es por ello que se están estudiando nuevas estrategias para combatirlas. En esta revisión bibliográfica, se presentarán varios aspectos de interés sobre ciertas alternativas que están siendo investigadas actualmente en la lucha contra la resistencia bacteriana, tales como la terapia de fagos, los nanoantibióticos o los péptidos antimicrobianos, entre otras.

## RESUMO

A pesar de que a adquisición de resistencia a sustancias antibióticas é un proceso que se produce de maneira natural nas poboacións bacterianas, o emprego de antibióticos polo ser humano acelerou o proceso de xeito considerable. As bacterias multirresistentes poden converterse nun problema de saúde a nivel mundial, e por iso estanse a estudar novas estratexias para combatilas. Nesta revisión bibliográfica, presentaranse varios aspectos de interese sobre certas alternativas que están sendo investigadas actualmente na loita contra a resistencia bacteriana, tales como a terapia de fagos, os nanoantibióticos ou os péptidos antimicrobianos, entre outras.

## SUMMARY

Although the acquisition of resistance to antibiotic substances is a naturally occurring process in bacterial populations, the use of antibiotics by humans has accelerated the process considerably. Multidrug-resistant bacteria may become a global health problem, which is why new strategies to combat them are being studied. In this literature review, several aspects of interest of some alternatives that are currently being investigated in the fight against bacterial resistance will be presented, such as phage therapy, nanoantibiotics or antimicrobial peptides, among others.

PALABRAS CLAVE: resistencia a antibióticos, bacterias multirresistentes, alternativas a antibióticos

## 1. Introducción

Cada año se descubren nuevas enfermedades infecciosas que pueden llegar a constituir un peligro para la salud humana. Además, a ello debemos sumarle la resistencia a los antibióticos que se está expandiendo entre las poblaciones de bacterias patógenas (Dodds, 2017). Según Alós (2015), la multiresistencia bacteriana se define como la capacidad de las bacterias de sobrevivir en concentraciones de antibióticos que inhiben o matan a otras de la misma especie.

Este fenómeno ha tenido lugar desde el descubrimiento y comercialización de las primeras sustancias antibióticas. A principios del siglo XX, múltiples enfermedades infecciosas ya comenzaron a combatirse con antibióticos recientemente descubiertos. Poco tiempo después, ya se sabía que ciertas bacterias eran capaces de desarrollar, recibir y transmitir mecanismos de resistencia (Mohr, 2016).

En 1945, cuando Alexander Fleming dio su discurso por recibir el Premio Nobel por el descubrimiento de la penicilina, ya lanzó una advertencia: “Existe el peligro de que un hombre ignorante pueda fácilmente aplicarse una dosis insuficiente de antibiótico y, al exponer a los microbios a una cantidad no letal del medicamento, los haga resistentes”. Volviendo la vista atrás, es fácil descubrir que desde el comienzo de la “era antibiótica” el ser humano estuvo al tanto de lo que estaba aconteciendo, más no se le dio la importancia necesaria porque seguían apareciendo nuevas alternativas (Sabtu et al., 2015).

Hoy en día, son muchas las muertes anuales debidas a la resistencia microbiana a los antibióticos, y en la lucha entre los científicos y las bacterias, estas parecen ir ganando. Producir nuevos antibióticos ya no es tan rentable como antes, ya que al poco tiempo desde su producción comienza a aparecer resistencia a los mismos (Taati Moghadam et al., 2020).

Pero ¿cómo obtienen las bacterias dicha resistencia? Gran parte de las sustancias antimicrobianas son moléculas producidas de forma natural por ciertas bacterias y, con el fin de sobrevivir ellas, otras de su mismo nicho ecológico han desarrollado mecanismos de resistencia. En ese caso hablamos

de una resistencia intrínseca. Sin embargo, el problema es la “resistencia adquirida” de aquellas poblaciones bacterianas que de forma natural eran sensibles a cierto compuesto antimicrobiano, pero en la actualidad ya no o no con la misma intensidad (Munita & Arias, 2016).

Las bacterias son microorganismos haploides con la capacidad de multiplicarse continuamente. Cada vez que una de esas pequeñas células se replica, surgen oportunidades de que se produzcan mutaciones. Este fenómeno, junto con la transferencia horizontal de genes, es la razón por la que en ellas los procesos evolutivos se producen más rápidamente que en otros seres vivos (Bengtsson-Palme et al., 2018).

Dicha plasticidad genética ocasiona que algunos microorganismos expuestos a un antibiótico puedan desarrollar una mutación en los genes implicados en la efectividad del fármaco, a la vez que comienzan a predominar en las poblaciones por el simple hecho de sobrevivir. Las mutaciones son muy diversas, y pueden ocasionar cambios en las vías metabólicas que procesan el medicamento, como se ve en la Figura 1: exclusión de la molécula antibiótica al medio, disminución de la afinidad por el fármaco, etc. (Munita & Arias, 2016).

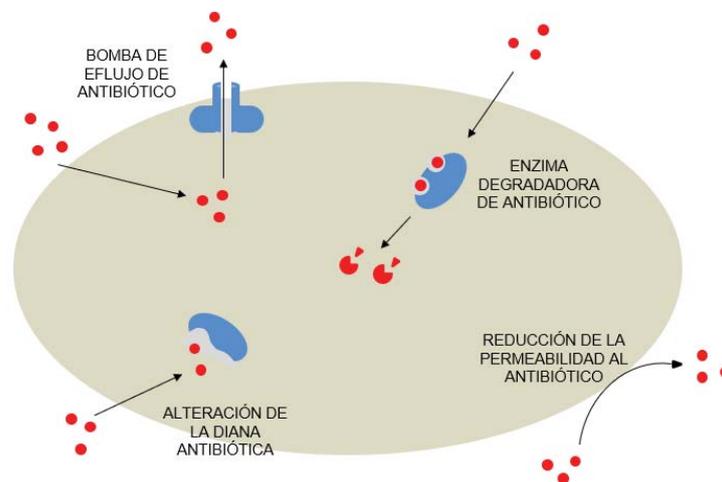


Figura 1. Ejemplos de mecanismos responsables de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Adaptado de Borges et al. (2016).

Por otro lado, las bacterias que poseen genes intrínsecos de resistencia pueden transferirlos a otras bacterias de su entorno. Esa transferencia horizontal de genes (Horizontal Gene Transfer, HGT) permite una adquisición

mucho más rápida de resistencia antibiótica, y puede darse de varias maneras: transformación por material genético extracelular, transducción por bacteriófagos o conjugación por plásmidos o transposones (Lerminiaux & Cameron, 2019). Más recientemente, también se ha descubierto que ciertos integrones y cassettes genéticos tienen la capacidad y maquinaria necesaria para portar y expresar genes de resistencia a antibióticos (Mc Carlie et al., 2020).

## **2. Objetivos**

Las noticias que aparecen en diferentes medios sobre el inevitable auge de la resistencia microbiana a los antibióticos despertaron en mí el interés por conocer los resultados de los estudios recientes relacionados con dicho campo. Esto desembocó en la realización de un trabajo de revisión de la bibliografía que tiene el propósito de reunir información relevante sobre algunos de los elementos que están siendo sometidos a investigación actualmente, porque podrían convertirse en nuevas formas de combatir a las bacterias patógenas.

## **3. Material y métodos**

Para la revisión bibliográfica se han considerado únicamente artículos publicados desde el 2015 en adelante. La búsqueda de estos se llevó a cabo en las bases de datos “Web of Science” y “PubMed”, mediante la introducción de los términos “antibiotic resistance”, “multiresistant bacteria” y “alternatives to antibiotics” por separado. Una vez encontrada información más general, se comenzó a introducir el nombre de cada una de las alternativas seleccionadas junto con los tópicos “antibacterial” y “antibiotic resistance” en distintos cuadros de búsqueda. Además, se consideraron algunos de los artículos señalados por las bases de datos como “relacionados” con los resultantes de dicha búsqueda. La elección de las alternativas a los antibióticos para su desarrollo a lo largo del trabajo se realizó de manera subjetiva, atendiendo a características como innovación, popularidad o interés personal.

#### 4. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran algunos de los elementos que están siendo sometidos a investigación, en mayor o menor medida, por su potencial para convertirse en métodos antibacterianos equiparables a los fármacos antibióticos.

Tabla 1. Número de artículos en las bases de datos Web of Science y PubMed relacionados con distintas alternativas a los antibióticos.

	<b>ARTÍCULOS EN WOS</b>	<b>ARTÍCULOS EN PUBMED</b>
<b>BACTERIÓFAGOS</b>	643	605
<b>COMPUESTOS FITOQUÍMICOS</b>	612	220
<b>NANOANTIBIÓTICOS</b>	343	1033
<b>ANTICUERPOS MONOCLONALES</b>	141	71
<b>PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS</b>	5417	3273
<b>METABOLITOS ALGALES</b>	8	4
<b>VITAMINA E</b>	77	12
<b>VACUNAS</b>	1204	1221

Los péptidos antimicrobianos son el tema más mencionado en artículos de ambas bases, seguidos de las vacunas. La vitamina E y los metabolitos algales aportan muy pocos resultados en comparación con el resto, como los bacteriófagos, los compuestos fitoquímicos, los nanoantibióticos o los anticuerpos monoclonales.

A continuación, se presentan detalladamente algunas de las estrategias más interesantes que se han encontrado en la revisión.

## BACTERIÓFAGOS

Los bacteriófagos son virus capaces de infectar a bacterias y replicarse empleando su maquinaria intracelular, y pueden presentar dos ciclos biológicos diferentes (Fig. 2): el lisogénico, donde el material genético vírico pasa a formar parte del genoma bacteriano; o el lítico, donde después de la formación de nuevas copias del virus, la célula huésped es lisada. Este último ha puesto a los bacteriófagos en el ojo de mira de los investigadores, como una alternativa a los antibióticos en la lucha contra las bacterias multirresistentes (Kakasis & Panitsa, 2019).

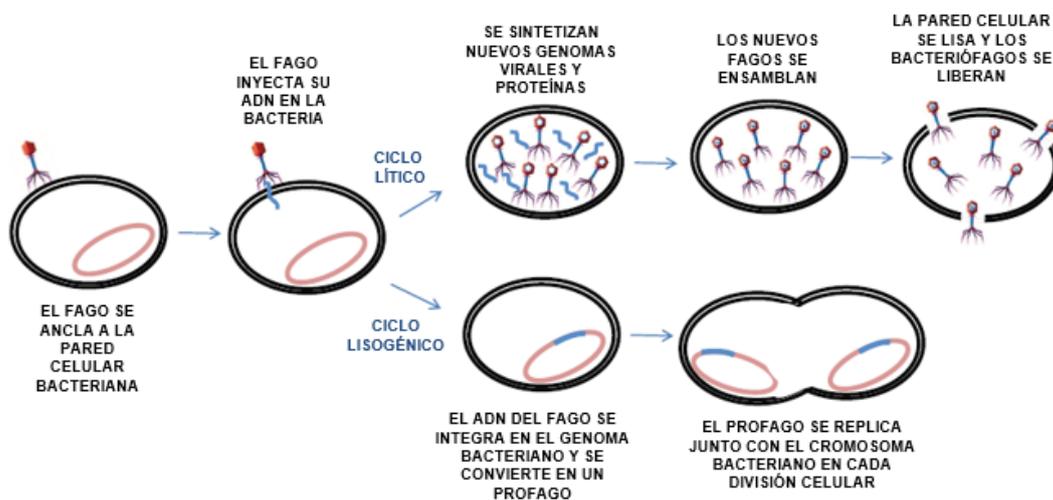


Figura 2. Ciclo de vida lítico y lisogénico de los bacteriófagos. Adaptado de Kakasis & Panitsa (2019).

Investigaciones recientes con modelos animales han puesto a prueba el tratamiento con fagos contra ciertos patógenos de importancia clínica tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* o *Staphylococcus aureus* entre otros, y en todos se redujo el porcentaje de mortalidad de los animales de estudio infectados con esas bacterias en comparación con los controles (Lin et al., 2017).

Debido a la capacidad de replicación de los fagos, estos aumentan su concentración en el lugar de la infección, reduciendo el número de dosis requeridas en la terapia. Su amplia distribución hace que sean capaces de llegar a todo el cuerpo, actuando en infecciones que de otra manera no serían accesibles (Taati Moghadam et al., 2020).

Otra de las características más destacables de los fagos, es que estos son altamente específicos con su huésped, llegando a nivel de especie o en ocasiones al de cepa. Esto supone una ventaja frente a los antibióticos de amplio espectro, ya que ni el microbioma (ni las células animales) sufrirían daño con el tratamiento (Reina & Reina, 2018); pero, por otro lado, esa especificidad también exige la identificación precisa del microorganismo causante de la infección antes de comenzar un tratamiento, lo que puede suponer costes muy altos (Gordillo Altamirano & Barr, 2019).

Los fagos líticos que se emplean en la terapia de bacteriófagos suelen emplear dos tipos de proteínas: las holinas, que perforan la membrana celular, y las lisinas, que destruyen la pared bacteriana. Una especie de fago puede producir lisinas muy diferentes en estructura y composición bioquímica, y algunas hasta pueden mostrar actividad de amplio espectro en lugar de ser tan específicas, como es el caso de la lisina ABgp46 (Lin et al., 2017).

También se ha visto que los fagos, gracias a ciertas enzimas ubicadas en el exterior de la cápside, pueden llegar a degradar la matriz extracelular en las biopelículas bacterianas, alcanzando así hasta los microorganismos más embebidos en ella (Rohde et al., 2018). Para conseguir este mismo efecto con antibióticos sería necesario emplear altas dosis, que pueden llegar a ser tóxicas para algunos tejidos y tampoco aseguran la erradicación completa (Lin et al., 2017).

Por otra parte, los fagos podrían entrar en conflicto con el sistema inmune, que los neutralizaría reduciendo su eficacia antibacteriana. La introducción de los virus puede activar una respuesta inmunitaria en la que se producen anticuerpos antifágicos que inactivarían a gran parte los fagos (Kakasis & Panitsa, 2019), aunque esto tampoco significaría el fracaso absoluto del tratamiento debido a que la multiplicación fágica es más rápida que la producción de dichos anticuerpos (Reina & Reina, 2018). Sin embargo, no se puede ignorar el hecho de que si se produce una lisis conjunta muy rápida de un gran número de bacterias, la liberación de toxinas y antígenos puede provocar una cascada inflamatoria que induzca un fallo orgánico múltiple (Taati Moghadam et al., 2020).

Otro problema añadido es el de que, si los virus entrasen en ciclo lisogénico, o si se diera un proceso de transducción, las bacterias podrían adquirir genes nuevos que les confirieran la capacidad de volverse aún más virulentas (produciendo toxinas codificadas por fagos) o incluso más resistentes a los antibióticos (Gordillo Altamirano & Barr, 2019). Para evitarlo, se podrían elegir fagos que no tuvieran la capacidad natural de transmitir genes o bien fagos modificados previamente (Reina & Reina, 2018).

Ciertos estudios son muy prometedores, como el de Chan et al. (2016), que han conseguido aislar un bacteriófago (OMKO1) capaz de infectar a *Pseudomonas aeruginosa* uniéndose a una porina de eflujo de ciertos antibióticos; como respuesta, la bacteria cambia el mecanismo de la bomba de eflujo, volviéndose más sensible a los fármacos.

Además, la investigación con fagos abre camino a otras alternativas, como el uso de proteínas líticas exclusivamente, que serían más fáciles de producir y administrar que las preparaciones enteras de bacteriófagos. Con todo, no todas las lisinas tienen el mismo potencial para ser empleadas en terapia, y parece ser más eficaz el empleo simultáneo de lisinas y antibióticos (Lin et al., 2017).

## COMPUESTOS FITOQUÍMICOS

En los últimos años, se ha investigado también sobre el uso de sustancias procedentes de plantas que puedan tener actividad antimicrobiana. Tan solo se ha analizado farmacológicamente aproximadamente un 6% de las casi 300.000 especies de plantas superiores, y el 15% fitoquímicamente (Borges et al., 2016).

Las sustancias fitoquímicas son metabolitos secundarios clave para la defensa de las plantas contra los microorganismos (Li et al., 2019). Estas producen una gran variedad de compuestos estructuralmente diferentes (polifenoles, terpenoides, aceites esenciales, lectinas, polipéptidos y alcaloides) y con funciones distintas también. En la búsqueda de dichos elementos con capacidad antibiótica, se suelen emplear las técnicas de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), que permiten obtener perfiles

fitoquímicos de los extractos vegetales, y los métodos de macrodilución y microdilución en agar para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) contra diferentes aislados bacterianos (AlSheikh et al., 2020).

Sin embargo, los fitoquímicos presentan un gran inconveniente, y es que son muy poco solubles en medios acuosos, lo que limita en gran medida sus aplicaciones en medicina. Li et al. (2019) consiguen superar dicha limitación empleando como vehículos de administración a las nanopartículas. Emplearon un nanocompuesto de carvacrol en agua (NC) estabilizado con polímeros como plataforma para diversos fitoquímicos cuya actividad antimicrobiana ya había sido confirmada: eugenol, carvacrol, limoneno, etc. Los NC cargados con fitoquímicos sin grupos hidroxilos fenólicos demostraron ser nanocompuestos de baja citotoxicidad, y muy eficaces contra las bacterias de las biopelículas, por lo que podrían ser un sistema prometedor para el tratamiento de heridas.

Otros estudios, como el de Abachi et al. (2016) confirmaron los efectos inhibitorios de ciertos fitoquímicos puros contra la adhesión (estrategia principal), la formación de biopelículas, la detección de quórum y la hidrofobicidad en distintas especies de *Streptococcus*.

Numerosos estudios sobre extractos de plantas demostraron la existencia de varias moléculas vegetales capaces de bloquear las bombas de eflujo de antibióticos tanto en bacterias Gram negativas como en Gram positivas, restringiendo la resistencia a los fármacos de estos microorganismos y permitiendo reutilizar los antibióticos ya conocidos. Este y otros mecanismos de actuación se recogen en la Figura 3.

Por ahora ninguna de estas moléculas ha sido aprobada para uso clínico, pero se está investigando para descubrir compuestos menos tóxicos y a la vez que eficaces en terapia (Seukep et al., 2020).

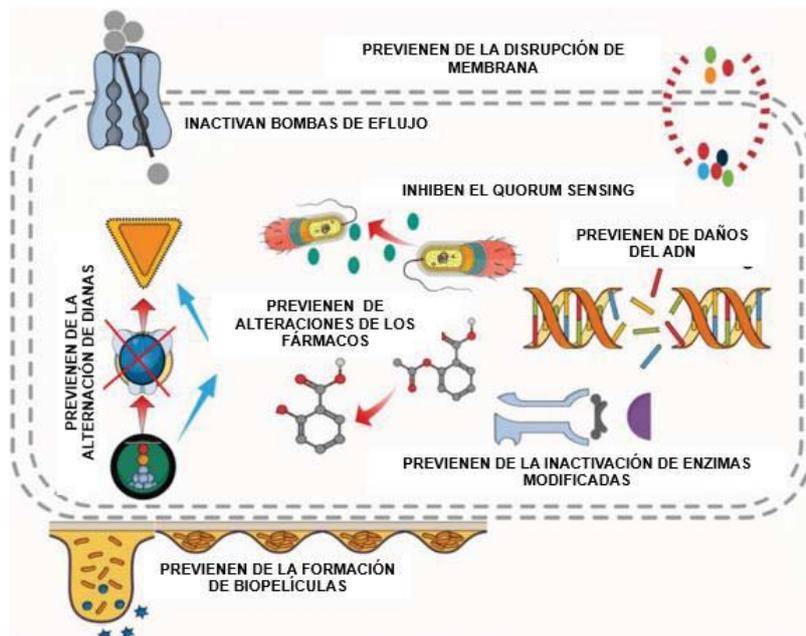


Figura 3. Mecanismos de actuación de los compuestos fitoquímicos frente a las bacterias. Adaptado de AlSheikh et al. (2020).

### NANOMATERIALES ANTIBIÓTICOS (NANOANTIBIÓTICOS)

Las biopelículas bacterianas se componen de una comunidad de bacterias embebidas dentro de una matriz de sustancia polimérica extracelular secretada por ellas mismas, lo que las hace más resistentes al estar en un entorno protegido. Dichas estructuras se asocian directamente con muchas infecciones resistentes a los medicamentos y a la destrucción de las superficies (Hwang et al., 2019). El tratamiento de estas biopelículas implica destruir el polímero y matar estas bacterias, lo cual es más difícil que inhibir la propia formación (Tran et al., 2020). Desde siempre, ciertos metales como el zinc, el cobre, el oro o la plata se han utilizado de diversas formas como agentes antimicrobianos, pero la nanotecnología ha permitido avanzar hacia la obtención de una forma de potenciar esa capacidad (Muzammil et al., 2018).

Hwang et al. (2019) propusieron como alternativa para la destrucción y eliminación de biofilms a los robots antimicrobianos catalíticos (Catalytic Antimicrobial Robots, CARs). Una cualidad innovadora de estos dispositivos es que podrían llegar a solventar los problemas de resistencia y reinfección asociados a las biopelículas, que muchas veces no son abordables desde otros

métodos actuales. Estos robots se compondrían, por un lado, de nanopartículas de óxido de hierro que catalizan la generación de radicales libres a partir de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) capaces de matar a las bacterias y degradar la matriz de exopolisacáridos del biofilm. Después, estos restos de biopelícula se ensamblarían con las nanopartículas para componer las superestructuras (robots bihíbridos) que, al accionarse un campo magnético externo, atravesarían y eliminarían completamente la biopelícula, impidiendo su rebrote. Los CARs podrían ser útiles para limpiar amplias superficies o moverse por trayectorias bien definidas con precisión a microescala.

Otros estudios como el de Elbourne et al. (2020) también proporcionaron datos resultantes de la investigación con nanomateriales: en este caso sobre el uso de gotas de metal líquido (*liquid metal*, LM) a base de galio que, al ser expuestas a un campo magnético giratorio de baja intensidad, se activaría su movimiento y desarrollarían bordes afilados, siendo capaces de destruir físicamente la matriz de la biopelícula y las células bacterianas. Además, un punto a favor de este sistema es que, tras su análisis de citotoxicidad en células de riñón embrionario humano, se determinó que las nanopartículas de hierro (denominadas “GLM-Fe”) no inducen ningún daño físico significativo a las células de mamíferos, debido a que estas son más elásticas y grandes y por tanto la fuerza ejercida por las partículas de GLM-Fe en respuesta al magnetismo se distribuye por una superficie mayor y se minimiza la tensión en la membrana celular.

En la Figura 4 está representado el mecanismo de acción de las GLM-Fe. Estas nanopartículas de hierro, una vez activadas físicamente por acción de un campo magnético, van a poder vibrar, girar y moverse. Al estar en contacto con la biopelícula bacteriana ejercerán una fuerza física sobre ella, rompiendo la membrana plasmática de las células y, por tanto, matándolas.

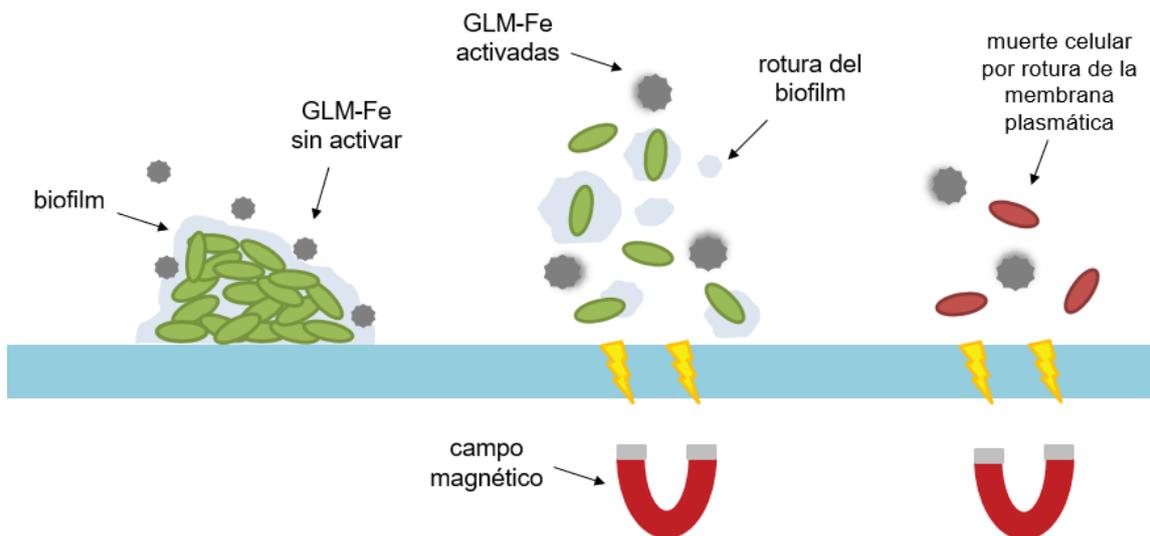


Figura 4. Representación de la acción física de las nanopartículas de hierro (GLM-Fe) sobre la biopelícula bacteriana. Adaptado de Elbourne et al. (2020).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son, según varios autores, los nanoantibióticos más prometedores en la actualidad debido a sus propiedades antivirales y antibacterianas. Estas tienen varias maneras de actuar: rompiendo la pared y la membrana celular, penetrando en las células y provocando daños intracelulares que alteran las vías metabólicas, dañando biomoléculas como el ADN o proteínas, o generando especies reactivas de oxígeno (Vazquez-Muñoz et al., 2019). En los últimos años se ha estado investigando el uso de nanopartículas de plata en combinación con diferentes antibióticos con el fin de conseguir aumentar capacidad antimicrobiana de los mismos, que se ha visto muy disminuida por la adquisición de resistencia por parte de las bacterias (Muzammil et al., 2018).

### ANTICUERPOS MONOCLONALES

El uso de antibióticos como remedio para acabar con infecciones bacterianas dejó en segundo plano durante décadas al desarrollo de otros métodos, ya que estos eran muy eficaces. Sin embargo, la resistencia generalizada a muchos antibióticos tradicionales está exigiendo la investigación de nuevas alternativas, y los anticuerpos monoclonales podrían ser una buena opción para el tratamiento de ciertas infecciones. Los anticuerpos monoclonales

antibacterianos tienen el potencial de reducir la necesidad de prescribir antibióticos tradicionales, lo que podría traducirse en una menor aparición de cepas bacterianas resistentes, según varios estudios (McConnell, 2019).

Entre las ventajas que presentan al ser empleados en terapia, se encuentra la elevada especificidad, de manera que no afectarían a las bacterias naturales del microbioma del hospedador. Por otro lado, tendrían la capacidad de proteger a los pacientes de inmediato, y es muy poco probable que se desarrollen resistencias si se emplean como dianas estructuras altamente conservadas (Rossmann et al., 2015). En contrapartida a la alta especificidad, se encuentra la necesidad de identificar la bacteria causante de la infección antes de iniciar la terapia de anticuerpos (McConnell, 2019).

Existen diferentes tipos de anticuerpos que pueden actuar contra las infecciones bacterianas por medio de varios mecanismos (Figura 5):

- (a) - Pueden unirse a un antígeno presente en la superficie de la célula bacteriana lo que provoca un cambio conformacional en los mismos que facilitará la activación del sistema del complemento y dará como resultado la lisis de las células bacterianas por ataque a la membrana.
- (b) - Puede producirse la opsonización de las bacterias, un proceso por el cual estas serán ingeridas y destruidas por un fagocito al ser marcadas por los anticuerpos.
- (c) - Pueden actuar neutralizando exotoxinas bacterianas inhibiendo la unión a sus dianas celulares o impidiendo que puedan multimerizar con otras subunidades de toxina. No tienen actividad antibacteriana directa, pero su efecto proporciona al huésped tiempo para que pueda activar una respuesta inmune adecuada.

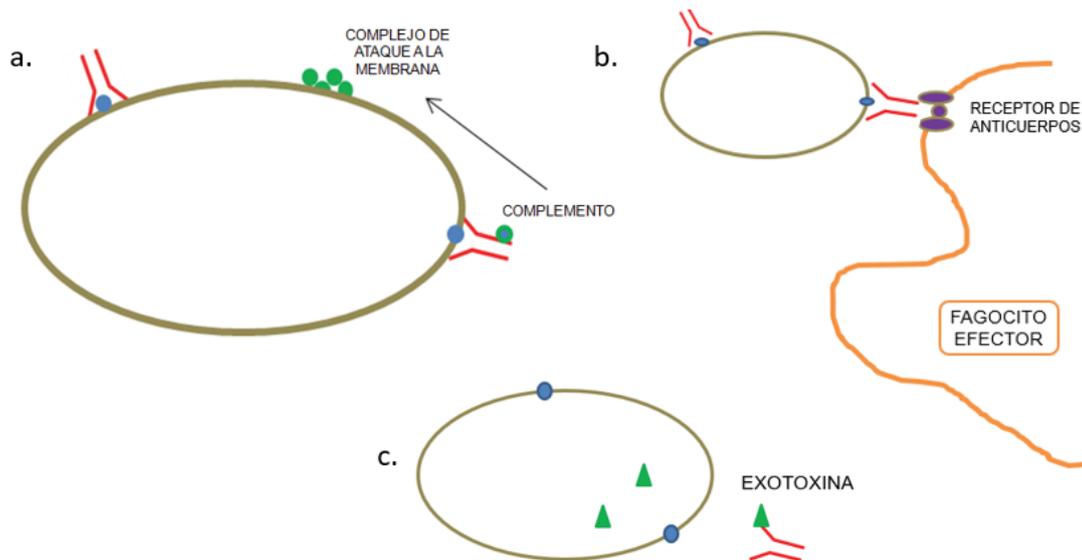


Figura 5. Mecanismos de acción de anticuerpos monoclonales antibacterianos. Adaptado de McConnell (2019).

Para la identificación de antígenos diana, interesa que posean alguna o varias de las siguientes características: estar altamente conservados, estar presentes en todas las cepas dentro de una especie, ser esenciales para la supervivencia o patogénesis, ser altamente expresados durante la infección o estar presentes en la superficie de la célula bacteriana (McConnell, 2019).

El potencial farmacodinámico de los anticuerpos monoclonales dependerá, por tanto, de la naturaleza de la diana y la estructura del anticuerpo. Con relación a esta última, ha aumentado el interés en el desarrollo de inmunoconjugados: conjugados anticuerpo-antibiótico o radioinmunoconjugados capaces de administrar radiación bactericida dirigida (Wang-Lin & Balthasar, 2018).

Un grave problema existente es el de que muchas bacterias patógenas se encuentran protegidas por biopelículas que son casi inaccesibles a los anticuerpos, como también a los antibióticos. Además, las biopelículas pueden liberar de forma continuada factores de virulencia (como, por ejemplo, exopolisacáridos) que actúan como señuelos y reducen las moléculas de anticuerpos capaces de alcanzar a las bacterias. Además, debido a los daños que sufre el endotelio vascular por las toxinas de las bacterias causantes de la infección, pueden producirse abscesos que igualmente afectan adversamente a la eliminación de bacterias. Muchas de ellas son también capaces de secretar

proteinasas o proteínas neutralizadoras de anticuerpos como la proteína A de *S. aureus*, que se une al anticuerpo e impide la opsonofagocitosis (Wang-Lin & Balthasar, 2018).

Los anticuerpos con actividad opsonizante ya fueron estudiados por Rossmann et al. (2015) en diferentes cepas, entre las que se encuentran algunas multirresistentes de las especies *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium*. Estaban dirigidos contra el ácido lipoteicoico, un antígeno presente en la mayoría de las bacterias Gram positivas, y vieron que en efecto protegían de la infección a tres modelos animales, pero llegaron a la conclusión de que el tratamiento que habían propuesto con anticuerpos monoclonales probablemente complementarían en lugar de reemplazar a la terapia con antibióticos.

En estos últimos años, algunos anticuerpos monoclonales que están siendo comercializados para el tratamiento de infecciones bacterianas son el Raxibacumab y Obiltoximab, aprobados para el tratamiento de pacientes con carbunco por inhalación debido a *Bacillus anthracis* (para su uso en combinación con medicamentos antibacterianos), y Bezlotoxumab, para reducir la recurrencia de infección de *Clostridium difficile* (Wang-Lin & Balthasar, 2018).

Además, varios otros anticuerpos monoclonales están siendo sometidos a ensayos clínicos, y se están desarrollando múltiples terapias basadas en anticuerpos monoclonales para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos gramnegativos resistentes a múltiples fármacos, como *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* o *Klebsiella pneumoniae* (McConnell, 2019).

### PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS (PAM)

Los péptidos antimicrobianos son unas moléculas de generalmente menos de 50 residuos aminoacídicos producidas de forma natural por diversos organismos como parte de su sistema inmune para prevenir la infección por bacterias y otros microorganismos patógenos (Silveira et al., 2021). Varias de

sus características los convierten en otra prometedora alternativa a los antibióticos ante el auge de la multirresistencia bacteriana.

Estos se pueden clasificar de manera básica en poliaminoácidos, PAM de molécula pequeña y lipopéptidos. Actualmente se han registrado más de 3000 PAM naturales, pero con el fin de reducir costes de producción, los PAM cortos (de menos de 15 aminoácidos) son más preferibles que otros. Presentan dos rasgos fundamentales para la correcta actividad antibacteriana: carga positiva e hidrofobicidad. El primero proporciona a la molécula peptídica la afinidad electrostática por la membrana celular bacteriana (que tiene carga negativa), y el segundo la capacidad de asociarse a la membrana celular.

Existen varios modelos que explican cómo se produce el deterioro de la membrana que dará como resultado un flujo del contenido celular cara el exterior (Fig. 6) y, por tanto, la muerte de la bacteria (Yan et al., 2021). Pero, además, se conocen ciertos PAM que actúan mediante otros mecanismos que no implican dañar la membrana plasmática sino que afectan a la función fisiológica normal de la célula, como pueden ser la inhibición de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, la generación de especies reactivas de oxígeno que provocan apoptosis, o el bloqueo de algunas enzimas (Luong et al., 2020)

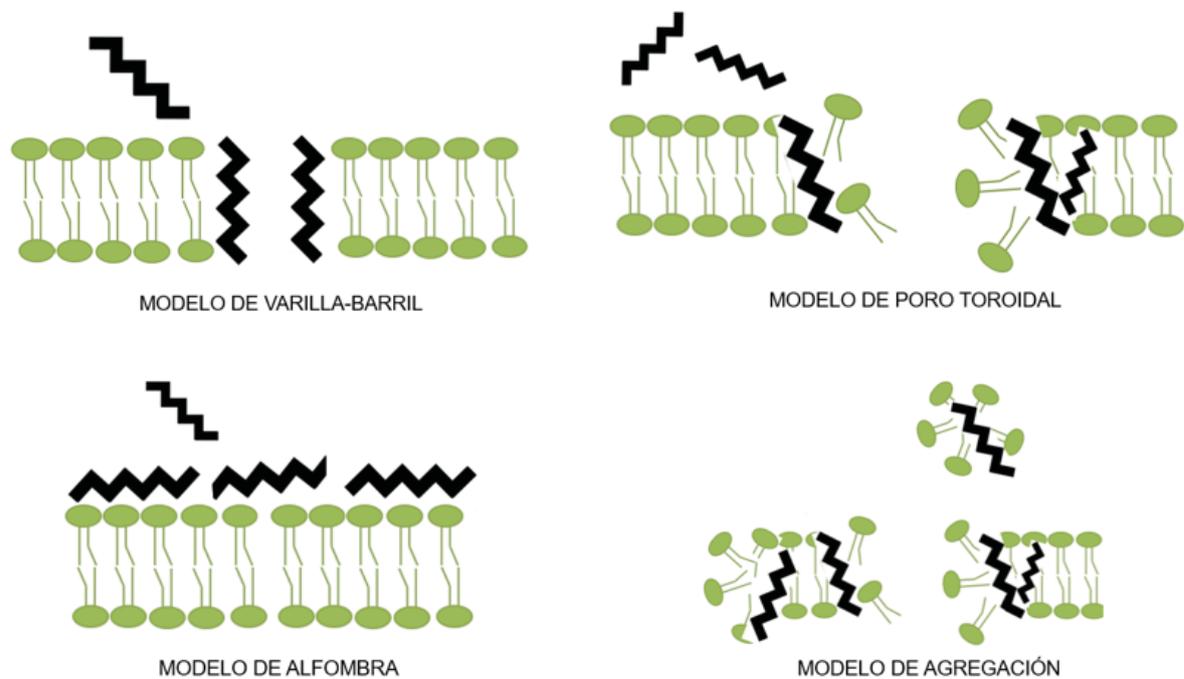


Figura 6. Modelos para la destrucción de la membrana plasmática bacteriana por acción de los péptidos antimicrobianos. Adaptado de Carmona-Ribeiro & Araujo (2021).

Luong et al. (2020) han descrito múltiples cualidades ventajosas de los PAM:

- Amplio espectro contra bacterias tanto Gram negativas como Gram positivas.
- Actividad moduladora del sistema inmune del huésped, promoviendo la inflamación para eliminar la infección.
- Actividad contra las biopelículas: algunos PAM actúan contra señales o genes que intervienen en la formación del biofilm.
- Menor riesgo de que se generen resistencias al haber diversas vías por las que acabar con las bacterias (respuesta inflamatoria, poros en la membrana celular, inhibición de enzimas, etc.).
- Poca probabilidad de desarrollar toxicidad: al contrario que los antibióticos, que en ciertos casos pueden empeorar el estado de la infección al provocar la liberación del contenido celular de las bacterias, no se ha observado que los PAM puedan causar un choque séptico.

Se ha visto una gran eficacia de la combinación de PAM y antibióticos contra infecciones bacterianas catalogadas como causadas por patógenos de alta prioridad para el desarrollo de nuevos antibióticos por la OMS (Lewies et al., 2019). Y entre otras estrategias para mejorar el efecto antibacteriano de los PAM, nos encontramos con su empleo a modo de transportadores intracelulares de otras moléculas tóxicas como iones metálicos, o su autoensamblaje (Yan et al., 2021).

Sin embargo, también existen varias contraindicaciones para los PAM en el desarrollo de fármacos. Una vez en el tracto gastrointestinal y otros fluidos corporales, la degradación y excreción de los péptidos durante su viaje hasta las células diana sucede de manera muy rápida, lo que se traduce en una baja biodisponibilidad (Luong et al., 2020). También se pueden producir efectos secundarios de toxicidad por su interacción con otros componentes debido a sus estructuras flexibles, y al poseer una estructura “complicada” de más de 20 residuos aminoacídicos determinan unos costes de producción e investigación elevados (Carmona-Ribeiro & Araujo, 2021).

A pesar de lo anterior, varios PAM ya están siendo comercializados a nivel mundial (como Capreomicina, Vancomicina, Teicoplanina o Daptomicina, entre otros), y se prevé su aplicación futura para el tratamiento de diferentes enfermedades bacterianas animales y vegetales (Yan et al., 2021).

### METABOLITOS ALGALES

Las algas son seres vivos capaces de sobrevivir en múltiples ecosistemas y condiciones ambientales muy diversas. Debido a esto, no sorprende que en su metabolismo se produzca un conjunto heterogéneo de compuestos, para muchos de los cuales se han identificado actividades antibacterianas que pueden afectar hasta a ciertas cepas resistentes a múltiples fármacos. En su estudio, Bhowmick et al. (2020) describen dentro de estos metabolitos diversos polifenoles, terpenos, polisacáridos, aminoácidos, péptidos, ácidos grasos, lactonas, pigmentos... extraídos de microalgas y macroalgas marinas y de agua dulce. Muchos de ellos presentan actividad antibacteriana de amplio espectro, tanto para bacterias Gram positivas como para Gram negativas.

Además, se ha descrito la compatibilidad entre múltiples moléculas y células humanas, por lo que se destacan como una nueva vía interesante para el descubrimiento de fármacos para tratar la resistencia a los antibióticos (Bhowmick et al., 2020).

### VITAMINA E

En diferentes estudios, la vitamina E y sus derivados sintéticos aportaron resultados prometedores que podrían permitir considerarla un potencial agente antibacteriano (Viault et al., 2021). Han demostrado ser útiles en la administración de fármacos dirigida, mejorando la estabilidad y tiempo de permanencia de estos. También aumentaron la capacidad de penetración en biofilms, aumentando el efecto bactericida. Además, se ha observado que la vitamina E tiene la capacidad de inhibir la función de ciertas bombas de eflujo de antibióticos de las bacterias, y puede mejorar las respuestas inmunitarias del huésped ante una infección. En muchos experimentos, la vitamina E se

combinó con antibióticos sintéticos u otros compuestos antimicrobianos y obtuvo resultados prometedores tanto contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, siendo algunas cepas de estudio multirresistentes a antibióticos (Hartmann et al., 2020).

De todos modos, queda mucho por investigar sobre los mecanismos moleculares por los que actúa, y comprobar sus efectos sobre más especies bacterianas (Viault et al, 2021; Hartmann et al, 2020).

## VACUNAS

Hoy en día ya existen y se comercializan algunas vacunas contra bacterias patógenas, que en vez de ser un método terapéutico contra las infecciones tienen carácter preventivo. Las vacunas dirigidas a uno o más antígenos expresados por las cepas resistentes podrían ser de gran eficacia, pero la variabilidad en los genes que les otorgan resistencia y su facilidad para transferirse a nuevos linajes supone un gran obstáculo. Crear un mayor acceso a las vacunas ya disponibles y las que están por llegar sería una medida muy beneficiosa, no solo porque se reduciría el número de antibióticos consumidos, sino que también frenaría la aparición de cepas resistentes a los tratamientos actuales al generar inmunidad contra la cepa mayoritaria de una especie (Buchy et al., 2020).

## **5. a. Conclusiones**

Muchas de las alternativas a los antibióticos tratadas en este trabajo parecen tener un enorme potencial para el tratamiento de infecciones. La terapia de fagos lleva siendo estudiada muchos años, e incluso en algunos países ha sido empleada para el control microbiológico de alimentos o en clínica. Además, la obtención de enzimas líticas a partir de bacteriófagos para la fabricación de fármacos es una opción que, quizás por su similitud con los antibióticos tradicionales, será más fácil de aceptar. Por otro lado, la mayoría de los

ensayos clínicos con anticuerpos monoclonales se orientan contra el cáncer o enfermedades reumáticas, lo que provoca un poco de demora en el avance de anticuerpos antibacterianos. En cuanto a los péptidos antimicrobianos, tienen que perfeccionarse muchas de sus características, pero nos encontramos con varios que ya están siendo comercializados y otros en fase clínica de estudio (sobre todo sintéticos), por lo que su progreso es muy favorable.

De otras alternativas como los compuestos fitoquímicos, la vitamina E o los metabolitos algales, aún quedan mucha investigación por delante, ya que se desconocen los mecanismos exactos por lo que poseen efectos antimicrobianos.

## **5. b. Conclusións**

Moitas das alternativas aos antibióticos comentadas neste traballo parecen ter un enorme potencial para tratar infeccións. A terapia de fagos estudouse durante moitos anos e nalgúns países ata se empregou para o control microbiolóxico dos alimentos ou en clínica. Ademáis, a obtención de enzimas líticos a partir de bacteriófagos para a fabricación de medicamentos é unha opción que, quizais pola súa similitude cos antibióticos tradicionais, sexa máis doado de aceptar. Por outra banda, a maioría dos ensaios clínicos con anticorpos monoclonais están dirixidos contra o cancro ou enfermidades reumáticas, o que provoca un pequeno atraso no avance dos anticorpos antibacterianos. En canto aos péptidos antimicrobianos, hai que perfeccionar moitas das súas características, pero atopamos varios que xa están comercializándose e outros en fase de estudo clínico (especialmente os sintéticos), polo que o seu progreso é moi favorable.

Doutras alternativas como os compostos fitoquímicos, a vitamina E ou os metabolitos algais, aínda que moita investigación por diante, xa que se descoñecen os mecanismos exactos polos que teñen efectos antimicrobianos.

## **5. c. Conclusions**

Many of the alternatives to antibiotics discussed in this review appear to have enormous potential for the treatment of infections. Phage therapy has been studied for many years, and some countries have used it for microbiological control of food or in the clinic. In addition, obtaining lytic enzymes from bacteriophages for drug production is an option that, perhaps because of its similarity to traditional antibiotics, will be easier to accept. On the other hand, most clinical trials with monoclonal antibodies are focused against cancer or rheumatic diseases, causing some delay in the advancement of antibacterial antibodies. As for antimicrobial peptides, many of their characteristics still need to be perfected, but several are already on the market and others are in clinical trials (mostly synthetic), so progress is very favorable.

For other alternatives such as phytochemicals, vitamin E or algal metabolites, much research remains to be done, as the exact mechanisms by which they exhibit antimicrobial effects are unknown.

## 6. Bibliografía

- Abachi, S., Lee, S., & Rupasinghe, H. P. (2016). Molecular Mechanisms of Inhibition of Streptococcus Species by Phytochemicals. *Molecules*, 21(2). <https://doi.org/10.3390/molecules21020215>
- AlSheikh, H. M. A., Sultan, I., Kumar, V., Rather, I. A., Al-Sheikh, H., Tasleem Jan, A., & Haq, Q. M. R. (2020). Plant-Based Phytochemicals as Possible Alternative to Antibiotics in Combating Bacterial Drug Resistance. *Antibiotics (Basel)*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9080480>
- Alós, J. I. (2015). [Antibiotic resistance: A global crisis]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 33(10), 692-699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004> (Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global.)
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*, 42(1). <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
- Bhowmick, S., Mazumdar, A., Moullick, A., & Adam, V. (2020). Algal metabolites: An inevitable substitute for antibiotics [Review]. *Biotechnology Advances*, 43, 18, Article 107571. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107571>
- Borges, A., Abreu, A. C., Dias, C., Saavedra, M. J., Borges, F., & Simões, M. (2016). New Perspectives on the Use of Phytochemicals as an Emergent Strategy to Control Bacterial Infections Including Biofilms. *Molecules*, 21(7). <https://doi.org/10.3390/molecules21070877>

- Buchy, P., Ascioğlu, S., Buisson, Y., Datta, S., Nissen, M., Tambyah, P. A., & Vong, S. (2020). Impact of vaccines on antimicrobial resistance. *Int J Infect Dis*, *90*, 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.005>
- Carmona-Ribeiro, A. M., & Araujo, P. M. (2021). Antimicrobial Polymer-Based Assemblies: A Review [Review]. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 27, Article 5424. <https://doi.org/10.3390/ijms22115424>
- Chan, B. K., Sstrom, M., Wertz, J. E., Kortright, K. E., Narayan, D., & Turner, P. E. (2016). Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep*, *6*, 26717. <https://doi.org/10.1038/srep26717>
- Dodds, D. R. (2017). Antibiotic resistance: A current epilogue. *Biochem Pharmacol*, *134*, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.005>
- Elbourne, A., Cheeseman, S., Atkin, P., Truong, N. P., Syed, N., Zavabet, A., . . . Truong, V. K. (2020). Antibacterial Liquid Metals: Biofilm Treatment via Magnetic Activation [Article]. *Acs Nano*, *14*(1), 802-817. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b07861>
- Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2019). Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clin Microbiol Rev*, *32*(2). <https://doi.org/10.1128/cmr.00066-18>
- Hartmann, M. S., Mousavi, S., Bereswill, S., & Heimesaat, M. M. (2020). Vitamin E as promising adjunct treatment option in the combat of infectious diseases caused by bacterial including multi-drug resistant pathogens - Results from a comprehensive literature survey. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*, *10*(4), 193-201. <https://doi.org/10.1556/1886.2020.00020>
- Hwang, G., Paula, A. J., Hunter, E. E., Liu, Y., Babeer, A., Karabucak, B., . . . Koo, H. (2019). Catalytic antimicrobial robots for biofilm eradication. *Sci Robot*, *4*(29). <https://doi.org/10.1126/scirobotics.aaw2388>
- Kakasis, A., & Panitsa, G. (2019). Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. *Int J Antimicrob Agents*, *53*(1), 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.09.004>
- Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. S. (2019). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can J Microbiol*, *65*(1), 34-44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>
- Lewies, A., Du Plessis, L. H., & Wentzel, J. F. (2019). Antimicrobial Peptides: the Achilles' Heel of Antibiotic Resistance? *Probiotics Antimicrob Proteins*, *11*(2), 370-381. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9465-0>
- Li, C.-H., Chen, X., Landis, R. F., Geng, Y., Makabenta, J. M., Lemnios, W., . . . Rotello, V. M. (2019). Phytochemical-Based Nanocomposites for the Treatment of Bacterial Biofilms. *Acs Infectious Diseases*, *5*(9), 1590-1596. <https://doi.org/10.1021/acsinfectdis.9b00134>
- Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C. (2017). Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*, *8*(3), 162-173. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
- Luong, H. X., Thanh, T. T., & Tran, T. H. (2020). Antimicrobial peptides - Advances in development of therapeutic applications. *Life Sci*, *260*, 118407. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118407>
- Mc Carlie, S., Boucher, C. E., & Bragg, R. R. (2020). Molecular basis of bacterial disinfectant resistance. *Drug Resist Updat*, *48*, 100672. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.100672>
- McConnell, M. J. (2019). Where are we with monoclonal antibodies for multidrug-resistant infections? *Drug Discov Today*, *24*(5), 1132-1138. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.002>
- Mohr, K. I. (2016). History of Antibiotics Research. *Curr Top Microbiol Immunol*, *398*, 237-272. [https://doi.org/10.1007/82\\_2016\\_499](https://doi.org/10.1007/82_2016_499)
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*, *4*(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

- Muzammil, S., Hayat, S., Fakhar, E. A. M., Aslam, B., Siddique, M. H., Nisar, M. A., . . . Wang, Z. (2018). Nanoantibiotics: Future nanotechnologies to combat antibiotic resistance. *Front Biosci (Elite Ed)*, *10*, 352-374. <https://doi.org/10.2741/e827>
- Reina, J., & Reina, N. (2018). [Phage therapy, an alternative to antibiotic therapy?]. *Rev Esp Quimioter*, *31*(2), 101-104. (Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioticoterapia?)
- Rohde, C., Wittmann, J., & Kutter, E. (2018). Bacteriophages: A Therapy Concept against Multi-Drug-Resistant Bacteria. *Surg Infect (Larchmt)*, *19*(8), 737-744. <https://doi.org/10.1089/sur.2018.184>
- Rossmann, F. S., Laverde, D., Kropec, A., Romero-Saavedra, F., Meyer-Buehn, M., & Huebner, J. (2015). Isolation of highly active monoclonal antibodies against multiresistant gram-positive bacteria. *PLoS One*, *10*(2), e0118405. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118405>
- Sabtu, N., Enoch, D. A., & Brown, N. M. (2015). Antibiotic resistance: what, why, where, when and how? *Br Med Bull*, *116*, 105-113. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldv041>
- Seukep, A. J., Kuete, V., Nahar, L., Sarker, S. D., & Guo, M. (2020). Plant-derived secondary metabolites as the main source of efflux pump inhibitors and methods for identification. *J Pharm Anal*, *10*(4), 277-290. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.11.002>
- Silveira, G., Torres, M. D. T., Ribeiro, C. F. A., Meneguetti, B. T., Carvalho, C. M. E., de la Fuente-Nunez, C., . . . Cardoso, M. H. (2021). Antibiofilm Peptides: Relevant Preclinical Animal Infection Models and Translational Potential [Review]. *Acs Pharmacology & Translational Science*, *4*(1), 55-73. <https://doi.org/10.1021/acsptsci.0c00191>
- Taati Moghadam, M., Amirmozafari, N., Shariati, A., Hallajzadeh, M., Mirkalantari, S., Khoshbayan, A., & Masjedian Jazi, F. (2020). How Phages Overcome the Challenges of Drug Resistant Bacteria in Clinical Infections. *Infect Drug Resist*, *13*, 45-61. <https://doi.org/10.2147/idr.s234353>
- Tran, H. M., Tran, H., Booth, M. A., Fox, K. E., Nguyen, T. H., Tran, N., & Tran, P. A. (2020). Nanomaterials for Treating Bacterial Biofilms on Implantable Medical Devices. *Nanomaterials (Basel)*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/nano10112253>
- Vazquez-Muñoz, R., Meza-Villezcás, A., Fournier, P. G. J., Soria-Castro, E., Juárez-Moreno, K., Gallego-Hernández, A. L., . . . Huerta-Saquero, A. (2019). Enhancement of antibiotics antimicrobial activity due to the silver nanoparticles impact on the cell membrane. *PLoS One*, *14*(11), e0224904.
- Viault, G., Kempf, M., Ville, A., Alsabil, K., Perrot, R., Richomme, P., . . . Seraphin, D. (2021). Semisynthetic Vitamin E Derivatives as Potent Antibacterial Agents against Resistant Gram-Positive Pathogens [Article]. *Chemmedchem*, *16*(5), 881-890. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000792>
- Wang-Lin, S. X., & Balthasar, J. P. (2018). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations for the Use of Monoclonal Antibodies in the Treatment of Bacterial Infections. *Antibodies (Basel)*, *7*(1). <https://doi.org/10.3390/antib7010005>
- Yan, Y., Li, Y., Zhang, Z., Wang, X., Niu, Y., Zhang, S., . . . Ren, C. (2021). Advances of peptides for antibacterial applications. *Colloids Surf B Biointerfaces*, *202*, 111682. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111682>