

Capítulo 1 Antibióticos y nuevas terapias para combatir las enfermedades infecciosas

Chapter 1 Antibiotics and new therapies to face the infectious diseases

GARCÍA-REYES, Melito†¹, CASTRO-ESCARPULLI, Graciela², HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Cesar Hugo², VILLA-GARCÍA, Matilde¹ y MERCADO-FLORES, Yuridia*¹

¹Universidad Politécnica de Pachuca. México.

²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México.

ID 1^{er} Autor: *Melito, García-Reyes* / **ORC ID:** 0000-0001-9779-9581, **CVU CONACYT ID:** 858294

ID 1^{er} Coautor: *Graciela, Castro-Escarpulli* / **ORC ID:** 0000-0002-7496-8247, **CVU CONACYT ID:** 120960

ID 2^{do} Coautor: *Cesar Hugo, Hernández-Rodríguez* / **ORC ID:** 0000-0003-2411-9789, **CVU CONACYT ID:** 9705

ID 3^{er} Coautor: *Matilde, Villa-García* / **ORC ID:** 0000-0002-1115-6612, **CVU CONACYT ID:** 234139

ID 4^{to} Coautor: *Yuridia, Mercado-Flores* / **ORC ID:** 0000-0003-3278-2783, **CVU CONACYT ID:** 122168

M. García, G. Castro, C. Hernández, M. Villa, y Y. Mercado

*anducho@upp.edu.mx

E. Martínez. AA.). Medicina y Ciencias de la Salud TI. Collection-©ECORFAN-Mexico, CDMX, 2019

Abstract

Antibiotics have been our greatest weapons against infectious diseases; their use has represented the lives of millions of people throughout the history. However, the exposure of pathogenic bacteria to antimicrobial agents without proper regulation, coupled with the normal course of evolution, has led to bacteria, gram-negative mainly, the developing complex mechanisms to resist or evade the action of antibiotics. However, the search for new drugs against pathogens has not worked in the last fifty years, and on the other hand, the rise of new super bacteria makes infections difficult to treat and the multiresistance is expanding every time by the world. Given the above, there is an urgent need for new treatments to face the multiresistance. The present work briefly recapitulates the history of antibiotics and introduces the problem of multiresistance, as well as an introduction to new antimicrobial therapies.

Antibióticos, Multirresistencia, Terapias antimicrobianas

Introducción

Los antibióticos son moléculas que pueden inhibir el crecimiento de las bacterias o erradicarlas. Su descubrimiento y producción tubo su auge en la época de 1940-1960, estos fueron obtenidos de manera natural a partir de animales, plantas y microorganismos, siendo las bacterias la principal fuente, más específicamente de las actinobacterias del género *Streptomyces*. Su uso como auxiliares en el tratamiento de las enfermedades infecciosas salvo la vida de millones de personas, sin embargo, su empleo sin una correcta regulación ha ocasionado que las bacterias desarrollaran complejos mecanismos para resistir o evadir su acción. El problema actualmente se conoce como multirresistencia y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, ya es la tercera causa de muerte en el mundo y se estima que para el 2050 será la primera (Bérdy, 2005; Dubourg et al., 2017; WHO, 2017).

El desarrollo o descubrimiento de nuevos compuestos antibacterianos es una línea que no ha dado frutos en los últimos 50 años, por otro lado, el empleo de nuevos compuestos puede sugerir un aumento en el espectro de resistencia de los patógenos. A partir de estas aseveraciones, se desarrollan nuevas terapias para combatir a los patógenos multirresistentes con novedosos mecanismos de acción tratando de minimizar los puntos débiles de los antibióticos. Tal es el caso de las terapias que combinan nuevas herramientas en el campo de la medicina, como la ingeniería genética, y la búsqueda de nuevos blancos en la célula objetivo (Marra, 2004; Bérdy, 2005; Defoirdt, 2018). De este modo se da un breve repaso por el brillante pasado de los antibióticos, su problemático presente, y el futuro optimista de las nuevas terapias antimicrobianas.

Antibióticos

Antecedentes

La historia de los antibióticos se remonta a la mañana del 3 de septiembre de 1928 cuando el profesor Alexander Fleming limpiaba sus cajas Petri las cuales habían sido inoculadas con *Staphylococcus*. En una de ellas observó que un hongo había crecido como contaminación, y alrededor de este se observaba un halo de inhibición del crecimiento, Fleming concluyó que el hongo era capaz de producir una sustancia con la capacidad de inhibir el desarrollo de las bacterias, diez años más tarde se le denominaría Penicilina y al hongo que la produce *Penicillium* (Nikaido, 2009; Aminov, 2010; Goyal et al., 2016). A partir de entonces comenzó la búsqueda y producción de los antibióticos, los cuales han sido la mayor arma contra las enfermedades infecciosas y su uso ha representado la vida de millones de personas a través de la historia (Masurekar, 2009; Butler, 2012; Rahman, 2015).

Sin embargo, la historia de compuestos para combatir las infecciones causadas por microorganismos patógenos ya había tenido sus inicios antes que Fleming descubriera la penicilina, esta tiene como predecesor a las plantas. El estudio de la herbolaria permitió el uso de remedios para tratar distintas enfermedades. Posteriormente Paul Ehrlich sugiere la idea de una “bala mágica” que atacara selectivamente a los microbios causantes de enfermedades y no a los organismos hospederos; esta idea viene de la observación de que ciertos compuestos podían teñir microorganismos de maneras específica; de este modo Ehrlich argumento que se podían sintetizar compuestos químicos con alta especificidad contra los parásitos. Esta idea lo llevó a encontrar la cura de la sífilis en 1904, por la cual en 1908 recibió el premio nobel de fisiología o medicina (Aminov, 2010; The Nobel Prize, 2019).

Por otro lado, pocos conocen el hecho que la primera sustancia que pudo considerarse como un antibiótico fue la llamada Pyocyanase, descubierta y usada por Emmerich y Löw en 1899, producida por *Pseudomonas aeruginosa* (antes conocida como *Bacillus pycyanus*). Tanto la bacteria como sus extractos tenían actividad antimicrobiana contra varias bacterias patógenas y poco tiempo después se descubrió que tales moléculas eran tóxicas para el ser humano, hoy se sabe que son compuestos de quorum sensing (2-alquil-4-quinolona), el cual es un proceso de que les permite a estos microorganismos coordinar su comportamiento con base a su densidad poblacional (Waters y Bassler, 2005; Aminov, 2010).

¿Qué es un antibiótico?

Uno de los grandes pioneros en el tema de los antibióticos fue Waksman, quien además de descubrir la estreptomocina en 1944, un poco antes, en 1941, describe a los antibióticos como "sustancias químicas provenientes de microorganismos con la capacidad de inhibir el crecimiento e incluso causar la muerte de otros microorganismos en una solución". El día de hoy conocemos a los antibióticos como sustancias con la capacidad de inhibir el crecimiento de las bacterias (bacteriostáticos) o erradicarlas (bactericidas) (Bérdy, 2005; Davies, 2006; Masurekar, 2009; Najafpour, 2015; Rahman et al., 2015). Esta definición puede variar entre autores sin embargo se conserva la esencia.

Clasificación

Existen varias maneras de clasificar a los antibióticos, entre ellas se tiene: por su origen, su composición y su modo de interactuar con el patógeno (Figura 1) (Bérdy, 2005; Tenover, 2006; Najafpour, 2015). Dentro de este último se describen a continuación cada uno de ellos:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular

Los antibióticos del tipo β -lactámicos como la penicilina y la cefalosporina (entre otros), inactivan a las enzimas que son responsables de la formación de la peptidoglucano en la pared celular de las bacterias (Ghuysen, 1991; Tenover, 2006; Masurekar, 2009; Rice, 2012).

2. Inhibición de la síntesis de proteínas

El mecanismo de acción de los antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas es por su unión a los ribosomas, impidiendo que éstos realicen su función. Por ejemplo, las Oxazolidinonas, son un tipo de antibiótico de última generación que interactúan con el sitio A del ribosoma bacteriano interfiriendo con la colocación del aminoacil-tARN (Leach et al., 2007). Las tetraciclinas y los aminoglucósidos se unen a la subunidad 30S, en el caso de las primeras debilitan la interacción ribosoma-tARN y los segundos inhiben el inicio de la síntesis de proteínas. Por otro lado, los macrólidos y el cloranfenicol se unen a la subunidad 50S inhibiendo la elongación de las cadenas polipeptídicas y bloqueando la reacción de la peptidiltransferasa respectivamente (Tenover, 2006; Shaikh et al., 2015; Masurekar, 2009).

3. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

La rifampicina inhibe la síntesis del RNA bacteriano, debido a que se une a la subunidad beta de la RNA polimerasa. Las quinolonas actúan inhibiendo las enzimas topoisomerasa II, DNA girasa y a la topoisomerasa IV durante el ciclo de replicación, causando la ruptura de la doble hélice de DNA. Las flouroquinolonas pueden inhibir la replicación y la transcripción de ADN bacteriano, inactivando, ya sea a la ADN girasa o a la topoisomerasa II (Strohl, 1997; Tenover, 2006; Masurekar, 2009; Yadav y Talwar, 2019).

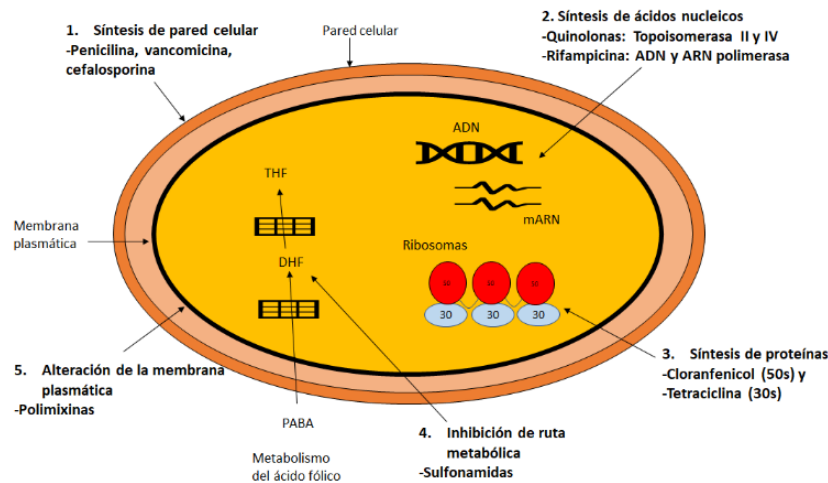
4. Inhibición de una ruta metabólica

Las sulfonamidas como el sulfametoxazol, así como, la trimetoprim bloquean el paso clave en la síntesis del ácido fólico. Las sulfonamidas son análogos de ácido p-aminobenzoico, (PABA) debido a esto actúa como un antagonista competitivo en la célula microbiana. Los microorganismos necesitan PABA para formar ácido dihidrofólico, un precursor del ácido fólico; que a su vez este compuesto es requerido para la síntesis de purina y pirimidina, por lo tanto, afecta la síntesis de ácidos nucleicos (Strohl, 1997; Tenover, 2006; Maddison et al., 2008).

5. Alteración de la membrana celular

El sitio primario de acción de los antibióticos en bacterias Gram positivas es la membrana citoplasmática o la membrana interna en las bacterias Gram negativas, aumentando la permeabilidad de las mismas provocando una fuga del contenido citoplasmático. El lipopéptido daptomicina cíclico muestra una actividad bactericida rápida uniéndose a la membrana citoplasmática en donde se oligomeriza, un proceso dependiente del calcio, que conduce a un flujo de salida de potasio y la muerte celular (Straus y Hancock 2006; Tenover, 2006).

Figura 1 Representación esquemática de la clasificación de los antibióticos con base a su interacción con la célula objetivo



Fuente: Tomada y adaptada de Neu, 1992

Fuentes

Otra manera de clasificar a los antibióticos es por su origen; los naturales son aquellos obtenidos a partir de animales, plantas y microorganismos; el ejemplo por excelencia es la penicilina obtenida del hongo *Penicillium*. Los semisintéticos como la ampicilina, son de origen natural pero modificados químicamente, esto con el fin de aumentar su espectro de actividad y potencia. Finalmente, los sintéticos, son aquellos obtenidos por síntesis química, un ejemplo de ellos son las sulfonamidas (Masurekar, 2009). Los antibióticos de origen natural son los de mayor importancia comercial.

También de esta fuente se han obtenido los activos más representativos contra patógenos de humanos, tales como estreptomycin, anfotericina B y carbapenem, todos ellos metabolitos de origen microbiano (Dubourg et al., 2017), más específicamente de las actinobacterias (Tabla 1) quienes aportan el 70% de total de los compuestos antimicrobianos actuales (Watve et al., 2001; Bentley et al., 2002).

Las actinobacterias como principal fuente de antibióticos

Las actinobacterias o actinomicetos son organismos gram positivos que pueden formar esporas y muestran dos tipos de micelio: aéreo y vegetativo. Se caracterizan por un alto contenido de guanina y citosina en su ADN y están ampliamente distribuidas en suelo y agua donde participan en procesos de degradación de la materia orgánica ya que son capaces de utilizar una amplia variedad de sustratos para su desarrollo. Así también los actinomicetos muestran una enorme diversidad en términos de morfología, fisiología y características metabólicas (Embley et al., 1994; Stach y Bull, 2005; Ventura et al., 2007; Gao y Gupta, 2012; Chaudhary et al., 2013; Barka et al., 2016).

Tabla 1 Principales antibióticos de origen natural producidos por microorganismos

| Antibiótico | Fuente |
|--------------------------------------|--|
| Aminoglucósidos | |
| Kanamicina | <i>Streptomyces kanamycetius</i> |
| Gentamicina | <i>Micromonospora purpurea</i> |
| Trobramicina | <i>Streptomyces tenebrarius</i> |
| Sisomicina | <i>Micromonospora inyoensis</i> |
| Natamicina | <i>Streptomyces natalensis</i> |
| Neomicina | <i>Streptomyces fradiae</i> |
| Estreptomicina | <i>Streptomyces griseus</i> |
| Macrólidos | |
| Josamicina | <i>Streptomyces narbonensis var. Josamyceticus</i> |
| Midecamicina | <i>Streptomyces mycarofaciens</i> |
| Espiramicina | <i>Streptomyces ambofaciens</i> |
| Eritromicina | <i>Saccharopolyspora erythraea</i> |
| | <i>Streptomyces erythreus</i> |
| β-lactámicos | |
| Penicilina | <i>Penicillium chrysogenum</i> |
| Cefalosporina | <i>Cephalosporium acremonium</i> |
| Cabapenam | <i>Streptomyces cattleya</i> |
| Glucopéptidos | |
| Vancomicina | <i>Streptomyces orientalis</i> |
| Teicoplanina | <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> |
| Otros | |
| Cloranfenicol | <i>Streptomyces venezuelae</i> |
| Nistatina | <i>Streptomyces noursei</i> |
| Daptomicina | <i>Streptomyces roseosporus</i> |
| Anfotericina B | <i>Streptomyces nodosus</i> |
| Tetraciclinas | <i>Streptomyces roimosus</i> |
| | <i>Streptomyces aureofaciens</i> |
| Pristinamicina | <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> |
| Lincomicina | <i>Streptomyces lincolnensis</i> |
| Fosfomicina | <i>Streptomyces fradiae</i> |
| Rifampicina | <i>Amycolatopsis mediterranei</i> |

Fuente: Tomada de Dubourg et al., 2017.

Algunas cepas tienen la capacidad de producir compuestos de melanina, que son pigmentos oscuros cuya función es proteger a la bacteria de la radiación UV y son de gran interés para las industrias farmacéutica, cosmética, entre otras (Zenova, 1965; Williams y Cross, 1971; Arai y Mikami, 1972; Romero-Martínez et al., 2000; Amal et al., 2011; Quadri y Asgar, 2012; Chaudhary et al., 2013).

Las actinobacterias producen gran cantidad de metabolitos tanto primarios (por ejemplo, polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y/o grasos, enzimas), como metabolitos secundarios. Estos últimos son compuestos de bajo peso molecular con estructuras complejas y que al parecer no cumplen con alguna función específica dentro del ciclo de vida de la bacteria (Bérdy, 2005; Berman, 2012; Dasari et al., 2012; Manivasagan et al., 2014).

El género *Streptomyces*

Los miembros del género *Streptomyces* poseen un genoma inusualmente largo para una bacteria (Chaudhary et al., 2013), por ejemplo, en la enterobacteria *Escherichia coli* K-12 su genoma comprende 4.6 millones de pares de bases (mpb) con 4400 genes putativos, mientras que para *Streptomyces coelicolor* A3(2), la cepa de las actinobacterias más estudiada, posee más de 8.66 mpb en su ADN con más de 7800 genes putativos que incluyen más de 20 grupos que codifican metabolitos secundarios conocidos o potenciales (Bentley et al., 2002; Solecka et al., 2012).

Por estas razones los caldos de fermentación de *Streptomyces* son una fuente rica de enzimas y metabolitos secundarios de interés industrial (Solecka et al., 2012), estos últimos han mostrado un amplio espectro de actividades entre las que destacan antifúngica, antiviral, antitumoral, anti-hipertensiva, inmunosupresora, y especialmente, actividad contra bacterias patógenas (Innes y Allan, 2001; Bentley et al., 2002; Masurekar, 2009; de Lima Procópio et al., 2012; Chaudhary et al., 2013). De hecho, a este género se le atribuye la producción de dos terceras partes del total de los antibióticos actuales en el mercado (Tabla 1); otras actinobacterias también son productoras de antibióticos, solo que en menor proporción como *Saccharopolyspora*, *Amycolatopsis*, *Micromonospora* y *Actinoplanes* (Solecka et al., 2012; Hug et al., 2018).

En un principio, gracias al descubrimiento de la penicilina y griseofulvina, la búsqueda de compuestos antimicrobianos estaba centrada en los hongos filamentosos y en menor atención en las bacterias por el descubrimiento de la gramicidina, no obstante, con el advenimiento de la estreptomina, cloranfenicol, tetraciclinas y macrólidos (en ese orden) el foco de atención se ha centrado en *Streptomyces* (Bérdy, 2005).

Sin embargo, la sobre exposición de los antibióticos a las bacterias sin un control, trajo como consecuencia que los patógenos, gram negativos principalmente desarrollaran complejos mecanismos para resistir la acción de los compuestos destinados a destruirlas. (Zilahi et al., 2016; Dubourg et al., 2017).

Multirresistencia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la multirresistencia o resistencia a los antimicrobianos (AMR) es la capacidad que tienen las bacterias para evitar que un antibiótico actúe en su contra (WHO, 2019). Actualmente los organismos multirresistentes son la tercera causa de muerte en el mundo y se estima que para el 2050 serán la primera (Nikaido, 2009; WHO, 2017). Esta habilidad puede ser inherente o adquirida. La primera es cuando se da de manera natural en los microorganismos, por ejemplo, la resistencia de los gram positivos a la colistina o la de las enterobacterias a los glucopéptidos (Cox y Wright, 2013; MacGowan y Macnaughton, 2017). La resistencia adquirida ocurre cuando las bacterias que son naturalmente susceptibles a los antibióticos obtienen genes que codifican algún mecanismo de resistencia, ya sea por mutación o por transferencia de material genético de otras bacterias ya sea de la misma especie o diferente (Van Hoek et al., 2011; MacGowan y Macnaughton, 2017).

Los genes de resistencia están presentes en elementos móviles como plásmidos o transposones, los cuales son transferidos por conjugación (contacto directo célula-célula), transformación (captación de fragmentos de ADN del medio) y transducción (transferencia de ADN bacteriano por medio de un bacteriófago) (MacGowan y Macnaughton, 2017). El principal mecanismo de dispersión de la multirresistencia es la transferencia horizontal de genes, por ejemplo, la enzima CTX-M-15, una β -lactamasa de espectro extendido, inicialmente encontrada en *E. coli*, ahora está presente en la mayoría de los miembros de las enterobacterias (Bush y Fisher, 2010; Van Hoek et al., 2011; Woodford et al., 2011).

Las bacterias multirresistentes utilizan diferentes mecanismos enzimáticos para resistir o evadir la acción de los antibióticos, estos pueden clasificarse de la siguiente manera:

Hidrólisis: Muchos antibióticos poseen en su estructura uniones amida o ésteres, los cuales son susceptibles a la hidrólisis. Por ejemplo, las enzimas β -lactamasas pueden romper el enlace amida en el anillo de los β -lactámicos, haciendo que estos sean inofensivos para las bacterias (Bonnet, 2004; Shaikh et al., 2015).

Procesos redox: algunos tipos de bacterias usan este mecanismo para la oxidación o reducción de los antibióticos y de este modo inactivarlos. Un ejemplo de este proceso es la oxidación de la tetraciclina por la enzima TetX. *Streptomyces virginiae* puede reducir el grupo cetona a alcohol en la posición 16 de su propio antibiótico virginamicina M1, de este modo se protege a sí misma de su metabolito (Shaikh et al., 2015; Yang et al., 2004).

Transferencia de un grupo: Las transferasas son el grupo de enzimas más diverso con la capacidad de inactivar los antibióticos tales como aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptogramina, macrólidos o rifampicina. Las transferasas colocan un grupo adenilil, fosforil o acetil en los extremos de la molécula de antibiótico, debilitando o evitando su unión a la molécula objetivo. Todas estas reacciones requieren cofactores como ATP, acetil-CoA, NAD⁺, UDP-glucosa o glutatión (Shaikh et al., 2015).

Modificación del objetivo: La modificación del sitio donde se une el antibiótico es de los mecanismos más importantes usados por las bacterias, de este modo se pierde la afinidad. Estos cambios son llevados a cabo por procesos de mutación con el fin de reducir la efectividad del antibiótico, mientras tanto la célula continúa con su actividad normal (Shaikh et al., 2015; Spratt, 1994). Por ejemplo, la resistencia a la rifampicina y fluoroquinolonas es debida a mutaciones en los genes que codifican para la subunidad *RpoB* de la ARN polimerasa y de la ADN-topoisomerasa (Ruiz, 2003; Rodríguez-Rojas et al., 2013; Shaikh et al., 2015).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2017), la resistencia de organismos patógenos a los antibióticos de amplio espectro ha llegado a convertirse en un problema a nivel mundial con serias consecuencias en el tratamiento de enfermedades infecciosas y en el 2015 se da a conocer una clasificación de patógenos de acuerdo a la prioridad para combatirlos a nivel mundial mediante la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos. La clasificación se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2 Clasificación de los organismos patógenos con base al grado de resistencia a los antibióticos según la Organización Mundial de la Salud

| | |
|----------------------|--|
| Prioridad 1: crítica | <i>Acinetobacter</i> , resistente a carbapenem |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , resistente a carbapenem |
| | *Enterobacterias, resistentes a carbapenem y cefalosporina de 3era. generación |
| Prioridad 2: alta | <i>Enterococcus faecium</i> , resistente a vancomicina |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> , resistente a meticilina, a vancomicina |
| | <i>Helicobacter pylori</i> , resistente a laritromicina |
| | <i>Campylobacter</i> , resistente a fluoroquinolona |
| | <i>Salmonella</i> spp., resistente a fluoroquinolona |
| | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , resistente a cefalosporina de 3era. generación y a fluoroquinolona |
| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> , no susceptible a penicilina |
| Prioridad 3: Media | <i>Hemophilus influenzae</i> , resistente a ampicilina |
| | <i>Shigella</i> spp., resistente a fluoroquinolona |
| | *Enterobacterias incluye: <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp. y <i>Morganella</i> spp. |

Fuente: Tomada de WHO, 2017

Los patógenos multirresistentes se han convertido en un grave problema a nivel mundial, cada vez son más difíciles de tratar y las muertes relacionadas con este tema han ido en aumento en los últimos años. Por ejemplo, en EE. UU se han reportado 22 000 decesos por año y 25 000 en Europa, de las cuales en Francia se han documentado 12 500 (CDC, 2013; Rodríguez-Noriega et al., 2013; Bell et al., 2014; ECDC, 2015; Littmann et al., 2015; MacGowan y Macnaughton, 2017).

En México, de acuerdo con la Secretaría de Salud (2016), datos publicados por la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) en su informe del 2015, indica que el mayor porcentaje de infecciones reportadas pertenecen a bacteriemias y neumonías, las cuales se han incrementado desde el último año de reporte, esto repercute en altos índices de morbilidad y mortalidad que diezman tanto los años de vida como la economía del mexicano (Secretaría de Salud, 2016). Entre los principales patógenos que afectan a nuestro país se encuentran: *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae* (Secretaría de Salud, 2016).

Los patógenos mencionados anteriormente tienen una alta incidencia en pacientes en terapia intensiva, con heridas superficiales, trasplantes, personas con catéter o conectadas a un ventilador, o con cirugía previa, además de adultos mayores e individuos neonatos; es decir, pacientes inmunocomprometidos ya que son patógenos que atacan de manera oportunista (CDC, 2013; Secretaría de Salud, 2016; Martin y Bachman, 2018). Con la creciente extensión de la multirresistencia, es imperativo el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas (Peters et al., 2010).

Nuevas terapias antimicrobianas

Terapia fotodinámica

La terapia fotodinámica emplea colorantes no tóxicos llamados fotosensibilizadores y luz visible de baja intensidad que en presencia de oxígeno producen especies citotóxicas (Zeina et al., 2001; Hamblin y Hasan, 2004). Mientras la terapia fotodinámica ha sido aceptada abiertamente en el tratamiento contra el cáncer, en el campo de la resistencia a los antimicrobianos no es del todo apreciada (Phoenix et al., 2014). La excitación por la absorción de la luz a una determinada longitud de onda y en presencia del oxígeno convierte al sensibilizador en su forma triple activa, la cual a su vez reacciona con un sustrato local (reacción tipo I) para formar radicales citotóxicos o con oxígeno molecular (reacción tipo II) para producir oxígeno singlete citotóxico (O_2). Las especies reactivas de oxígeno generado resultan en muerte celular del objetivo (Zeina et al., 2001; Phoenix et al., 2014).

Como ventajas esta su doble selectividad, primero el fotosensibilizador puede tener como objetivo una célula o un tejido, y segundo, la luz puede ser dirigida directamente a la lesión. Sin embargo, también tiene desventajas, por ejemplo, que no existen muchos estudios en modelos de animales o pacientes. Adicional a esto se sabe que la terapia funciona contra bacterias gram positivas, micoplasma, virus, hongos y levaduras, sin embargo, las bacterias gram negativas son resistentes a la mayoría de los fotosensibilizadores que usualmente se emplean y que causarían fácilmente citotoxicidad, por lo que se ha sugerido que para aumentar su eficacia, una opción es el uso de agentes que incrementan la permeabilidad de la membrana acoplados al fotosensibilizador (Malik et al., 1992; Hamblin y Hasan, 2004; Huang et al., 2010; Rajesh et al., 2011; Dai et al., 2012).

Un ejemplo de esta terapia aplicada es el estudio de Nitzan y Ashkenazi (2001), que usando el fotosensibilizador catiónico 5, 10, 15, 20 tetra (4methylpyridyl) porphine tetratosylate (TMPyP) a una concentración de $3.7 \mu\text{mol/L}$ y una iluminación con luz azul a 400-450 nm, se logró la erradicación total de las bacterias *Acinetobacter baumannii* y *E. coli* resistentes a múltiples fármacos. Un análisis de microscopía de transmisión por electrones mostró que *E. coli* sufrió cambios estructurales y daño en la membrana; mientras que en *A. baumannii*, se podían apreciar mesosomas y puntos negros que se asemejaban a la agregación de polímeros de polifosfato.

Terapia de fagos

Antes del descubrimiento y globalización de los antibióticos, se sugirió que las infecciones bacterianas podrían ser prevenidas y/o tratadas por la administración de bacteriófagos; sin embargo, como este movimiento se dio en países de habla no inglesa, esta terapia no fue tan conocida como otros agentes (Sulakvelidze et al., 2001)

Los bacteriófagos o simplemente fagos, son virus de bacterias que pueden atacar selectivamente a sus objetivos. (Kutateladze y Adamia, 2010). Por su ciclo de vida pueden ser líticos o lisogénicos, los primero se reproducen dentro de la bacteria y la lisan produciendo hasta 200 descendientes, a diferencia de los lisogénicos, que se mantienen dentro de su hospedero integrando su genoma en el bacteriano y bajo ciertas condiciones provocan la lisis celular (Carlton, 1999).

Algunas ventajas de los fagos sobre los antibióticos son; son abundantes en el planeta, además de ser los enemigos naturales de las bacterias. Tienen mayor especificidad que los antibióticos, ya que pueden atacar una sola especie de bacterias. A diferencia de los antibióticos que, con el uso prolongado, el paciente puede ser afectado; los fagos, a través de la historia no se ha demostrado efectos secundarios. Finalmente, la habilidad de los fagos de multiplicarse en presencia de un hospedero les da la capacidad de auto-regularse, manteniendo una concentración activa mientras las bacterias objetivo estén presentes (Kutateladze y Adamia, 2010).

Dentro de las desventajas que presentan son; su alta especificidad representa al mismo tiempo una desventaja. Se han encontrado números contaminantes en las células lisadas, incluyendo toxinas. Las preparaciones comerciales de fagos vienen con compuestos que deben garantizar su estabilidad, estos dada su naturaleza pueden sugerir una inactivación del mismo.

El hecho de no diferenciar entre fagos líticos y lisogénicos ha llevado a que muchos estudios se hayan realizado con estos últimos los cuales son menos efectivos que los primeros. El no hacer uso de un control de placebo en estudios clínicos deja a la terapia con poca credibilidad (Sulakvelidze et al., 2001). Un estudio demostró que fagos modificados genéticamente (no replicativos y no líticos) eliminaron a *P. aeruginosa* en estudios *in vitro*; y en un modelo de ratón redujeron el índice de mortalidad (Hagens et al., 2004).

Un caso de éxito de la terapia de fagos es el estudio reportado por Jault et al., (2019), quienes lograron reducir la carga bacteriana en pacientes con quemaduras infectadas con *P. aeruginosa*, con un coctel de 12 fagos líticos anti- *Pseudomonas* a una concentración de 1×10^6 UFP/mL; un punto importante a resaltar es que el éxito de la terapia fue independiente del uso de antibióticos. La mayor ventaja de la terapia con fagos ha sido una potencial alternativa para la solución de la multirresistencia y las limitadas opciones de tratamiento, por lo que es de creciente interés con prometedores resultados (Górski et al., 2018). Sin embargo, tiene un gran enemigo a vencer, que es los sistemas CRISPR que en asociación de las proteínas Cas, constituyen el sistema inmune bacteriano contra ácidos nucleicos extraños (Barrangou et al., 2007; Deveau et al., 2010; Makarova et al., 2015; Laanto et al., 2017).

Eventualmente las bacterias generaran resistencia a los fagos del mismo modo que lo han hecho a los antibióticos y del mismo modo que lo harán a todas las terapias antimicrobianas, es parte de la evolución; no obstante, se ha sugerido que la combinación de dos terapias, en este caso antibióticos y fagos, tiene menos probabilidades de generar este problema (Carlton, 1999; Torres-Barceló, 2018).

Péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos (AMPs) son oligopéptidos que varían en el número de aminoácidos y en su estructura. Pueden ir desde 5 hasta más de 100, poseen carga positiva y son moléculas anfipáticas (Peters et al., 2010; Bahar y Ren, 2013). Estos pueden ser obtenidos de fuentes como bacterias, protozoos, hongos, plantas y animales. Por ejemplo, la piel de la rana ha sido la fuente de diferentes AMPs, algunos de ellos con amplio espectro de actividad contra bacterias patógenas (Conlon y Sonnevend, 2010; Ma et al., 2010; Bahar y Ren, 2013).

A diferencia de los antibióticos que tienen objetivos primarios específicos como la pared celular, la síntesis de los ácidos nucleicos, etc., el sitio primario de acción de los AMPs es la membrana, al poseer cargas opuestas forman una unión electrostática de atracción entre la carga catiónica del péptido y la aniónica de componentes de la membrana, tal es el caso de los grupos fosfatos contenidos en los lipopolisacáridos en bacterias gram negativas, o el ácido lipoteicoico presente en la superficie de las bacterias gram positivas (Jenssen et al., 2006; Bahar y Ren, 2013); aunque también es bien sabido que algunos pueden atravesar la membrana e interactuar con objetivos internos (Hancock y Rozek, 2002; Jenssen et al., 2006).

Un punto a favor es el hecho que los AMPs pueden reducir la respuesta inflamatoria del sistema inmune, esto debido a que en los mamíferos los lipopolisacáridos desprendidos de las bacterias pueden inducir la producción de AMPs a diferencia de los antibióticos que no poseen tal propiedad y propician la liberación de los lipopolisacáridos (Schauber, y Gallo, 2008; Bahar y Ren, 2013).

Debido a que los AMPs son secuencias de aminoácidos, estos pueden ser sintetizados por métodos químicos o usando sistemas de expresión recombinantes (Piers et al., 1993; Wade et al., 2012), los cuales pueden ser construidos con una alta especificidad. Un ejemplo es un estudio que demuestra la actividad antibacteriana del péptido AMP2041 sintetizado *in vitro* contra *P. aeruginosa* resistente a múltiples fármacos y aislada de un paciente con fibrosis quística; el efecto es atribuido a que el péptido aumenta la permeabilidad de la membrana plasmática (Cabassi et al., 2017).

Así también, se ha demostrado el efecto positivo del péptido SET-M33 contra bacterias gram negativas aisladas de ambientes clínicos y que mostraron un amplio espectro de resistencia a los antibióticos. El péptido logra erradicar a las bacterias a concentraciones de 0.3 a 3 μ M por una interacción primaria con los polisacáridos. Posteriormente un estudio de microscopía electrónica reveló la formación de burbujas, aglomerados, y cráteres profundos en la membrana de los patógenos *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*; en *A. baumannii* evitó la liberación de TNF- α (factor de necrosis tumoral) de los macrófagos activados por los LPS (Pini et al., 2010; van der Weide et al., 2017).

La resistencia a los AMPs por parte de las bacterias gram negativas es menos probable que a los antibióticos; sin embargo, algunos patógenos han desarrollado enzimas que modifican la carga neta de su membrana como mecanismo de defensa, o por la secreción de proteínas con la capacidad de desactivarlos, así como la expulsión de ellos vía bombas de eflujo (Peters et al., 2010). Por otro lado, la sinergia entre antibióticos y AMPs ha mostrado ser una opción que podría ser explorada y ayudaría con el problema de la multiresistencia (Naghmouchi et al., 2012).

Terapia anti-virulencia

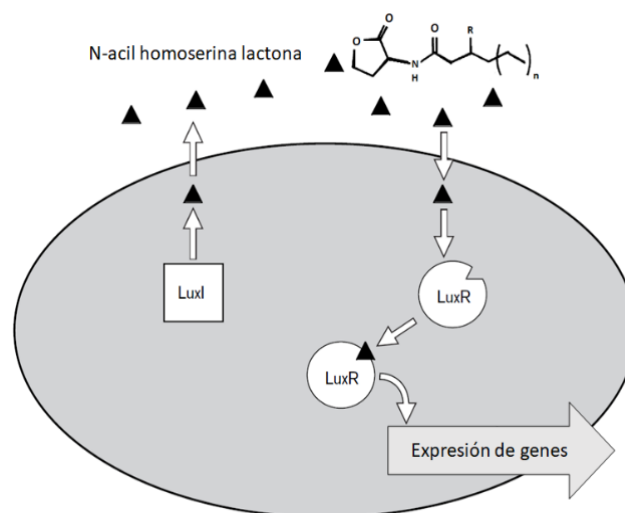
Dado el problema de la expansión de la multiresistencia y el fracaso en desarrollar y/o descubrir nuevos antibióticos en los últimos 50 años, existe una necesidad urgente de nuevos tratamientos antimicrobianos (Marra, 2004). Una opción que ha recibido creciente interés en los últimos años es aquella que tiene como objetivo “desarmar” al patógeno, es decir, prevenir que exprese sus factores de virulencia y con ello evitar el daño al hospedero, esta opción se conoce como terapia anti-virulencia y constituye una importante estrategia para el control de enfermedades causadas por bacterias (Clatworthy et al., 2007; Cegelski et al., 2008; Cross, 2008; Rasko y Sperandio, 2010; Defoirdt, 2013; Ruer et al., 2015; Defoirdt, 2018).

La terapia anti-virulencia a diferencia de erradicar o detener totalmente a la bacteria como lo hacen la mayoría de los antibióticos y las demás terapias, tiene como objetivo inhibir funciones específicas del patógeno y que son de vital importancia en el desarrollo de la infección. De este modo al inhibir la virulencia en lugar del crecimiento supone una presión selectiva menor para el desarrollo de la resistencia (Clatworthy et al., 2007). Sus objetivos incluyen a la adherencia, la secreción de toxinas, la adquisición de hierro, la motilidad, los sistemas de secreción, la formación de la biopelícula y la protección contra la respuesta inmune del hospedero (Defoirdt, 2013; Ruer et al., 2015).

La expresión de los factores de virulencia es un proceso metabólicamente costoso, debido a esto el proceso se encuentra fuertemente controlado por un complejo regulatorio. Se ha descubierto que una llave que opera para tal fin es la comunicación célula-célula o quorum sensing (QS) (LaSarre y Federle, 2013; Jiang et al., 2019).

La comunicación celular la emplean las bacterias para iniciar una respuesta coordinada de una población y se basa en la secreción de pequeñas moléculas químicas señalizadoras denominadas autoinductores, estas pueden ser acil homoserina lactonas (Figura 2), péptidos y el llamado autoinductor 2 (Waters y Bassler, 2005; LaSarre y Federle, 2013). Este proceso permite a la población monitorear el ambiente y cambiar el comportamiento en respuesta a cambios en el número de individuos presentes en la comunidad (Waters y Bassler, 2005; Jiang et al., 2019).

Figura 2 Quorum sensing sistema *LuxI-LuxR* presente en *P. aeruginosa* y cuyo autoinductor son moléculas de N-acil homoserina lactone



Fuente: Tomado y adaptado de Bassler, 1999

Los patógenos bacterianos usan el QS para regular la expresión de genes que promueven la invasión, la defensa y la dispersión (LaSarre y Federle, 2013). De manera adicional, el QS puede contribuir a comportamientos que habilitan a la bacteria de resistir a los compuestos antimicrobianos, tales como la formación de la biopelícula; ahora, si se pudiera bloquear este lenguaje coordinado, se ha teorizado que estos organismos patógenos perderían la habilidad para coordinarse en un ataque contra la respuesta inmune del hospedero o perderían la capacidad de formar estructuras que promuevan la patogénesis, como las biopelículas (LaSarre y Federle, 2013).

De este modo las estrategias para inhibir el QS involucran a la inactivación del receptor, inhibición de la síntesis de la molécula señal, la degradación de la molécula señal, el bloqueo de la molécula autoinductor por algún anticuerpo, y su uso combinado con antibióticos (Jiang et al., 2019). Ejemplos de estos es un estudio que muestra el efecto de una furanona halogenada que interfiere con el QS de *P. aeruginosa* (sistema *las*) penetrando la biopelícula y afectando por consecuencia el proceso de maduración de la misma; del mismo modo se ha demostrado que el mismo compuesto puede interferir con la transcripción del sistema *lasB-gfp* regulada por QS reduciendo la expresión de la actividad elastasa y quitinasa extracelular (Hentzer et al., 2002). Así también en el estudio de Annapoorani et al., (2012), lograron inhibir el QS (acil homoserina lactonas) de un aislado clínico de *Serratia marcescens* PSI con extractos metanólicos de esponjas marinas y con ello se afectaron los factores de virulencia como enzimas proteolíticas, hemolisinas y la formación de la biopelícula (Annapoorani et al., 2012).

Conclusiones

Los antibióticos son compuestos producidos de manera biológica o sintética y son utilizados para combatir las enfermedades infecciosas que a lo largo de la historia han ocasionado millones de muertes a nivel mundial. No obstante, su uso indiscriminado ha permitido la selección de cepas microbianas multirresistentes, complicando el manejo de las enfermedades que ocasionan. Esta problemática ha motivado la realización de numerosas investigaciones para comprender los fundamentos de la multirresistencia, dando la pauta a la búsqueda de nuevas terapias con resultados alentadores que requieren ser probados en modelo animal y en humanos, tal es el caso, de la terapia fotodinámica que se basa en el uso de compuestos fotosensibles que a baja intensidad de luz visible genera especies citotóxicas con resultados positivos en cepas bacterianas multirresistentes de *A. baumannii* y *E. coli*. La utilización de fagos como enemigos naturales de las bacterias, puede ser prometedora debido a su alta especificidad y nulo efecto en el paciente, sin embargo, se requiere de más estudios para que esta terapia sea efectiva. Los péptidos antimicrobianos han sido muy estudiados y se sabe de la baja probabilidad que tienen de generar resistencia, así que se ha propuesto su uso en combinación con los antibióticos. Por último, la terapia anti-virulencia, recientemente ha cobrado importancia, la cual se basa en evitar que los patógenos expresen sus factores de virulencia, evitando así el proceso de infección.

Referencias

- Amal, A. M., Abeer, K. A., Samia, H. M., Nadia, A. E.-N. H., Ahmed, K. A. y El-Hennawi, H. M. (2011). Selection of pigment (melanin) production in *Streptomyces* and their application in printing and dyeing of wool fabrics. *Research Journal of Chemical Sciences*, 1(5), 22–28.
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1, 134.
- Annapoorani, A., Jabbar, A. K. K. A., Musthafa, S. K. S., Pandian, S. K. y Ravi, A. V. (2012). Inhibition of Quorum Sensing Mediated Virulence Factors Production in Urinary Pathogen *Serratia marcescens* PS1 by Marine Sponges. *Indian Journal of Microbiology*, 52(2), 160–166.
- Arai, T. y Mikami, Y. (1972). Chromogenicity of *Streptomyces*. *Applied microbiology*, 23(2), 402–406.
- Bahar, A. A. y Ren, D. (2013). Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 6(12), 1543–1575.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, Y. O. y van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43.

- Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D. A. y Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315(5819), 1709–1712.
- Bassler, B. L. (1999). How bacteria talk to each other: Regulation of gene expression by quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 582-587.
- Bell, B., Schellevis, F., Stobberingh, E., Goossens, H., y Pringle, M. (2014). A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infectious Diseases*, 14, 13.
- Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdeño-Tárraga, A.-M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D., Harris, D. E., Quail, M. A., Keiser, H., Harper, D., Bateman, A., Brown, S., Chandra, G., Chen, C. W., Collins, M., Cronin, A., Fraser, A., Goble, A., Hidalgo, J., Hornsby, T., Howarth, S., Huang, C. -H., Keiser, T., Larke, L., Murphy, L., Oliver, K., O’Neil, S., Rabinowitsch, E., Rajandream, M. -A., Rutherford, K., Rutter, S., Seeger, K., Saunders, D., Sharp, S., Squares, R., Squares, S., Taylor, K., Warren, T., Wietzorrek, A., Woodward, J., Barrell, B. G., Parkhill, J. y Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417(6885), 141–7.
- Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites: A personal view. *Journal of Antibiotics*, 58(1), 1-26.
- Berman, J. J. (2012). Chapter 14 - Actinobacteria. En: Berman, J. J. (Ed.), *Taxonomic Guide to Infectious Diseases*. 77-84.
- Bonnet, R. (2004). Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: The CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), 1-14.
- Bush, K. y Fisher, J. F. (2010). Epidemiological Expansion, Structural Studies, and Clinical Challenges of New β -Lactamases from Gram-Negative Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 65(1), 455–478.
- Butler C. C. (2012). Antibiotics: Responding to a Global Challenge. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 1(1), 14–16.
- Cabassi, C. S., Sala, A., Santospirito, D., Alborali, G. L., Carretto, E., Ghibaud, G. y Taddei, S. (2017). Activity of AMP2041 against human and animal multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 16(17), 1-9.
- Carlton, R. M. (1999). Phage therapy: Past history and future prospects. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 47(5), 267–274.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States. Atlanta, GA: CDC. Recuperado de: [http:// www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013](http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013)
- Cegelski, L., Marshall, G. R., Eldridge, G. R. y Hultgren, S. J. (2008). The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 17-27.
- Chaudhary, H. S., Soni, B., Shrivastava, A. R. y Shrivastava, S. (2013). Diversity and versatility of actinomycetes and its role in antibiotic production. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(8), 83-94.
- Clatworthy, A. E., Pierson, E. y Hung, D. T. (2007). Targeting virulence: A new paradigm for antimicrobial therapy. *Nature Chemical Biology*, 3(9), 541-548.
- Conlon, J. M. y Sonnevend, A. (2010). Antimicrobial peptides in frog skin secretions. *Methods in Molecular Biology*, 618, 3–14.
- Cox, G. y Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 287-292.
- Cross, A. S. (2008). What is a virulence factor? *Critical Care*, 12(6), 197.

- Dai, T., Fuchs, B. B., Coleman, J. J., Prates, R. A., Astrakas, C., St. Denis, T. G., Ribeiro, M. S., Mylonakis, E., Hamblin, M. R. y Tegos, G. P. (2012). Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Frontiers in Microbiology*, 3,120.
- Dasari, V. R. R. K., Muthyala, M. K. K., Nikku, M. Y. y Donthireddy, S. R. R. (2012). Novel Pyridinium compound from marine actinomycete, *Amycolatopsis alba* var. nov. DVR D4 showing antimicrobial and cytotoxic activities in vitro. *Microbiological Research*, 167(6), 346–351.
- Davies, J. (2006). Are antibiotics naturally antibiotics?. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33, 496–499.
- de Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., de Azevedo, J. L. y de Araújo, J. M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(5), 466-471.
- Defoirdt, T. (2013). Antivirulence Therapy for Animal Production: Filling an Arsenal with Novel Weapons for Sustainable Disease Control. *PLoS Pathogens*, 9(10), 1003603.
- Defoirdt, T. (2018). Quorum-Sensing Systems as Targets for Antivirulence Therapy. *Trends in Microbiology*, 26(4), 313-328.
- Deveau, H., Garneau, J. E. y Moineau, S. (2010). CRISPR/Cas System and Its Role in Phage-Bacteria Interactions. *Annual Review of Microbiology*, 64(1), 475–493.
- Dubourg, G., Abat, C. y Raoult, D. (2017). Why new antibiotics are not obviously useful now. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(5), 549–553.
- ECDC. European Centre for Disease Control and Prevention and Control. (2015). Antimicrobial resistance in focus. Recuperado de: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobialresistance/Pages/index.aspx>
- Embley, T. M., Hirt, R. P. y Williams, D. M. (1994). Biodiversity at the molecular level: the domains, kingdoms and phyla of life. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*, 345(1311), 21–33.
- Gao, B. y Gupta, R. S. (2012). Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for the Main Clades of the Phylum Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 66–112.
- Ghuysen, J. M. (1991). Serine β -lactamases and penicillin-binding proteins. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 46, 37–67.
- Górski, A., Międzybrodzki, R., Łobocka, M., Głowacka-Rutkowska, A., Bednarek, A., Borysowski, J., Jończyk-Matysiak, E., Łusiak-Szelachowska, M., Weber-Dąbrowska, B., Bagińska, N., Letkiewicz, S., Dąbrowska, K., Scheres, J. (2018). Phage Therapy: What Have We Learned?. *Viruses*, 10(6), 288.
- Goyal, S., Remawat, K.G. y Mérillon, J.M. (2016). Different shades of fungal metabolites: an overview. En: Mérillon, J.M., Ramawat, K.G., y Gopal, K. (Eds.). *Fungal metabolites* (pp. 1-29). Suiza: Springer Reference.
- Hagens, S., Habel, A., Von Ahsen, U., Von Gabain, A. y Bläsi, U. (2004). Therapy of experimental *Pseudomonas* infections with a nonreplicating genetically modified phage. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(10), 3817–3822.
- Hamblin, M. R. y Hasan, T. (2004). Photodynamic therapy: A new antimicrobial approach to infectious disease?. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3(5), 436-450.
- Hancock, R. E. W. y Rozek, A. (2002). Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. *FEMS Microbiology Letters*, 206(2), 143-149.

- Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Heydorn, A., Andersen, J. B., Parsek, M. R., Rice, S. A., Eberl, L., Molin, S., Hoiby, N., Kjelleberg, S. y Givskov, M. (2002). Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology*, 148(1), 87–102.
- Huang, L., Dai, T. y Hamblin, M. R. (2010). Antimicrobial photodynamic inactivation and photodynamic therapy for infections. *Methods in Molecular Biology*, 635, 155–173.
- Hug, J., Bader, C., Remškar, M., Cirnski, K. y Müller, R. (2018). Concepts and Methods to Access Novel Antibiotics from Actinomycetes. *Antibiotics*, 7(2), 44.
- Innes, C. M. J. y Allan, E. J. (2001). Induction, growth and antibiotic production of *Streptomyces viridifaciens* L-form bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 90(3), 301–308.
- Jault, P., Leclerc, T., Jennes, S., Pirnay, J. P., Que, Y. A., Resch, G., Rousseau, A. F., Ravat, F., Carsin, H., Le Floch, R., Schaal, J. V., Soler, C., Fevre, C., Arnaud, I., Breteau, L. y Gabard, J. (2019). Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(1), 35–45.
- Jenssen, H., Hamill, P. y Hancock, R. E. W. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 491–511.
- Jiang, Q., Chen, J., Yang, C., Yin, Y., Yao, K. y Song, D. (2019). Quorum Sensing: A Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases. *BioMed Research International*, 2019, 15.
- Kutateladze, M. y Adamia, R. (2010). Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends in Biotechnology*, 28(12), 591–595.
- Laanto, E., Hoikkala, V., Ravantti, J. y Sundberg, L. R. (2017). Long-term genomic coevolution of host-parasite interaction in the natural environment. *Nature Communications*, 8(111).
- LaSarre, B. y Federle, M. J. (2013). Exploiting Quorum Sensing To Confuse Bacterial Pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(1), 73–111.
- Leach, K. L., Swaney, S. M., Colca, J. R., McDonald, W. G., Blinn, J. R., Thomasco, L. M., Gadwood, R. C., Shinabarger, D., Xiong, L. y Mankin, A. S. (2007). The Site of Action of Oxazolidinone Antibiotics in Living Bacteria and in Human Mitochondria. *Molecular Cell*, 26(3), 393–402.
- Littmann, J., Buyx, A., y Cars, O. (2015). Antibiotic resistance: An ethical challenge. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(4), 359–361.
- Ma, Y., Liu, C., Liu, X., Wu, J., Yang, H., Wang, Y., Li, J., Yu, H. y Lai, R. (2010). Peptidomics and genomics analysis of novel antimicrobial peptides from the frog, *Rana nigrovittata*. *Genomics*, 95(1), 66–71.
- MacGowan, A. y Macnaughton, E. (2017). Antibiotic resistance. *Medicine*, 45(10), 622–628.
- Maddison, J. E., Watson, A. D. J. y Elliott, J. (2008). Chapter 8- Antibacterial drugs. En: Maddison, J. E., Page, S. W. y Church, D. B. (Eds.), *Small Animal Clinical Pharmacology* (pp 148-185). W. B. Saunders: Elsevier Ltd.
- Makarova, K. S., Wolf, Y. I., Alkhnbashi, O. S., Costa, F., Shah, S. A., Saunders, S. J., Barrangou, R., Brouns, S. J. J., Charpentier, E., Haft, D. H., Horvath, P., Moineau, S., Mojica, F. J. M., Terns, R. B., Terns, M. P., White, M. F., Yakunin, A. F., Garret, R.A., van der Oost, J., Backofen, R. y Koonin, E. V. (2015). An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*, 13(11), 722–736.

- Malik, Z., Ladan, H. y Nitzan, Y. (1992). Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: Problems and possible solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, 14(3), 262-266.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K. y Kim, S. K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 262-278.
- Marra, A. (2004). Can virulence factors be viable antibacterial targets?. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2(1), 61-72.
- Martin, R. M. y Bachman, M. A. (2018). Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 4.
- Masurekar, P. (2009). Antibiotic production. En: Schaechter, M. (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology*. (pp. 174-190). New Jersey, USA: Elsevier.
- Naghmouchi, K., Le Lay, C., Baah, J. y Drider, D. (2012). Antibiotic and antimicrobial peptide combinations: Synergistic inhibition of *Pseudomonas fluorescens* and antibiotic-resistant variants. *Research in Microbiology*, 163(2), 101-108.
- Najafpour, G. D. (2015). Chapter 11 – Production of Antibiotics. En Najafpour, G. D. (ED.), *Biochemical Engineering and Biotechnology* (pp. 345-361). Elsevier.
- Neu, H. C. (1992). The crisis in antibiotic resistance. *Science*, 257(5073), 1064-1073.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug Resistance in Bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 78(1), 119-146
- Nitzan, Y. y Ashkenazi, H. (2001). Photoinactivation of *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli* B by a cationic hydrophilic porphyrin at various light wavelengths. *Current Microbiology*, 42(6), 408-414.
- Peters, B. M., Shirliff, M. E. y Jabra-Rizk, M. A. (2010). Antimicrobial peptides: primeval molecules or future drugs?. *PLoS pathogens*, 6(10), e1001067.
- Phoenix, D. A., Dennison, S. R. y Harris, F. (2014). Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy. En Phoenix, D. A., Harris, F. y Dennison, S. R. (Eds.), *Novel Antimicrobial Agents and Strategies* (pp. 295-330). Wiley Blackwell.
- Piers, K. L., Brown, M. H. y Hancock, R. E. W. (1993). Recombinant DNA procedures for producing small antimicrobial cationic peptides in bacteria. *Gene*, 134(1), 7-13.
- Pini, A., Falciani, C., Mantengoli, E., Bindi, S., Brunetti, J., Iozzi, S., ... Bracci, L. (2010). A novel tetrabranching antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock in vivo. *FASEB Journal*, 24(4), 1015-1022.
- Quadri, R. S. y Asgar, D. (2012). Detection of melanin producing thermo-alkaliphilic *Streptomyces* from limestone quarries of the Deccan traps. *World J Sci Technol*, 2(2), 8-12.
- Rahman, M. (2015). Chapter 23 - Antimicrobial Secondary Metabolites-Extraction, Isolation, Identification, and Bioassay. En Mukherjee, P. K. (Ed.), *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine* (pp. 495-513). Elsevier Inc.
- Rajesh, S., Koshi, E., Philip, K. y Mohan, A. (2011). Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(4), 323-327.
- Rasko, D. A. y Sperandio, V. (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 117-128.

- Rice, L. B. (2012). Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings*, 87(2), 198–208.
- Rodríguez-Noriega, E., León-Garnica, G., Petersen-Morfín, S., Pérez-Gómez, H. R., González-Díaz, E. y Morfín-Otero, R. (2013). La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*, 34(0), 181.
- Rodríguez-Rojas, A., Rodríguez-Beltrán, J., Couce, A. y Blázquez, J. (2013). Antibiotics and antibiotic resistance: A bitter fight against evolution. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 293-297.
- Romero-Martinez, R., Wheeler, M., Guerrero-Plata, A., Rico, G. y Torres-Guerrero, H. (2000). Biosynthesis and functions of melanin in *Sporothrix schenckii*. *Infection and Immunity*, 68(6), 3696–3703.
- Ruer, S., Pinotsis, N., Steadman, D., Waksman, G. y Remaut, H. (2015). Virulence-targeted Antibacterials: Concept, Promise, and Susceptibility to Resistance Mechanisms. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(4), 379-399.
- Ruiz, J. (2003). Mechanisms of resistance to quinolones: Target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(5), 1109-1117.
- Schauber, J. y Gallo, R. L. (2008). Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122(2), 261-266.
- Secretaría de Salud. (2016). Informe anual 2015 RHOVE. México. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/212974/infoanual_rhove_2015.pdf
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D. y Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), 90–101.
- Solecka, J., Zajko, J., Postek, M. y Rajnisz, A. (2012). Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Central European Journal of Biology*, 7(3), 373-390.
- Spratt, B.G. (1994). Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science*, 264(5157), 388–393.
- Stach, J. E. M. y Bull, A. T. (2005). Estimating and comparing the diversity of marine actinobacteria. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 87(1), 3-9.
- Straus, S. K., y Hancock, R. E. W. (2006). Mode of action of the new antibiotic for Gram-positive pathogens daptomycin: Comparison with cationic antimicrobial peptides and lipopeptides. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1758(9), 1215-1223.
- Strohl, W.R. (1997). *Biotechnology of Antibiotics*. Marcel Dekker Inc., New York, USA: CRC Press.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z. y Morris, J. G., Jr (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(3), 649–659.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infection Control*, 34(5), 3-10.
- The Nobel Prize. (2019). Paul Ehrlich biographical. Recuperado de: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/ehrlich/biographical/>
- Torres-Barceló, C. (2018). Phage therapy faces evolutionary challenges. *Viruses*, 10(6), 323.

- van der Weide, H., Brunetti, J., Pini, A., Bracci, L., Ambrosini, C., Lupetti, P., Paccagnini, E., Gentile, M., Bernini, A., Niccolai, N., Vermeulen-de Jongh, D., Bakker-Woudenberg, A. J. M., Goessens, W. H. F., Hays, J. P. y Falciani, C. (2017). Investigations into the killing activity of an antimicrobial peptide active against extensively antibiotic-resistant *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1859(10), 1796–1804.
- Van Hoek, A. H. A. M., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P. y Aarts, H. J. M. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: An overview. *Frontiers in Microbiology*, 2, 203.
- Ventura, M., Canchaya, C., Fitzgerald, G. F., Gupta, R. S. y Sinderen, D. (2007). Genomics as a means to understand bacterial phylogeny and ecological adaptation: The case of bifidobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 91(4), 351–372.
- Wade, J. D., Lin, F., Hossain, M. A. y Dawson, R. M. (2012). Chemical synthesis and biological evaluation of an antimicrobial peptide gonococcal growth inhibitor. *Amino Acids*, 43(6), 2279–2283.
- Waters, C. M. y Bassler, B. L. (2005). Quorum sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21(1), 319–346.
- Watve, M. G., Tickoo, R. y Jog, M. M. (2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. *Arch Microbiol*, 176, 386-390.
- WHO. World Health Organization. (2019). Antimicrobial Resistance. Geneva, Suiza. Recuperado de: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/en/>.
- WHO. World Health Organization. (2017). priority pathogen list for R&D. Geneva, Suiza. Recuperado de: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-T_NM_WHO.pdf
- Williams, S. T. y Cross, T. (1971). Chapter XI Actinomycetes. En Booth, C. (Ed.), *Methods in Microbiology* (pp. 295–334). Academic Press Inc.
- Woodford, N., Turton, J. F. y Livermore, D. M. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 736-755.
- Yaday, V. y Talwar, P. (2019). Repositioning of fluoroquinolones from antibiotic to anti-cancer agents: An underestimated truth. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 111, 934-946.
- Yang, W., Moore, I. F., Koteva, K. P., Bareich, D. C., Hughes, D. W. y Wright, G. D. (2004). TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 52346–52352.
- Zeina, B., Greenman, J., Purcell, W. M. y Das, B. (2001). Killing of cutaneous microbial species by photodynamic therapy. *British Journal of Dermatology*, 144(2), 274–278.
- Zenova, G. M. (1965). Melanoid pigments of actinomycetes. *Mikrobiologiia*, 34(2), 278-83.
- Zilahi, G., Artigas, A. y Martin-Loeches, I. (2016). What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU?. *Annals of Intensive Care*, 6(96), 1-11.