

NUEVAS ESTRATEGIAS ANTIMICROBIANAS FRENTE A LA EMERGENTE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

INTRODUCCIÓN

Los **antibióticos** son un grupo de fármacos muy importantes en la sociedad actual, permiten curar enfermedades infecciosas bacterianas y garantizan que los alimentos que consumimos estén ausentes de posibles patógenos. Sin embargo, durante los últimos años, diversos antibióticos han dejado de ser efectivos contra ciertas bacterias (entre ellos, las denominadas ESKAPE) dado que estos se han adaptado a ellos y se han vuelto resistentes (cualidad a la que llamamos **biորresistencia**). Las razones detrás de este fenómeno derivan de la masificación y mala utilización de estos medicamentos, ya sea por usar un antibiótico contra una infección que no es la indicada para dicho fármaco, por no seguir bien las pautas de dosificación establecidas, o por el simple hecho de usar antibióticos, pues adquirir una resistencia cualquiera es un proceso natural observado en diferentes seres vivos, no solo en bacterias. Este hecho se agrava con la propagación de estos microorganismos, transmitiendo la biորresistencia a otras especies bacterianas que inicialmente no habían desarrollado tal habilidad. Se calcula que en 2050, 10 millones de personas a nivel mundial podrían ser víctimas de infecciones hechas por bacterias resistentes de forma anual [2], más que las que mueren cada año de cáncer actualmente.

BACTERIAS ESKAPE

Algunas de estas bacterias biորresistentes son las ESKAPE. **ESKAPE** es un acrónimo para **Enterococcus faecium**, **Staphylococcus aureus**, **Klebsiella pneumoniae**, **Acinetobacter baumannii**, **Pseudomonas aeruginosa** y **Enterobacter spp**; un grupo de bacterias patógenas resistentes a múltiples antibióticos y que se encuentran dentro del ámbito de un hospital causando infecciones (más conocidas como **infecciones nosocomiales**). Representan una amenaza para el sistema de salud y la población, por lo tanto es necesario encontrar una forma de combatirlos. Para ello se están desarrollando estas nuevas alternativas antimicrobianas para luchar contra ellas.

Combinaciones de antibióticos

Las **combinaciones de antibióticos** se llevan haciendo y comercializando desde hace tiempo, una de las razones es por su efecto sinérgico que les confiere un mayor espectro de actuación y porque hay menos probabilidad de que una bacteria desarrolle una resistencia a los dos fármacos a la vez que no por uno solo. Con esta dinámica también se pueden combinar antibióticos con compuestos que por sí solos no tendrían actividad antimicrobiana (moléculas **adyuvantes**), pero que sin embargo, ayudan al antibiótico con su función; estos compuestos adyuvantes pueden ir desde inhibidores de proteínas responsables de biորresistencias hasta moléculas quelantes.

Las desventajas de esta opción es que muchos tests **in vivo** (o sea, en seres vivos) no muestran tanto éxito como los **in vitro** (en cultivos de bacterias), incluyendo fenómenos de menor efectividad, toxicidad para el paciente o de inducir una biորresistencia extra en la bacteria. Además, la probabilidad de que se genere una resistencia con la combinación de dos antibióticos no evita que la bacteria pueda generar y transmitir una resistencia a uno de los antibióticos de la combinación, de forma que se acabaría generando una resistencia tarde o temprano a esos antibióticos (como ya está sucediendo)

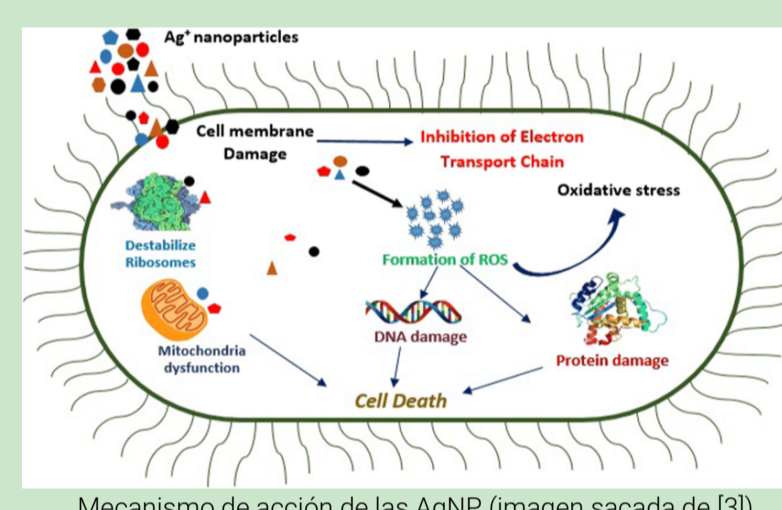
Target ESKAPE	Model used	Agent used and dosage details	Route of administration	In vivo efficacy: log reduction of pathogen; % survival of host	Other advantages	References
ANTIBIOTIC IN COMBINATION						
E1	Golden methicillin Serratia infection model	Piperasin (0.2-2 µg/ml) + Tigecycline (0.02 µg/ml) + Fosfomicina (10 mg/kg) + AgNP	Injection into mouse	20-75% survival	-	Berthel et al., 2017
S	Neuropathic shunt 2011-2017	Cladribine + Rifampin	-	Successful treatment in 81% patients	-	Corrado-Romero et al., 2018
S	Wound infection	Cladribine + Rifampin	Intraperitoneal (IP)	4 log decrease with both combinations	Antibiotic	Geppert et al., 2015
S	Wound infection	Cladribine (0.5 mg/kg) + Fosfomicina (0.02 mg/kg) + Rifampin (0.1 mg/kg)	-	4 log reduction 100% survival	Antibiotic	Geppert et al., 2015
K	Murine complicated urinary tract infection	Mecopenem (0.2 mg/kg) + Fosfomicina (0.02 mg/kg)	-	>3 log reduction in biորresistant Enterococcus faecium	-	Montoya et al., 2018a
A	Murine thigh and lung infection model	Colistin + Tobramicina + Rifampin	IP	No effect	-	Montoya et al., 2018b
P	Murine thigh infection model	Amikacin (1 or 2 mg/kg) with a 1 g loading dose + Tobramicina (2 mg/kg) + Colistin (2 or 4 mg/kg) + Fosfomicina	Subcutaneous	>2.5 or >1.5 log reduction	-	Waller et al., 2017
P	Murine infection model	Cladribine (0.5 mg/kg) + Fosfomicina (0.02 mg/kg)	Subcutaneous	>3 log reduction	-	Geppert et al., 2015
E	Gram-negative infection model	Colistin (0.5 mg/kg) + Imipenem (0.5 mg/kg)	Injection into mouse	80-90% survival	-	Yang et al., 2018a

Tabla con diferentes combinaciones de antibióticos junto a su efectividad y otros [1]

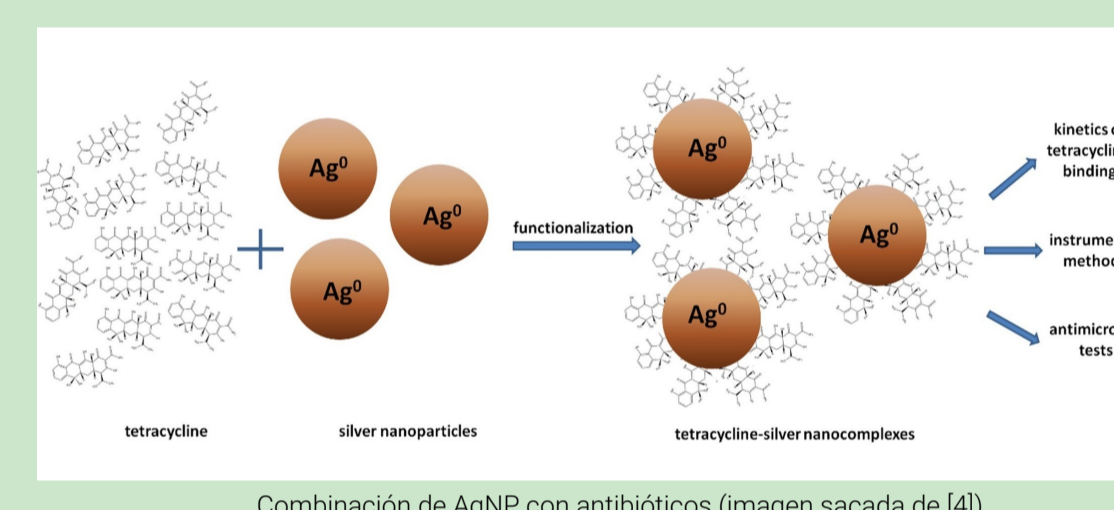
Nanopartículas de plata (AgNP)

Las nanopartículas de plata es uno de los muchos inventos de la nanotecnología que han llegado a las ciencias sanitarias. Estas muestran un prometedor efecto antimicrobiano por su actuación sobre diferentes dianas. Su mecanismo de acción se basa en la liberación de iones de plata que rompen la cadena de transporte de electrones que les permite generar energía para vivir, o generando moléculas muy reactivas de oxígeno (llamadas ROS, **Reactive Oxygen Species**) que dañan el microorganismo a varios niveles (ADN, proteínas, membranas celulares, etc), además de dañar el **biofilm** que crean y donde se establecen para sobrevivir. Estudios **in vitro** e **in vivo** no reportaron toxicidad durante su uso. Las nanopartículas también se pueden combinar con antibióticos (además de otros compuestos) para mejorar su acción biológica o para controlar su liberación en el organismo; estas sustancias se usarían como una cubierta de las nanopartículas. De hecho, estas AgNP recubiertas se usan regularmente para recubrir material médico (como catéteres o implantes) con tal de evitar la proliferación de bacterias en éste.

Sin embargo, al igual que otras alternativas, repetidas dosis sub-letales de AgNP pueden provocar que la bacteria desarrolle una resistencia a ellas. Aunque esta terapia haya mostrado eficacia en estudios **in vitro**, se requieren de más estudios **in vivo** que permitirían determinar mejor la toxicidad, eficacia e interacciones con el paciente.



Mecanismo de acción de las AgNP (imagen sacada de [3])



Combinación de AgNP con antibióticos (imagen sacada de [4])

Péptidos antimicrobianos (AMP)

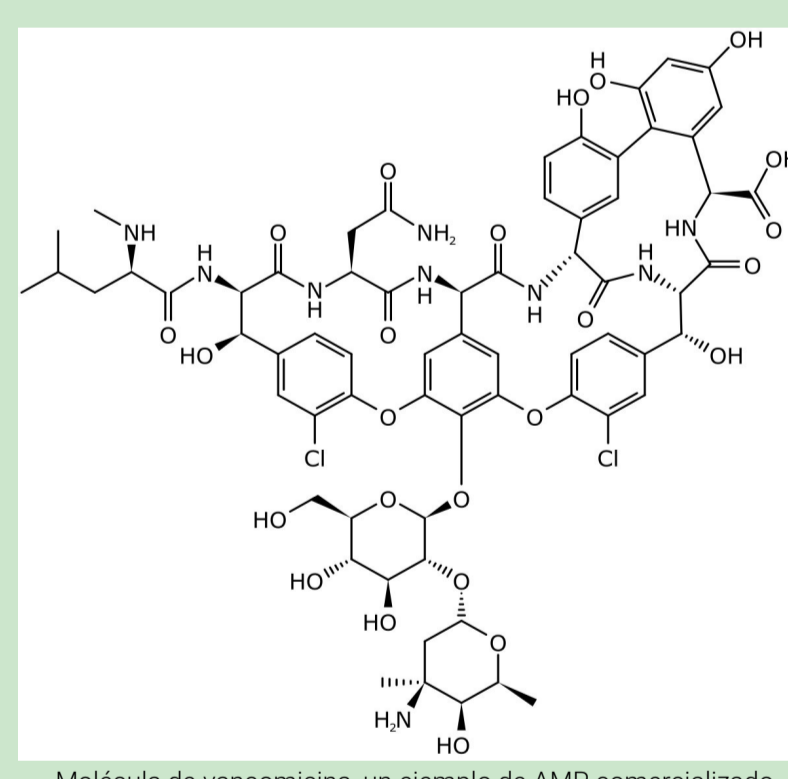
Los **péptidos antimicrobianos** (**AntiMicrobial Peptides**, AMP) son cadenas cortas de péptidos cargadas positivamente producidas por todos los seres vivos, tienen un amplio espectro de actuación por su capacidad de interactuar y romper la membrana celular de la bacteria, muriendo en el proceso.

Algunos AMP ya se encuentran en el mercado autorizados para utilización en la práctica médica, no obstante, no muchos se encuentran en ensayos clínicos para su aprobación para el uso en humanos y de los que hay, muy pocos consiguen ser aprobados. Las razones pueden ser su efecto citotóxico en las células del paciente (los AMP también destruyen las membranas celulares del paciente), ser sustrato de proteasas bacterianas o que pierda efectividad a bajas concentraciones de sales (lo cual se puede arreglar modificando estructuralmente la molécula).

Aún se requiere más investigación para esta alternativa terapéutica sobre su acción sobre microorganismos ESKAPE y como formular un medicamento con AMPs para optimizar los efectos terapéuticos.

Target ESKAPE	Model used	Agent used and dosage details	Route of administration	In vivo efficacy: log reduction of pathogen; % survival of host	Other advantages	References
ANTIMICROBIAL PEPTIDE (AMP)						
A	Murine infection model	Chen1-AgNP-0.2 mg/kg	IM	>2 log reduction; >50% survival	Anti-inflammatory	Chiriac et al., 2018
A	Murine wound infection model	K11, a hybrid peptide of melittin, oxalysin A1, and magainin 2	Topical	~100% pathogen clearance; 100% survival	Wound healing (21 days)	Rishi et al., 2018
P	Murine infection model	Fekusun-K2 analog; 0.5 mg/kg	IP	~1 log reduction	Stable; Low toxicity; Antibiotic	Xu et al., 2018
S	G. melioidis infection model	PS-13, Plant derived crude extract	Injection into mouse	60% survival	-	Al-Antal et al., 2018
P	G. melioidis infection model	SP-E, epinephrine-glycyl sialic acid peptide (1 µg/ml)	Injection into mouse	~50% survival	Non-toxic	Choudhry et al., 2018
S, E, A	G. aureus murine sepsis model, A. baumannii infected murine lung model	D-105-1102, peptide modified by attaching D-terminal Cysteine 6 and 10 mg/kg	IP	70% survival	Non-toxic	Chen et al., 2018
S, E, A	Murine skin infection model	SAMP-148, a 1.37 human cathelicidin repeat region used to prepare cathelicidin (0.025 to 0.25 mg/kg)	Topical	57% and complete clearance of G. aureus and A. baumannii, respectively after a single treatment with 7% saline SAMP-148 treatment	Antibiotic; No pain; Reducing biofilm; Anticancer	de Dreu et al., 2018
P	Murine lung infection model	Eqp-1201, 10 mg/kg skin-derived AMP; 0.5 mg/kg	Intra tracheal injection	2 log reduction	Anti-inflammatory	Chen et al., 2017

Tabla de péptidos antimicrobianos junto a su eficacia y otros (sacada de [1])

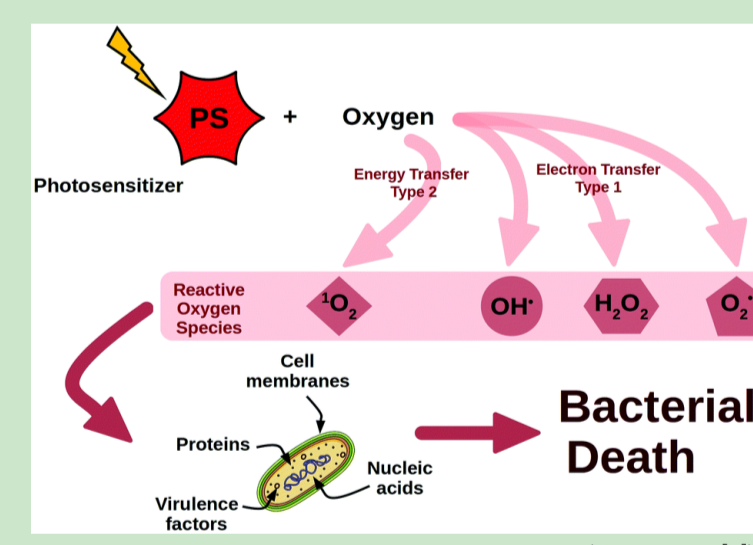


Molécula de vancomicina, un ejemplo de AMP comercializado

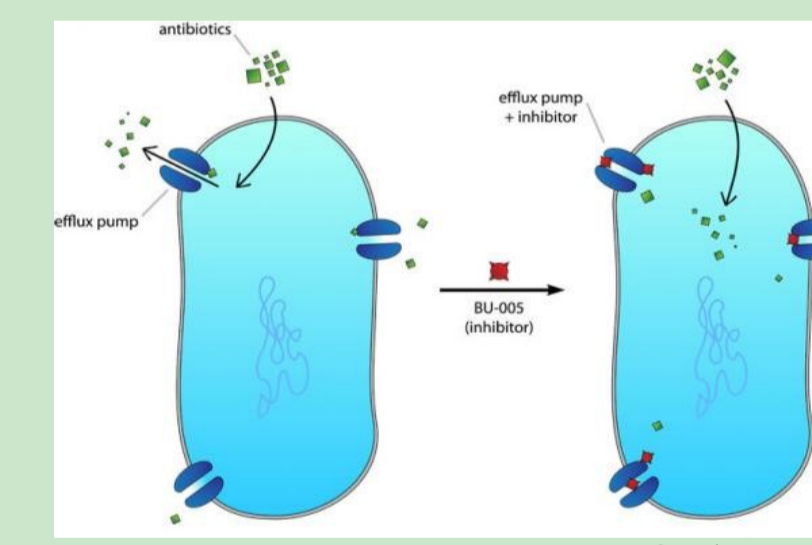
Terapia con luz fotodinámica

La terapia con luz antimicrobiana, sea usando una **molécula fotosensibilizante** (o PS) o no, produce una **respuesta fotooxidativa** generada por ROS que lleva a la muerte de la bacteria. Estos compuestos PS entran en un estado excitado al recibir luz de una determinada longitud de onda y transfieren electrones a diferentes moléculas importantes para la bacteria, oxidándolas y dañando el microorganismo. Este tipo de terapia es ampliamente usada para tratar infecciones dentales, cutáneas y tejidos blandos. El foco de atención de esta alternativa terapéutica reside en diseñar moléculas PS capaces de entrar y permanecer dentro de una bacteria sin que penetre en las células del paciente ni las dañe, además de que reaccionen a un amplio espectro de longitudes de onda. Con tal de que el PS se mantenga dentro de la bacteria es importante que la molécula no sea sustrato de una **bomba de eflujo** bacteriana, que la expulsaría fuera del microorganismo (esto se puede solucionar con administrando un inhibidor de la bomba de eflujo o haciendo modificaciones estructurales al PS). Por otro lado, cabe remarcar que una vez se deja de irradiar la bacteria con luz, la respuesta fotooxidativa desaparece y con ello la muerte de más bacterias, permitiendo que estas vuelvan a proliferar, cosa que se puede revertir administrando compuestos junto a los PS que hagan perdurar la acción antimicrobiana en la zona infectada.

Esta alternativa terapéutica también se la ha intentado combinar con otras cosas como antibióticos, nanopartículas de diferentes elementos (que sí han mostrado eficacia clínica), adyuvantes y AMPs. No obstante, aunque los resultados sean prometedores, no se ha establecido una metodología estándar para valorar y equiparar los efectos sinérgicos mencionados.



Esquema del mecanismo de acción de un PS (sacado de [5])



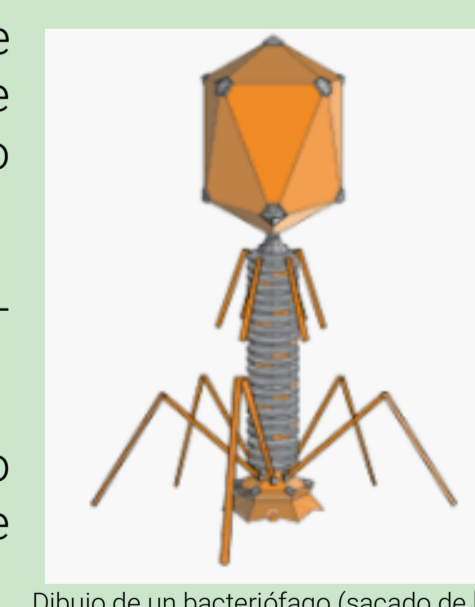
Esquema del mecanismo de acción de una bomba de eflujo (sacado de [6])

Bacteriófagos

Un **bacteriófago** (o **fago**) es un **virus** que infecta bacterias con tal de reproducirse, se encuentran en todas partes, incluyendo las aguas residuales de un hospital, haciéndolos muy accesibles. La **fagoterapia** es una estrategia que se lleva haciendo desde hace unos 90 años [7], dado que presentan una elevada especificidad por su huésped, de forma que un bacteriófago sólo atacará una determinada bacteria, evitando los daños a la flora intestinal humana que podría provocar un antibiótico. Aunque las bacterias pueden generar resistencia ante estos virus, los bacteriófagos son también capaces de evolucionar para escapar de los mecanismos de defensa de su huésped. No sólo eso, sino que se ha observado que para que la bacteria ESKAPE *P. aeruginosa* gane resistencia frente a un bacteriófago tiene que disminuir su resistencia a los antibióticos [8].

Diversos estudios ya han demostrado que los bacteriófagos son seguros y efectivos como agente terapéutico en infecciones oculares y urinarias, pancreatitis, etc; con modificaciones que van desde mezclas de distintos fagos hasta combinar antibióticos con bacteriófagos (terapias aún en desarrollo).

Sin embargo, los bacteriófagos también presentan desventajas tales como las derivadas de su alta especificidad (un bacteriófago puede no atacar a todas las cepas de un patógeno) o la dificultad que representa probar que un fago es eficaz contra una bacteria. Los bacteriófagos también son vehículos para la transmisión de información genética entre diferentes bacterias (**transmisión horizontal**), de forma que la biորresistencia a un antibiótico o a un fago se podría expandir a una bacteria de otra especie. No obstante, estas limitaciones se pueden superar con modificaciones y el desarrollo de esta terapia, la cual su interés está en auge.



Dibujo de un bacteriófago (sacado de [9])

CONCLUSIONES

Es importante que amplíemos nuestro arsenal para combatir las bacterias resistentes a antibióticos, ya sean las ESKAPE o otras bacteria que puedan surgir en el futuro, debido a ello existe un creciente interés por las prometedoras estrategias anteriormente comentadas. Las desventajas que sufren dichas alternativas se podrían agrupar en problemas de estabilidad y viabilidad referentes al agente terapéutico usado, toxicidad, altos costes de producción o falta de más estudios fiables que desarrollen la efectividad de dichas técnicas antimicrobianas. Hay que mencionar que muchas de las investigaciones mencionadas se llevaron a cabo en animales con infecciones cutáneas, de forma que es necesario estudiar la efectividad y seguridad de estos agentes terapéuticos en otras partes del cuerpo. Por otro lado, los estudios mencionados no tienen una forma de valorar uniformemente la efectividad de un tratamiento, por lo que no se debería comparar estos agentes en función de cuál es mejor o peor, pues los criterios de valoración cambian. Aun teniendo todo esto en cuenta, estas estrategias antimicrobianas son prometedoras, tanto por ellas mismas como en sinergia, el aumento de investigación en estas técnicas hará que evolucionen y lleguen a salvar miles de vidas.

Bibliografía

- [1] Mulani MS, Kamble EE, Kulkarni SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. Front Microbiol. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
- [2] New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis [Internet]. <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
- [3] Rahman, Sidra & Rahman, Lubna & Khalil, Ali & Ali, Nasir & Zia, Dania & Ali, Muhammad & Shiwari, Zabta. (2019). Endophyte-mediated synthesis of silver nanoparticles and their biological applications. Applied Microbiology and Biotechnology. 103. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09661-x>
- [4] B. Buszewski, K. Rafkiska, P. Pomastowski, J. Walczak, A. Rogowska. Novel aspects of silver nanoparticles functionalization. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.05.058>
- [5] Nidia Maldonado-Carmona, Tan-Sothea Ouk, Mário J. F. Calvete, Mariette M. Pereira, Nicolas Villandera and Stephanie Leroy-Lhez. Conjugating biomaterials with photosensitizers: advances and perspectives for photodynamic antimicrobial chemotherapy. <https://doi.org/10.1039/C9PP00098C>
- [6] New compound defeats drug-resistant bacteria | News from Brown [Internet]. <https://news.brown.edu/articles/2011/11/bacteria>
- [7] Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. Phage treatment of human infections. Bacteriophage. 2011;1(2):66-85. <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.15845>
- [8] Chan BK, Siström M, Wertz JE, Korright KE, Narayan D, Turner PE. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR Pseudomonas aeruginosa. Sci Rep. 2016;6:26717. Published 2016 May 26. <https://doi.org/10.1038/srep26717>
- [9] Bacteriófago - Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8643737>