

# LA CARRERA SIN FIN CONTRA LA RESISTENCIA A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

ANTONIO GÁLVEZ DEL POSTIGO RUIZ\*

## Discurso de Ingreso como Académico de Número en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental

Excmo. Rector Magnífico de la Universidad de Jaén, Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental, Sr. Vicerrector de Enseñanzas de Grado, Postgrado y Formación Permanente de la Universidad de Jaén, Ilustrísimos señores y señoras Académicos, compañeros y compañeras, querida familia y amigos todos.

En primer lugar, quisiera agradecer a la Real Academia y a sus ilustres miembros su confianza en mí para este nombramiento, que considero un verdadero privilegio y honor. El pasado año tuvo lugar el 70 aniversario de la concesión del Premio Nobel a Sir Alexander Fleming, por el descubrimiento de la penicilina, que marcaría el desarrollo de la era de los antibióticos. Sin embargo, el desarrollo masivo de resistencias a los agentes antimicrobianos debería hacernos reflexionar, motivo por el que he querido dedicar mi Discurso de ingreso como Académico de número a este tema.

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia de la humanidad han sido constantes los esfuerzos por controlar las enfermedades infecciosas. Las heridas de guerra, la malaria, la sífilis o la tuberculosis fueron amenazas persistentes. Con frecuencia se recurría a remedios

---

\*Catedrático de Microbiología de la Universidad de Jaén

naturales, como extractos de plantas, raíces, o cortezas de árboles. Las vasijas de cobre y plata se utilizaban desde la época Persa para la desinfección del agua y la conservación de alimentos. En el S. XVII se desarrollaron microscopios que permitieron demostrar la existencia de los microorganismos, lo que cambió nuestra forma de abordar su estudio y adoptar nuevas medidas de control. El desarrollo de la Química contribuiría a la síntesis de los primeros agentes quimioterápicos destinados al control específico de los microorganismos. Sin embargo, no fue hasta comienzos del S. XX cuando tuvo lugar el desarrollo de la antibioterapia, tras la publicación en 1929 de los primeros trabajos de Fleming sobre la penicilina en el *British Journal of Experimental Pathology*. Fleming compartiría el premio Nobel de Medicina con otros investigadores en 1945 por este descubrimiento y su aplicación en salud humana. Otro premio Nobel destacado, aunque polémico, fue el otorgado en 1952 a Selman Waksman por el descubrimiento de la estreptomycin, el primer antibiótico eficaz contra la tuberculosis. Waskman se vería posteriormente obligado a compartir los beneficios económicos del premio con su alumno de postgrado Albert Schatz, quien reclamó la autoría del descubrimiento. Estas investigaciones iniciales dieron origen al desarrollo de la era dorada de los antibióticos, que se extendió hasta los años 80 con el descubrimiento de las diferentes familias de compuestos antimicrobianos que conocemos hoy día.

El desarrollo de agentes quimioterápicos y antibióticos revolucionó la medicina, aportando un conjunto de ventajas claras, como:

- Posibilidad de curación de las enfermedades infecciosas.
- Disminución del tiempo de recuperación de los individuos afectados.
- Complemento esencial a otros tratamientos o intervenciones médicas  
    Cirugía, irradiación, tratamientos con inmunosupresores, etc.
- Afrontar cambios en las características de la población  
    Aumento de la esperanza de vida  
    Tratamiento de individuos inmunodeprimidos (SIDA...)

Sin embargo, todos estos avances se están viendo comprometidos por el desarrollo y la diseminación de cepas resistentes a los agentes antimicrobianos, como señalan la Organización Mundial de la Salud y otras agencias relacionadas en sus últimos informes.

## MECANISMOS Y FACTORES RESPONSABLES DEL AUMENTO DE RESISTENCIAS

Tal como apuntaba Fleming en su discurso ante la Academia sueca con motivo del premio Nobel, no es difícil obtener microorganismos resistentes a la penicilina en laboratorio, exponiéndolos a concentraciones insuficientes para matarlos. Desafortunadamente, esta afirmación es extrapolable al resto de antimicrobianos conocidos.

Los microorganismos han desarrollado un conjunto de mecanismos, bien sean específicos o inespecíficos, de resistencia a los agentes antimicrobianos.

Entre los primeros destacan:

- La reducción de la entrada del compuesto a la célula o su bombeo activo al exterior.
- La alteración del sustrato al cual se une el agente antimicrobiano
- La modificación covalente del agente antimicrobiano, haciendo que pierda su actividad
- La producción de moléculas que actúan como inhibidores competitivos.

Entre los mecanismos de tipo inespecífico destacaremos

- El desarrollo de células persistentes con un metabolismo transitoriamente inactivo, y que escapan a la acción de los antibióticos
- La formación de biopelículas, también conocidas como biofilms
- La diferenciación a comunidades con capacidad de deslizamiento
- Los patógenos intracelulares obligados o facultativos

Gracias a su gran plasticidad, los genomas bacterianos tienen una elevada capacidad de adaptación a los agentes antimicrobianos. Las mutaciones puntuales, los elementos genéticos transponibles, o los plásmidos conjugativos, contribuyen notablemente a la adquisición y diseminación de resistencias. Las bacterias tienen una tasa de mutación basal de uno por millón asociada a la replicación de su material genético, que siempre se ha considerado la base para el desarrollo de resistencias. Esta baja tasa de mutación se compensa con una elevada tasa de crecimiento, que facilita la rápida acumulación de mutantes. Por otra parte, estudios recientes han demostrado que la tasa de mutación puede aumentar hasta cien veces bajo determinadas condiciones. Hasta ahora, se han descrito dos mecanismos que aceleran la tasa de mutación de las bacterias, bien asociados a la pérdida de la capacidad de reparación del ADN, o bien mediante la inducción de la conocida como ruta pro-mutagénica. El primero da lugar

a células hipermutantes, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa* asociadas a fibrosis quística. El segundo, se induce de forma transitoria en situaciones de estrés, como pueden ser el ataque de nuestro sistema inmunitario, la exposición a radiaciones, o a sustancias tóxicas incluyendo los propios antibióticos.

Además de la gran plasticidad del material genético de los microorganismos y su capacidad de adaptación fenotípica, debemos considerar otros factores a la hora de explicar la aparición de resistencias:

- El desarrollo de resistencias a un antibiótico determinado afecta también a otros antibióticos con una estructura química relacionada, como por ejemplo los beta-lactámicos y sus derivados.
- Los microorganismos tienden a acumular genes de resistencia a diferentes antimicrobianos, transformándose en “superbacterias”.
- Los microorganismos están expuestos en la naturaleza a una variedad de agentes antimicrobianos, como los producidos por las plantas o por otros microorganismos, por lo que a lo largo de la evolución han adquirido experiencia previa en el desarrollo de resistencias. Así, por ejemplo, los actinomicetos, principal grupo de bacterias del suelo productoras de antibióticos, poseen mecanismos de resistencia para no sucumbir a los productos de su propio metabolismo. Por tanto, cabe hablar de la existencia de forma natural de un resistoma o conjunto de genes de resistencia a antibióticos en las comunidades microbianas. En el estudio del microbioma de individuos pertenecientes a una tribu Amerindia que permanecía aislada en el Amazonas, se encontraron genes de resistencia a tetraciclinas y a cloranfenicol, que además estaban asociados a elementos genéticos móviles como transposones y secuencias de inserción (1). En otros estudios sobre bacterias procedentes del permafrost, con una antigüedad estimada de 30.000 años, se detectaron también secuencias para genes de resistencias a diferentes antibióticos (2-4).
- Muchos genes de resistencia se originan a partir de secuencias asociadas a otras funciones metabólicas existentes de forma natural en el genoma de los microorganismos, o procedentes del “ADN basura” o con función desconocida. Por ejemplo, los genes que codifican para beta-lactamasas activas frente a cefalosporinas se ha encontrado en bacterias presentes en el medio ambiente como *Kluyvera ascorbata*, que nunca han estado asociadas a infecciones ni expuestas a tratamiento con antibióticos. También se han encontrado genes para cefalosporinasas en otros miembros

de la Familia Enterobacteriaceae de vida libre, como *Rahnella aquatilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia fonticola*, *Erwinia persicina*, o especies de *Raoultella*. Igualmente, se han encontrado genes con alta homología a los que codifican resistencias a fluoroquinolonas en bacterias de ambientes acuáticos como *Shewanella algae* o en especies del género *Vibrio* (5).

- El uso incontrolado de antibióticos en salud humana. El consumo global de antibióticos creció un 30% entre 2000 y 2015, especialmente en regiones en vías de desarrollo en las que las condiciones sanitarias son pobres y los antibióticos se dispensan con escaso control médico. Por ejemplo, en la India, el número de infecciones por cepas de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenémicos incrementó del 29% en 2008 al 57% en 2014, mientras que en Estados Unidos no superó el 10%. No obstante, estas cifras no deberían consolarnos ya que en Italia la incidencia alcanzó el 34.3% en 2013.
- El uso masivo de antibióticos en sanidad animal y en la cría intensiva de animales de granja, bien para el tratamiento de infecciones, como tratamiento profiláctico, o para acelerar el engorde. En 2011, el 80% de los antibióticos vendidos en Estados Unidos fueron destinados a las granjas de animales. De ellos, sólo el 3% se administró por vía intramuscular, y el resto fueron suministrados en el agua o junto con el pienso. El listado de antimicrobianos aprobado por la FDA para uso en animales ascendía a 685 compuestos diferentes, muchos de ellos pertenecientes al mismo grupo o idénticos a los empleados en salud humana (6, 7). Al contrario que en Europa, en Estados Unidos la FDA no empezó a tomar medidas sobre el uso irracional de antibióticos en la cría de animales hasta 2013, exigiendo de forma un tanto titubeante que la administración en animales de antibióticos usados en humanos requiera prescripción por parte de un veterinario (8). Más preocupante aún, en otros países que empiezan a ser líderes mundiales en la producción de carne, no existe o se desconoce la normativa que aplican sobre el uso de antibióticos en la granja.

## DISEMINACIÓN DE LAS RESISTENCIAS

La resistencia a los agentes antimicrobianos se ha asociado casi siempre al ámbito hospitalario, y más concretamente a las cepas de microorganismos causantes de infecciones nosocomiales. No obstante, los estudios epidemiológicos han demostrado la facilidad con que estas y otras cepas se diseminan por diferentes ambientes y re-

giones geográficas, llegando a adquirir un carácter pandémico. Algo similar ocurre con las resistencias que surgen en el ámbito veterinario. Curiosamente, los modelos de diseminación son bastante parecidos:

- Los animales o los humanos tratados con antibióticos desarrollan cepas resistentes en su tracto gastrointestinal.
- Las cepas resistentes se diseminan en el entorno hospitalario a través de los pacientes, el personal médico y de asistencia sanitaria, los utensilios, el aire...
- Las cepas resistentes se diseminan en la granja de unos animales a otros, pudiendo colonizar también a animales salvajes y a insectos
- Fuera del hospital, los individuos portadores de cepas resistentes las diseminan al resto de la comunidad
- Las cepas resistentes se diseminan al medio ambiente a través de las excretas de animales y humanos, contaminando el agua y el suelo donde cultivamos los alimentos.
- Los ambientes acuáticos y los sedimentos constituyen verdaderos laboratorios donde los microorganismos autóctonos y los alóctonos procedentes de animales y humanos se encuentran y ponen en marcha un festín de intercambio de genes de resistencia.
- Las cepas resistentes pueden pasar a los alimentos durante el sacrificio de los animales y posterior manipulación.

Algunas cepas pueden desarrollar co-resistencias con otros agentes antimicrobianos empleados en las industrias agroalimentarias, como las sales de metales pesados, o los biocidas, ampliamente utilizados en los procesos de desinfección y limpieza. En la actualidad, se está evaluando la posibilidad de que el empleo indiscriminado de biocidas esté incrementando la prevalencia de cepas resistentes a antibióticos en la cadena alimentaria, y los estudios realizados por nuestro grupo y por otros investigadores apuntan en esta dirección.

## **LAS CONSECUENCIAS DEL DESARROLLO MASIVO DE RESISTENCIAS**

De acuerdo con los informes de la Organización Mundial de la Salud, las estimaciones sobre el número de personas que fallecen anualmente debido a infecciones por bacterias resistentes a antibióticos oscilan entre 25.000 en Europa y 23.000 en Estados Unidos (9). Los costes asociados a la resistencia a antibióticos se estiman en más de

1.5 billones de euros en Europa, y entre 20 y 35 billones de dólares en los Estados Unidos de forma directa o indirecta.

Ante este fenómeno alarmante, cabe preguntarnos: ¿Nos estamos quedando sin antibióticos?

Según la Agencia Europea del Medicamento, de momento solo existen dos nuevos antibióticos en proceso de desarrollo. Las causas de este déficit en la puesta de nuevos antibióticos en el mercado se pueden atribuir a varios factores, entre los que podemos destacar:

- El aparente agotamiento de las fuentes naturales clásicas de bacterias productoras de antibióticos.
- El elevado coste que supone para la industria farmacéutica el desarrollo de un nuevo antimicrobiano, que puede oscilar entre 800 y 1700 millones de dólares.
- El riesgo de desarrollo de resistencias de forma rápida compromete su periodo de explotación.
- Los nuevos antibióticos se suelen utilizar como terapia de reserva o como último recurso, en tanto que los convencionales (muchos de ellos genéricos) se utilizan como primera opción. Esto merma su rendimiento económico.
- Los antibióticos son menos rentables en comparación con otros fármacos, ya que solo se administran durante un corto periodo de tiempo.

Algunos expertos hablan ya de la era postantibiótica, que implicaría un siglo de retroceso en nuestra lucha contra los microbios. El desarrollo de resistencias a los agentes antimicrobianos podría suponer y de hecho ya lo es en numerosos casos un grave problema para las personas afectadas por algún tipo de inmunodeficiencia, las sometidas a trasplantes u otros tipos de cirugía, irradiación, o las que llevan algún tipo de implante, entre otras, ya que corren el riesgo de padecer infecciones intratables con consecuencias fatales. Gran parte de los avances médicos para mejorar nuestra salud y prolongar nuestra longevidad podrían verse seriamente comprometidos. En el ámbito de la salud animal, la propagación de resistencias podría comprometer la cría intensiva de animales y el suministro de alimentos que demanda nuestra sociedad, convirtiendo el crecimiento actual de la población humana en algo insostenible y provocando cambios profundos en nuestros hábitos de consumo y en la economía mundial.

## QUÉ ALTERNATIVAS TENEMOS ANTE ESTE INMENSO DESAFÍO?

La evolución, incluyendo la del conocimiento científico, nos demuestra que los grandes avances son consecuencia en la mayoría de las veces de grandes cambios en el enfoque con que se abordan los problemas, cambios que casi siempre son posibles gracias al desarrollo de nuevas herramientas que alguien tiene la genialidad de utilizar de una forma diferente. La multidisciplinaridad resulta, pues, esencial para plantear soluciones que sean verdaderamente innovadoras. Y aquí me permito resaltar la importancia de la investigación básica para proporcionar herramientas que permitan alcanzar posteriormente nuevos avances en investigación aplicada.

El conocimiento científico avanza de forma exponencial con una pendiente nunca antes vista. El desarrollo de superordenadores con una elevada capacidad de cálculo, la bioinformática, la robótica, y la bioquímica del ADN han permitido avances revolucionarios en lo que ahora se conocen como tecnologías de secuenciación masiva. El esfuerzo titánico que supuso secuenciar y analizar el genoma humano queda ahora ensombrecido por la facilidad con que se puede secuenciar el genoma de una cepa bacteriana y comparar su código de secuencias con los de otros microorganismos. Es como comparar su manual de instrucciones con otros. Dicho sea de paso, el análisis comparativo de manuales de instrucciones no lleva a la conclusión de que las bacterias tienen una enorme capacidad para copiar y hacer suyo parte del texto de otros manuales, así como para editarlo y adaptarlo a las circunstancias siempre cambiantes a que se enfrentan, entre ellas las estrategias de los humanos para intentar controlarlas.

El estudio de los genomas bacterianos ha dado lugar a nuevas disciplinas, como las denominadas metagenómica, transcriptómica, proteómica, o metabolómica. La información disponible sobre los genomas bacterianos nos permite conocer mejor los mecanismos de adaptación a los antibióticos, y también abre las puertas para la identificación de posibles nuevas dianas para el desarrollo de agentes quimioterápicos y, posiblemente, para evitar o paliar el desarrollo de resistencias. Una vez conocidas las posibles proteínas que codifica cada genoma bacteriano, éstas se pueden comparar con las del genoma humano a fin de descartar aquellos genes que codifican para proteínas análogas a las humanas y así poder desarrollar antimicrobianos menos tóxicos. A continuación, se determina cuáles de los restantes genes codifican para proteínas únicas y esenciales para la célula bacteriana. Éstas se agrupan en clases funcionales, y posteriormente se escogen aquellas que son consideradas más idóneas como posibles dianas para el desarrollo de nuevos fármacos. El paso siguiente es encontrar o diseñar, bien in vitro o in silico, compuestos capaces de bloquear la actividad de las proteínas esenciales detectadas. Por otra parte, el mejor conocimiento de la maquinaria biológica

de los microorganismos permite diseñar antimicrobianos frente a nuevas dianas, como es el caso de los interruptores de ARN o riboswitches y el nuevo antibiótico conocido como ribocil, que actúa frente al riboswitch para la síntesis de riboflavina (10).

La ingente cantidad de información disponible sobre el material genético de las bacterias permite realizar estudios de rastreo de genomas con la finalidad de identificar potenciales nuevos agentes antimicrobianos. Muchos de los genes presentes en un genoma bacteriano no llegan a expresarse, porque a lo largo de la evolución han quedado inactivados debido a mutaciones o reorganizaciones del material genético. Mediante el rastreo de genomas es posible identificar genes implicados en rutas de biosíntesis de antibióticos y devolverles su funcionalidad, así como recomponer rutas biosintéticas que estaban inactivas. Esto permite desarrollar cepas microbianas que produzcan nuevos antibióticos o bien variantes de los ya conocidos, como es el caso de las estambomicinas recientemente descritas en *Streptomyces ambofaciens*, las cuales representan una familia de macrólidos glicosilados con actividad antibacteriana y antitumoral (11).

Cabría destacar en este apartado la posible utilidad de las bases de datos de material genético inespecífico obtenido de fuentes naturales como los océanos, los fondos marinos o los ambientes terrestres, que puede servir de material de partida para la identificación in silico de potenciales nuevos antibióticos. Las propias fuentes naturales antes mencionadas pueden albergar microorganismos productores de nuevos tipos de antimicrobianos. Se estima, por ejemplo, que alrededor del 95% de los microorganismos del suelo no han sido nunca cultivados en laboratorio, por lo que desconocemos el potencial de esta “materia oscura microbiana” como fuente de nuevos antibióticos. Además de los estudios in silico basados en la metagenómica, se están desarrollando dispositivos miniaturizados que permiten rastrear la producción de antibióticos en los propios ambientes donde se encuentran estos microorganismos, y donde se dan las condiciones naturales para su multiplicación que nosotros no conseguimos reproducir en laboratorio (12). De esta forma ha sido posible aislar la teixobactina, un nuevo tipo de antibiótico producido por una beta-proteobacteria denominada *Eleftheria terrae* (13, 14). Este antibiótico interfiere con los lípidos implicados en la biosíntesis de la pared celular bacteriana, una diana poco proclive al desarrollo de resistencias.

## EL CONTROL BIOLÓGICO

### *Los péptidos antimicrobianos*

Entre los nuevos candidatos para combatir a las bacterias destacan los péptidos antimicrobianos, que por otra parte son ampliamente utilizados por las bacterias para mantener su territorio libre de invasores (15). Otros, forman parte del sistema de inmunidad natural de los seres vivos. La colistina, una de los primeros péptidos antimicrobianos conocidos, ha saltado de nuevo al candelero como posible alternativa frente a bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a todos los antibióticos de uso clínico disponibles. Sin embargo, la elevada toxicidad de la colistina a nivel renal limita seriamente su uso terapéutico en humanos. Las bacterias, en especial las del género *Bacillus*, destacan por su gran capacidad de producir una amplia diversidad de péptidos antimicrobianos, como polimixinas y colistinas, bacitracinas, o subtilinas. La nisina es también un péptido antimicrobiano, producido por bacterias del ácido láctico, análogo a la subtilina producida por *Bacillus subtilis*. Otra molécula interesante es el péptido cíclico conocido como enterocina AS-48, producido por enterococos, al cual he dedicado gran parte de mi carrera investigadora. Los estudios preliminares sobre su uso tópico han demostrado resultados prometedores frente al acné. Existen otras bacteriocinas cíclicas similares a AS-48 en su estructura, cuyo potencial terapéutico está por determinar o bajo investigación. Así mismo, al igual que en el caso de los antibióticos clásicos, se han desarrollado también programas informáticos capaces de rastrear los genomas bacterianos en búsqueda de posibles nuevos péptidos antimicrobianos, y detectar secuencias codificadoras de dominios activos presentes en péptidos antimicrobianos ya conocidos, o de enzimas implicadas en su biosíntesis o modificación.

En la actualidad se están realizando numerosos estudios destinados a incrementar el espectro de acción y la potencia de estos péptidos antimicrobianos mediante mutagénesis dirigida, mejorando su farmacocinética y disminuyendo sus posibles efectos tóxicos. También resulta interesante la síntesis química de péptidos que emulan el centro activo de sus homólogos naturales.

Los péptidos antimicrobianos son también una herramienta interesante para combatir la transmisión de patógenos a lo largo de la cadena alimentaria. La nisina está autorizada como bioconservante en más de 50 países. Así mismo, la enterocina AS-48 ha mostrado excelentes resultados en los diferentes sistemas alimentarios en que ha sido ensayada por nuestro grupo y por colegas de otras universidades. En uno de dichos estudios, la enterocina AS-48 aplicada en combinación con tratamientos por alta presión hidrostática incrementó la inactivación de estafilococos resistentes a

metilina. Los péptidos antimicrobianos presentan la ventaja de no inducir resistencias cruzadas con los antibióticos de uso clínico, por lo que podrían ser una buena alternativa como barreras frente a la transmisión de bacterias (incluyendo las portadoras de resistencias a antibióticos) a lo largo de la cadena alimentaria. Así mismo, existen numerosos estudios orientados a utilizar preparados de péptidos antimicrobianos o bien de las cepas bacterianas que los producen para combatir a las bacterias patógenas en sus reservorios naturales como puede ser el tracto digestivo de los animales de granja. De forma particular, el uso de bacterias probióticas productoras de péptidos antimicrobianos podría ser una alternativa o al menos un complemento al empleo de antibióticos en la cría intensiva de animales de granja.

### ***Los bacteriófagos***

Entre los métodos biológicos de lucha contra los patógenos resistentes a antibióticos cabe destacar también la terapia fágica. Los bacteriófagos son virus que atacan a las bacterias. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo de hecho los agentes biológicos más abundantes en número, con una población global estimada entre  $10^{30}$  y  $10^{32}$  partículas. En la naturaleza, se encargan de controlar de forma natural a las poblaciones bacterianas en diversos ambientes. A diferencia de los antibióticos, que son bastante inespecíficos, los bacteriófagos son altamente específicos. Por consiguiente, tienen un menor impacto sobre la microbiota del ambiente donde se aplican y no dan lugar a resistencias transferibles. Tampoco originan co-resistencias con los antibióticos, y en su mayoría carecen de toxicidad frente a células eucariotas. Los bacteriófagos se empezaron a estudiar como agentes terapéuticos frente a las infecciones bacterianas allá por los años 20, pero precisamente, el desarrollo de la penicilina y el inicio de la era de los antibióticos hicieron que su estudio pasase a segundo plano. La excepción fueron algunos países del Este de Europa en la época de la Guerra Fría, por su mayor dificultad para acceder al mercado de los antibióticos. En las últimas décadas, sin embargo, los bacteriófagos se han vuelto a plantear como alternativa al uso de los antibióticos, con posibles aplicaciones en diferentes ámbitos de la salud humana y animal, algunas de ellas en fase clínica de ensayo (16, 17). Ello ha dado lugar a la creación de empresas biotecnológicas que se dedican a elaborar bancos de bacteriófagos aislados de fuentes naturales, de cara al desarrollo de preparados comerciales. De este modo, se podrían seleccionar preparados de fagos personalizados frente a cepas bacterianas resistentes a antibióticos causantes de infecciones nosocomiales tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, y cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* portadoras de gene de resistencia a beta-lactamasas de amplio espectro.

En los estudios realizados en modelos animales se ha comprobado que los bacteriófagos se pueden administrar por diferentes vías: parenteral, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, tópica, así como por inhalación o por vía oral, dependiendo de la bacteria a controlar y su localización. A modo de ejemplo, la inoculación intramuscular de un preparado de fagos R específicos para *Escherichia coli* mostró una elevada eficacia en el control de la septicemia provocada de forma experimental por esta bacteria en pollos así como de la meningitis en terneros. En cuanto al uso tópico, cabe destacar el preparado desarrollado por el Instituto Eliava de Georgia denominado Phagebioderm®, consistente en un hidrogel impregnado de fagos y antibióticos para combatir las infecciones cutáneas provocadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* y *Streptococcus* spp. Así mismo, la compañía francesa Pherecydes Pharma ha desarrollado preparados de bacteriófagos que están en fase clínica de ensayo frente a infecciones severas de quemaduras por *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La empresa Novolytics del Reino Unido trabaja en el desarrollo de geles para aplicación nasal en individuos portadores de estafilococos resistentes a metilicina, y la empresa australiana AmpliPhi trabaja en el desarrollo de preparados de bacteriófagos frente a la rinosinusitis crónica por *S. aureus*. En el ámbito de la salud animal, cabe destacar los estudios con preparaciones de bacteriófagos para uso tópico en el tratamiento de otitis canina provocada por *Pseudomonas aeruginosa*.

También es interesante la aplicación de bacteriófagos mediante inhalación, para el control de bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Bulkorderia cepacia* en infecciones de las vías respiratorias, especialmente en humanos afectados de fibrosis quística. O en pollos, para controlar infecciones por *E. coli*.

En cuanto a la aplicación de bacteriófagos por vía oral, la aplicación de técnicas de microencapsulación disminuye la inactivación de las partículas de fagos en su paso por la barrera gástrica, permitiendo una mayor eficacia en el control de patógenos entéricos, en especial frente a *E. coli* y *Salmonella*. Estudios más recientes también apuntan su utilidad frente a *Campylobacter*, reduciendo los niveles de portadores en aves de granja, o incluso en el control de clostridios en el intestino.

Un aspecto muy interesante es el posible uso de los bacteriófagos en el control de la transmisión de bacterias patógenas a través de los alimentos. Entre ellos destaca ListShield™, un preparado de fagos frente a *Listeria monocytogenes* desarrollado por la compañía americana Intralyx aprobado por la FDA, el Departamento de Agricultura USDA y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para reducir la contaminación por esta bacteria en plantas de procesamiento de alimentos y establecimientos donde se manipulan alimentos. También destaca el producto comercial Listex™ P100" (EBI,

Holanda) para aplicación en alimentos, reconocido por diferentes agencias (FDA, USDA y EFSA) como seguro (18). La compañía Intralyx ha comercializado también preparados de fagos para uso alimentario frente a *E. coli* (EcoShield™) y *Salmonella* (SalmoFresh™ y SalmoLyse™). Otros preparados (como BacWash, de Omnilytics, USA) se recomiendan para reducir la carga superficial de *Salmonella* en animales antes del sacrificio, o bien como preparaciones de amplio espectro frente a *E. coli* y *Salmonella* para uso en productos agroalimentarios en general (ELICOSALI®, Instituto Eliava, Georgia).

## EL DESARROLLO DE NANOMATERIALES

La solución frente a la resistencia masiva a agentes antimicrobianos podría venir también de la mano de la nanotecnología (19). Una de las aproximaciones más prometedoras se basa en el empleo de nanopartículas. Estas se definen como partículas microscópicas con un tamaño comprendido entre 1 y 100 nm. Existen varios tipos de nanopartículas cargadas con agentes antimicrobianos, como las recubiertas con quitosano o con metales pesados, o las que liberan óxido nítrico. La utilización de nanopartículas permite también reducir la citotoxicidad de los agentes antimicrobianos empleados, como en el caso de los metales pesados. También se pueden cargar con más de un agente antimicrobiano, lo que incrementa su potencia por los efectos sinérgicos que se producen entre ellos, a la vez que dificulta el desarrollo de resistencias ya que es más difícil que se acumulen mutaciones para las diferentes dianas sin que ello conlleve un alto coste adaptativo para la bacteria. Este tipo de nanopartículas permiten incluso contrarrestar la resistencia previa a determinados antibióticos. Por ejemplo, las nanopartículas cargadas con quitosano y vancomicina son activas frente a cepas de *S. aureus* resistentes a este antibiótico. Las nanopartículas se pueden emplear también para contrarrestar la impermeabilidad de la célula bacteriana a los antibióticos y para incrementar la concentración de antimicrobianos en el lugar de la infección e incluso en la superficie bacteriana, disminuyendo así la dosis requerida. Los aptámeros son un tipo especial de nanopartículas compuestas por oligonucleótidos de ADN o ARN plegados formando una estructura tridimensional definida. Los aptámeros se unen con gran afinidad a antígenos específicos como péptidos y pequeñas moléculas, lo que permite dirigirlos y concentrarlos al sitio de infección o a la superficie bacteriana (20). Dentro de este apartado cabe citar también otros nanomateriales como los dendrímeros y los fulerenos, que permiten la unión de grupos funcionales con actividad antimicrobiana, o los complejos formados por metales de transición con diaminas y aminoácidos (2).

A lo largo de este discurso he querido ilustrar las limitaciones y oportunidades en el desarrollo de herramientas para combatir el fenómeno de la resistencia a los agentes antimicrobianos. No obstante, no debemos olvidar que los microorganismos llevan habitando la Tierra alrededor de 3.500 millones de años. Durante todo este tiempo, han sido entrenados para adaptarse a las condiciones más inhóspitas, en equilibrio dinámico con el resto de seres vivos. Nuestra carrera contra ellos no ha hecho más que empezar.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Clemente, J.C., Pehrsson, E.C., Blaser, M.J., Sandhu, K., Zhan Gao, Wang, B., et al. 2015. The microbiome of uncontacted Amerindians. *Sci Adv* 1(3), e1500183.
2. Perron, G.G., Whyte, L., Turnbaugh, P.J., Goordial, J., Hanage, W.P., Dantas, G., Desai, M.M. 2015. Functional characterization of bacteria isolated from ancient arctic soil exposes diverse resistance mechanisms to modern antibiotics. *PLoS One* 10(3), e0069533.
3. Perry, J., Waglechner, N., Wright, G. 2016. The Prehistory of Antibiotic Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6(6), pii: a025197.
4. Kashuba, E., Dmitriev, A.A., Kamal, S.M., Melefors, O., Griva, G., Römling, U., et al. 2017. Ancient permafrost staphylococci carry antibiotic resistance genes. *Microb Ecol Health Dis* 28(1),1345574.
5. Lupo, A., Coyne, S., and Berendonk, T.U. 2012. Origin and evolution of antibiotic resistance: the common mechanisms of emergence and spread in water bodies. *Front Microbiol* 3, 18.
6. FDA (Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services). 2015. Summary report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals. <https://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM534243.pdf>
7. Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., et al. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *PNAS* 112, 5649-5654.
8. FDA (Food and Drug Administration). 2012. Guidance for Industry: The Judicious Use of Medically Important Antimicrobial Drugs in Food-Producing Animals. Washington, DC U.S.
9. WHO. 2014. Antimicrobial resistance global report on surveillance. Switzerland: World Health Organization, 2014. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
10. Rekan, I.H., Brenk, R. 2017. Ligand design for riboswitches, an emerging target class for novel antibiotics. *Future Med Chem* 9(14),1649-1662.
11. Laureti, L., Song, L., Huang, S., Corre, C., Leblond, P., Challis, G.L., Aigle, B. 2011. Identification of a bioactive 51-membered macrolide complex by activation of a silent polyketide synthase in *Streptomyces ambofaciens*. *PNAS* 108, 6258–6263.
12. Sherpa, R.T., Reese, C.J., Montazeri Aliabadi, H. 2015. Application of iChip to Grow “Uncultivable” Microorganisms and its Impact on Antibiotic Discovery. *J Pharm Pharm Sci* 18(3), 303-315.
13. Ling, L.L., Schneider, T., Peoples, A.J., Spoering, A.L., Engels, I., Conlon, B.P., et al. 2015. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 517(7535), 455-459.
14. Fiers, W.D., Craighead, M., Singh, I. 2017. Teixobactin and Its Analogues: A New Hope in Antibiotic Discovery. *ACS Infect Dis* 3(10), 688-690.

15. Cavera, V.L., Arthur, T.D., Kashtanov, D., Chikindas, M.L. 2015. Bacteriocins and their position in the next wave of conventional antibiotics. *Int J Antimicrob Agents* 46, 494–501.
16. Lin, D.M., Koskella, B., Lin, H.C. 2015. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 8(3),162-173.
17. Wernicki, A., Nowaczek, A., Urban-Chmiel, R. 2017. Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virology* 14(1),179.
18. Pérez Pulido, R., Grande Burgos, M.J., Gálvez, A., Lucas López, R. 2016. Application of bacteriophages in post-harvest control of human pathogenic and food spoiling bacteria. *Crit Rev Biotechnol* 36, 851 - 861.
19. Rai, M., Ingle, A.P., Gaikwad, S., Gupta, I., Gade, A., Silvério da Silva, S. 2016. Nanotechnology based anti-infectives to fight microbial intrusions. *J Appl Microbiol* 120, 527–542.
20. Davydova, A., Vorobjeva, M., Pyshnyi, D., Altman, S., Vlassov, V., Venyaminova, A. 2016. Aptamers against pathogenic microorganisms. *Crit Rev Microbiol* 42(6), 847-865.
21. Lind, T.K., Polcyn, P., Zielinska, P., Cardenas, M. and Urbanczyk-Lipkowska, Z. 2015. On the antimicrobial activity of various peptide-based dendrimers of similar architecture. *Molecules* 20, 738-753.