

Las endolisinas de fagos como una fuente alternativa para la eliminación de bacterias multirresistentes

Victor Rivelino Juárez-González^{1,2} **iD**, Victor Hugo Guadarrama-Pérez¹ **iD**, David Vasco-Julio^{3,4} **iD**, Elian Yuritzi Alegría-Herrera⁵ **iD**, Jesús Hernández-Romano^{6*} **iD**

¹Dirección de Posgrado en Ciencias en Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México. CP.62550. ²Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. México. CP: 62210. ³Posgrado en Ciencias Biológicas, Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso, Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, CDMX, México. ⁴Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca C.P. 62050, México. ⁵Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186, Col. Leyes de Reforma 1 A Sección, Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09310, CDMX, México. ⁶Dirección de Ingeniería en Tecnología Ambiental y Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México. CP.62550.

Email de autor para correspondencia: *jhernandez@upemor.edu.mx

Recibido: 21 febrero 2024. **Aceptado:** 20 junio 2024

RESUMEN

En los últimos 20 años, el uso indiscriminado de antibióticos en humanos para el tratamiento de enfermedades bacterianas, ha promovido el rápido desarrollo de microorganismos multidrogorresistentes (MDR). La Organización Mundial de la Salud (OMS) liberó en 2017 una lista de bacterias para las que se requieren urgentemente nuevos antibióticos, clasificándolas en tres categorías: 1) crítica, 2) de alta prioridad o 3) media prioridad. Dichas cepas, si no son atendidas en el corto plazo, probablemente provoquen una nueva pandemia silenciosa, de la cual ya se tiene los primeros atisbos.

Los bacteriófagos o fagos son virus que infectan únicamente a bacterias. Una vez dentro de ellas y al final de su ciclo replicativo, tienen la capacidad de degradar el peptidoglicano que forma la pared celular de dichos microorganismos, utilizando para ello enzimas conocidas como endolisinas, provocando la muerte de las bacterias por medio de lisis celular, liberándose así la nueva progenie de viriones. La ausencia de una membrana externa en las bacterias Gram-positivas, permitiría que las endolisinas puedan llegar al peptidoglicano y destruir estos microorganismos cuando sean aplicadas externamente como medio terapéutico. De igual forma, se han caracterizado endolisinas fágicas que

tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias Gram-negativas. Esta interesante característica de degradación de la pared celular, ocasiona que las endolisinas sean consideradas posibles candidatos a agentes antimicrobianos, debido al actual aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos.

Palabras clave: Endolisinas; fagos; cepas multidrogorresistentes; antibióticos; pandemia.

ABSTRACT

Over the past 20 years, the indiscriminate use of antibiotics in humans for the treatment of bacterial diseases has promoted the rapid development of multidrug-resistant (MDR) microorganisms. The World Health Organization (WHO) released in 2017 a list of bacteria for which new antibiotics are urgently required, classifying them into three categories: 1) critical, 2) high priority or 3) medium priority. These strains, if not addressed in the short term, are likely to cause a new silent pandemic, of which we already have the first glimpses.

Bacteriophages or phages are viruses that infect only bacteria. Once inside them and at the end of their replicative cycle, they have the capacity to degrade the peptidoglycan that forms the cell wall of these microorganisms, using enzymes known as endolysins, causing the death of the bacteria by means of cell lysis, thus releasing the new progeny of virions. The absence of an external membrane in Gram-positive bacteria would allow endolysins to reach the peptidoglycan and destroy these microorganisms when applied externally as a therapeutic means. Similarly, phage endolysins have been characterized that have the ability to inhibit the growth of Gram-negative bacteria. This interesting characteristic of cell wall degradation causes endolysins to be considered as possible candidates for antimicrobial agents, due to the current increase in bacterial resistance to antibiotics.

Keywords: Endolysins; phages; multidrug-resistant strains; antibiotics; pandemic.

INTRODUCCIÓN

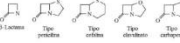
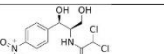
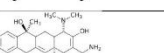
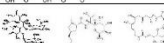
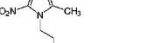
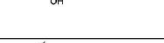
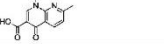
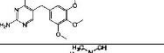
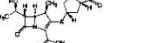
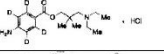
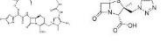
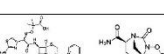
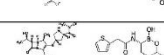
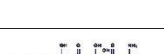
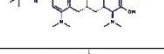
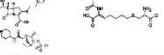
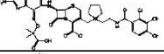
Historia de los antibióticos y la Organización Mundial de la Salud

Están por cumplirse 100 años desde el descubrimiento de la penicilina como el primer antibiótico en la historia de la humanidad, encontrado por el médico y científico escocés Alexander Fleming, observando de forma casual los efectos del antibiótico obtenido del hongo *Penicillium notatum*, sobre un cultivo bacteriano el 28 de septiembre de 1928 [1, 2]. A partir de ese momento se establecieron las bases para la producción y distribución a gran escala de penicilina a mediados de los años 40s [1, 3]. El inicio de la época dorada de los antibióticos sucedió en la década de los años 40s y 60s descubriéndose nuevos antibióticos (Tabla 1), permitiendo a lo largo de esas décadas un gran avance en la medicina moderna, salvando millones de vidas [4]. A partir de esa fecha hasta la actualidad, ha existido una disminución en la generación de nuevas clases de antibióticos (Tabla 1) [3, 5].

La alta tasa de mutación espontánea durante la replicación bacteriana y los ciclos de vida de minutos de las nuevas generaciones bacterianas, unido al uso excesivo y descontrolado de los antibióticos convencionales, han generado la existencia de bacterias multirresistentes o multidrogorresistentes (MDR) a diferentes tipos de antibióticos (Figura 1) [35, 36]. El gran aumento de estas bacterias MDR ha provocado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) diera a conocer en el año 2017, la lista de bacterias para las que se requieren

urgentemente nuevos tipos de antibióticos, clasificándolas en tres distintas categorías [37]: 1) crítica, 2) de alta prioridad, 3) media prioridad (OMS 2017). La primera categoría está integrada por bacterias encontradas principalmente en hospitales, entre las que destacan *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Serratia* spp., y *Proteus* spp., provocando infecciones muy graves y letales como neumonías y bacteriemias, mostrando resistencia a antibióticos carbapenémicos, b-lactámicos y cefalosporinas de tercera generación (OMS 2017). La segunda categoría está formada por bacterias como: *Enterococcus faecium* (resistente a vancomicina y es responsable de infecciones como endocarditis e infecciones urinarias), *Staphylococcus aureus* (resistente a meticilina y relacionada a infecciones en piel y tejidos blandos), *Helicobacter pylori* (resistente a claritromicina y asociada a ulcera gástrica y cáncer gástrico), *Campylobacter* spp. (resistente a fluoroquinolonas y causante de infecciones gastrointestinales invasivas), *Salmonella* spp. (resistente a fluoroquinolonas y relacionada con diversas infecciones, desde leves a severas, por ingerir alimentos contaminados, como carnes, lácteos y aguas), *Neisseria gonorrhoeae* (resistente a cefalosporinas y fluoroquinolonas, es el agente que provoca la gonorrea). La tercera categoría se encuentra formada por *Streptococcus pneumoniae* (presenta susceptibilidad disminuida a penicilina, está relacionada con infecciones como otitis media aguda, sinusitis y neumonía), *Haemophilus*

Tabla 1. Introducción de las diferentes clases de antibióticos a nivel mundial. A lo largo de este período de tiempo (1935-2024), se ha generado esta diversidad de antibióticos. Se destaca su modo de acción y estructura química.

Año de introducción	Clase de antibiótico	Mecanismo de acción	Bacteria diana según su clasificación Gram	Estructura química	Ref.
1935	Sulfonamidas	Inhiben vías metabólicas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[6]
1941	Betalactámicos	Inhiben síntesis de la pared celular	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[7]
1944	Aminoglucósidos	Inhiben la traducción	Inhiben bacterias Gram-negativas		[8]
1949	Cloranfenicol	Inhiben la traducción	Amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[9]
1950	Tetraciclinas	Inhiben la traducción	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[10]
1952	Macrólidos/Lincosamidas/Estreptograminas	Inhiben la traducción	Inhiben bacterias Gram-positivas		[11-13]
1956	Glicopéptidos	Inhiben la síntesis de la pared celular	Inhiben bacterias Gram-positivas		[14]
1957	Rifamicinas	Inhiben la ARN polimerasa	Inhiben bacterias Gram-positivas		[15]
1959	Nitroimidazoles	Alteran la integridad del ADN	Inhiben bacterias Gram-positivas principalmente bacterias anaerobias obligadas		[16]
1962	Quinolonas	Inhiben la ADN girasa	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[17]
1968	Trimetroprima	Inhiben vías metabólicas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[18]
1996	Meropenem	Inhibidor de la síntesis de pared celular	Amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[19]
2000	Oxazolidinonas	Inhiben del inicio de la traducción	Inhiben bacterias Gram-positivas		[20]
2011	Lipiamicina	Inhiben síntesis de proteínas	Inhiben bacterias Gram-positivas		[21,22]
2013	Eravacyclina	Inhiben la traducción	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[23]
2014	Ceftolozano/Tazobactam	Inhibidor de betalactamasas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[24]
2014	Ceftazidime/Avibactam	Inhiben la síntesis de la pared celular y de betalactamasas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[24,25]
2014	Meropenem/Vaborbactam	Inhibidor de síntesis de pared celular y de betalactamasas	Amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[26,27]
2018	Omadacyclina	Inhiben la traducción	Amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[28]
2019	Imipenem/Cilastatin/Rlebactam	Inhibidor de síntesis de pared celular y de betalactamasas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[29]
2019	Cefiderocol	Inhibidor de síntesis de pared celular	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[30]
2020	Plazomicina	Inhiben la traducción	Inhiben bacterias Gram-negativas		[31]
2023	Sulbactam/Durlobactam	Inhibidor de betalactamasas	Inhiben bacterias Gram-negativas		[32]
2024	Zevtera	Inhibidor de betalactamasas	Inhiben bacterias Gram-positivas y Gram-negativas		[33,34]

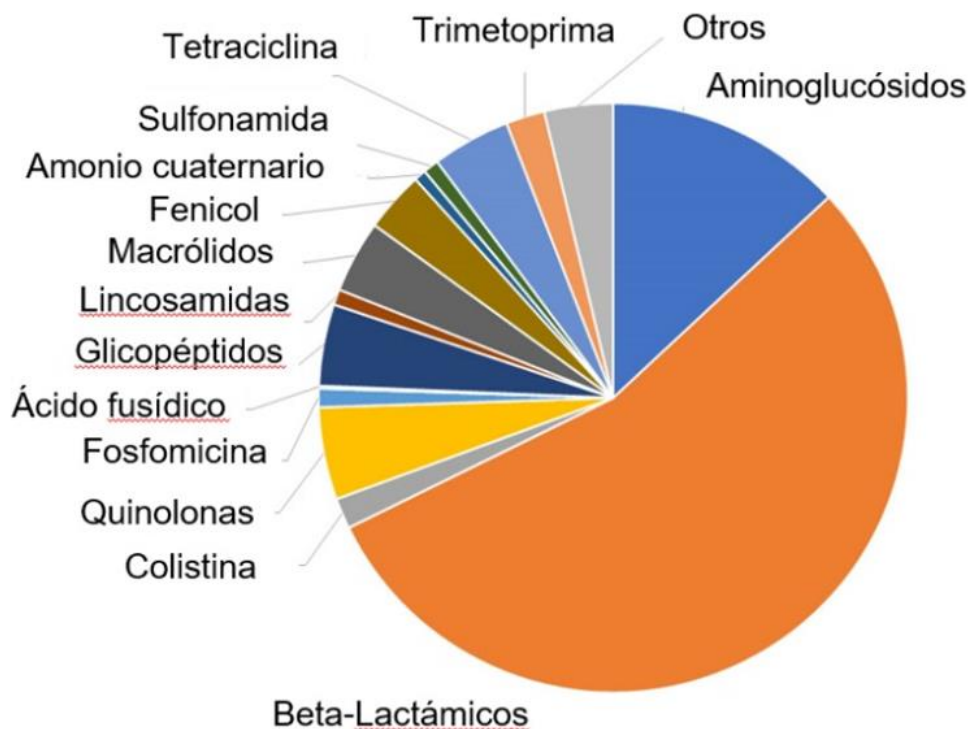


Figura 1. La resistencia de las bacterias multirresistentes a los antibióticos. Imagen modificada de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/antimicrobial-resistance/>



Figura 2. Fagos infectando una bacteria. Imagen tomada de <https://www.ocu.org/alimentacion/seguridad-alimentaria/informe/bacteriofagos>

influenzae (resistente a ampicilina y provocando otitis media aguda, sinusitis, meningitis y neumonías), *Shigella* spp. (resistente a fluoroquinolonas, desencadena infecciones gastrointestinales invasivas) y *Mycobacterium tuberculosis* (resistente a pirazinamida provoca tuberculosis, atacando pulmones, riñones y columna vertebral) [37]. Cada año estas bacterias son responsables de cientos de miles de muertes [38], alterando los tiempos de hospitalización de los enfermos y aumentando los costos de permanencia en hospitales. Se estima que para el año 2050 habrán 444 millones de personas que serán susceptibles a infecciones por bacterias MDR [36]. Con todo lo anterior, es urgente la búsqueda de nuevas fuentes de antibióticos u otras moléculas biológicas, para desarrollar nuevos fármacos más letales contra las bacterias MDR de importancia clínica. Si la problemática de resistencia de dichas cepas no es atendida en los próximos años, probablemente sean a las que nos enfrentaremos en una nueva pandemia silente.

Una de las alternativas a utilizar para inhibir el crecimiento de bacterias multirresistentes, son las endolisinas de fagos o hidrolasas del peptidoglicano, estas hidrolasas pueden actuar de diferentes maneras durante la degradación enzimática del peptidoglicano que compone la pared celular de las bacterias [39].

Los fagos y los requerimientos o permisos necesarios para implementar una terapia fágica en personas enfermas

Los fagos tienen la capacidad de reconocer e infectar a bacterias tanto Gram-positivas como Gram-negativas (Figura 2, 3 y 4). Los fagos en el citoplasma bacteriano pueden degradar el peptidoglicano usando endolisinas al final de su ciclo de replicación, ocasionando muerte en las bacterias por medio de lisis celular para la liberación de la nueva progenie de viriones. La falta de una membrana externa en la pared celular de las bacterias Gram-positivas (Figura 3), facilitaría que las endolisinas puedan llegar al peptidoglicano y matar a estos microorganismos. También, se han caracterizado endolisinas fágicas que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias Gram-negativas (Figura 4) [39]. Interesantemente, la característica de degradar la pared celular, en un contexto asociado al aumento de la resistencia bacteriana a múltiples antibióticos, hace que las endolisinas sean candidatos antimicrobianos para combatir cepas multirresistentes [40]. Incluso ya se han reportado ensayos clínicos en fase II para establecer su eficiencia en el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a los medicamentos [41, 42]. Por ejemplo, la endolisina CF-301 dirigida a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), fue la primera lisina que ingresa a la fase 2 de ensayos en humanos para tratar a pacientes hospitalizados con bacteriemia por MRSA o endocarditis [42, 43].

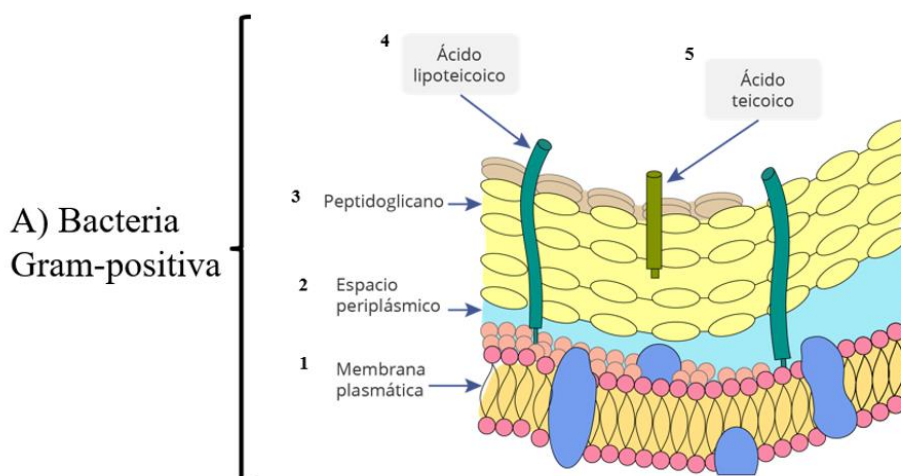


Figura 3. Composición de la envoltura bacteriana. A) Bacteria Gram-positiva. 1- membrana citoplasmática, 2- Espacio periplásmico, 3- Peptidoglicano, 4- Ácido lipoteicoico, 5- Ácido teicoico. Imagen tomada de <https://uapa.cuaieed.unam.mx/sites/default/files/minisite/static/35e41b8a-429d-4a41-a6e9-2e2c6a4e58b7/contenido/index.html>

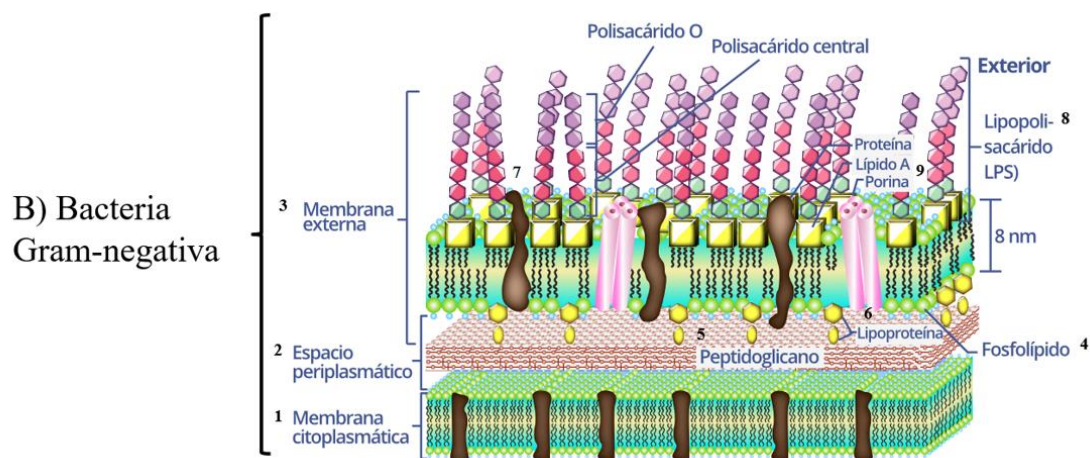


Figura 4. Composición de la envoltura bacteriana. B) Bacteria Gram-negativa. 1- membrana citoplasmática (membrana interna), 2- espacio periplásmico, 3- membrana externa, 4-fosfolípidos, 5- peptidoglicano, 6- lipoproteína, 7- proteínas, 8- lipopolisacáridos, 9- porinas. Imagen tomada de <https://uapa.cuaieed.unam.mx/sites/default/files/minisite/static/35e41b8a-429d-4a41-a6e9-2e2c6a4e58b7/contenido/index.html>

Los requerimientos o permisos necesarios para implementar una terapia de fagos en personas enfermas

La legislación para los trámites de la aplicación de una terapia fágica varía en algunos países, mientras que en otros existe un vacío legal en la aplicación de este tipo de terapias. En EUA, las terapias de fagos aplicadas en los últimos años se encuentran reguladas por la FDA (<https://www.fda.gov/drugs/types-applications/investigational-new-drug-ind-application>) a través del rubro de aplicación de nuevos medicamentos experimentales (IND, por sus siglas en inglés), en el cual se solicita al investigador o empresa una serie de pruebas pre-clínicas y clínicas divididas en tres fases (Figura 5). Por ejemplo, la empresa Biomix (<https://www.biomx.com/>) tiene dos productos en pruebas clínicas fase 2 para el tratamiento de fibrosis quística (BX004) y osteomielitis de pie diabético (BX11) para la infección de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Por otra parte, el gobierno de India intenta promover la aplicación de la terapia fágica a través del consúl de investigación médica (<https://main.icmr.nic.in/>), sin embargo aún no existen regulaciones claras al respecto [44]. En el caso Francia, Reino unido y otros países del oeste de Europa, desde el año 2011, los fagos son considerados como un producto medicinal por la Agencia de Medicinas Europea. Sin embargo, existe la controversia de clasificarlos como un producto biológico según la comisión directiva [45]. La terapia fágica muestra una alternativa que promete resultados a futuro, por

lo que la legislación para las terapias fágicas son necesarias avalando los estándares internacionales (Figura 5).

Pared celular bacteriana

La pared celular es una red covalente rígida situada alrededor de la membrana citoplasmática de las bacterias Gram-positivas (Figura 3) o está presente entre dos membranas, la externa y la interna, como ocurre en las Gram-negativas (Figura 4). La pared celular mantiene la forma de la célula, su integridad estructural y protege a las bacterias de probables lisis por acciones mecánicas u osmóticas [46]. La rigidez de la pared celular ésta relacionada con el número de capas que presenta el peptidoglicano (PG). El PG es un polímero compuesto de unidades alternadas de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) unidos por enlaces β (1 $\rightarrow$ 4) glucosídicos [47, 48]. Estos dos amino azúcares se diferencian debido a un grupo lactilato enlazado a un pentapéptido en el carbono 3' del ácido N-acetilmurámico. El pentapéptido ésta formado de D- y L-aminoácidos, cuya función es unir covalentemente las cadenas de peptidoglicano paralelas y cercanas [49]. Para el caso de las bacterias Gram-positivas, el pentapéptido es formado por L-Ala-D-Glu-D-Lys-D-Ala-D-Ala (Figura 6), mientras que para el caso de las bacterias Gram-negativas el pentapéptido está formado por los aminoácidos: L-Ala-D-Glu-meso-DAP-D-Ala-D-Ala (Figura 7) [47, 50]. Los residuos peptídicos se unen durante el

proceso de transpeptidación (unión de pentapéptidos de diferentes cadenas de peptidoglicano). Algunas bacterias como *Staphylococcus aureus*, llevan a cabo la transpeptidación por medio de “linkers” o

uniones de cinco glicinas (5xGly) [51, 52] . La composición del peptidoglicano varía entre las especies bacterianas, aunque generalmente ésta muy conservada dentro de una misma especie.



Figura 5. El procedimiento metodológico involucrado en la terapia de fagos. Este procedimiento es sugerido para el estudio de muestras clínicas o de hospitales, utilizando microscopía electrónica de transmisión (MET).

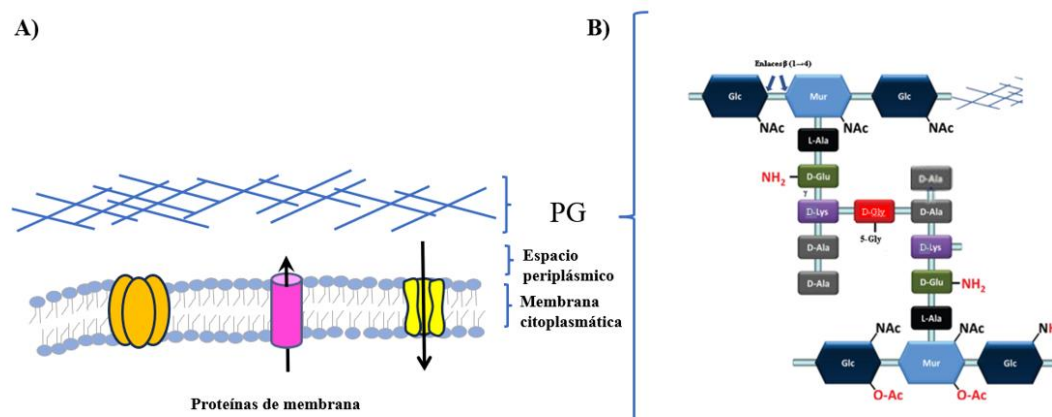


Figura 6. Estructura del peptidoglicano (PG) de la pared celular de bacterias Gram-positivas. A) El PG está afuera de la membrana citoplásmica en una red en color azul marino, B) El PG se muestra la composición de las secuencias alternadas de carbohidratos de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) unidos por enlaces β (1→4). Se destaca la composición de aminoácidos del pentapéptido. Las imágenes fueron modificadas de A) Imagen modificada de Duong et al, (1997). B) Imagen modificada de Chapot-Chartier, M. P., y Kulakauskas, S. (2014) [50].

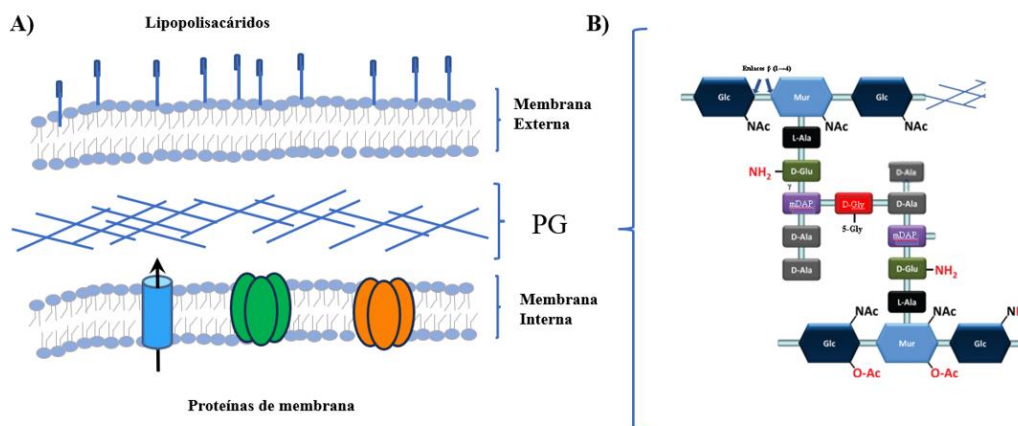


Figura 7. Estructura del peptidoglicano de la pared celular de bacterias Gram-negativas. A) Entre las dos membranas está el PG en una red en color azul marino, B) El PG mostrando la composición de las secuencias alternadas de carbohidratos de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) unidos por enlaces β (1 $\rightarrow$ 4). Se destaca la composición de aminoácidos del pentapéptido. Las imágenes fueron modificadas de A) Imagen modificada de Duong et al, (1997). B) Imagen modificada de Chapot-Chartier, M. P., y Kulakauskas, S. (2014) [50].

Envoltura celular de bacterias Gram-positivas

La envoltura celular de las bacterias Gram-positivas está compuesta principalmente por una capa homogénea de peptidoglicano de 20 a 80 nm de longitud, una membrana citoplasmática y ácidos teicoicos [53] (Figura 3 y 6). Los ácidos teicoicos son polímeros hidrosolubles de fosfatos de polirol que tienen glicerofosfato o residuos de ribitol fosfato (Figura 3). Estos polialcoholes están unidos por enlaces fosfodiéster y se encuentran unidos covalentemente a la membrana citoplasmática a través de glucolípidos (ácidos lipoteicoicos) y al peptidoglicano a través de amino azúcares (ácidos teicoicos de la pared) [54]. Los ácidos teicoicos desempeñan funciones como la determinación de la forma celular, la regulación de la división celular y otros aspectos

fundamentales de la fisiología de bacterias Gram-positivas (elasticidad, porosidad, fuerza tensil y electrostática) [50, 53]. Los ácidos teicoicos son considerados antígenos de la superficie que diferencian frecuentemente los serotipos bacterianos y favorecen la fijación de bacterias a receptores específicos en la superficie de las células eucariotas, desencadenando respuestas inmunitarias semejantes a las de las endotoxinas [50, 55, 56].

Envoltura celular de bacterias Gram-negativas

Las bacterias Gram-negativas presentan una envoltura celular que es química y estructuralmente más compleja que la envoltura que tienen las bacterias Gram-positivas. Esta envoltura está formada por tres diferentes zonas: la membrana citoplasmática, una capa fina de peptidoglicano (2 a 7 nm de grosor) y la

membrana externa (Figuras 4 y 7) [57].

La membrana externa es una bicapa lipoproteica altamente asimétrica, su capa interna contiene fosfolípidos y lipoproteínas de Braun que son las responsables de la unión covalente entre la membrana externa y la cadena de peptidoglicano, la capa externa está compuesta de 60% de proteínas y 40% de lipopolisacáridos (LPS) [57], los cuales están involucrados en muchas de las características antigénicas de cepas específicas de especies bacterianas Gram-negativas. Los LPS son polímeros cargados negativamente y tienden a formar enlaces no covalentes con cationes divalentes como: Ca^{2+} y Mg^{2+} ; esta interacción le confiere estabilidad a la membrana externa y disminuye la entrada de sales biliares, antibióticos y otras sustancias tóxicas que podrían destruir o lesionar a la bacteria [58]. La membrana externa tiene proteínas transmembranales llamadas porinas, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrofílicos de bajo peso molecular como: azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas mayores como la vitamina B12 pueden atravesar la membrana externa utilizando transportadores específicos [58].

La lisis bacteriana es desencadenada por proteínas de fagos

La lisis de las bacterias es provocada por bacteriófagos por un proceso regulado el cual se realiza con dos proteínas: holinas y endolisinas [39]. Las holinas son proteínas de membrana pequeñas que controlan el tiempo de lisis de las

bacterias, cuando éstas alcanzan una concentración crítica en el citoplasma, se agregan a la membrana citoplasmática en forma de oligómeros, causando una pérdida de polarización y dejando expuesta la cadena de PG [42, 59]. Una vez que se permeabilizó la membrana citoplasmática, las endolisinas migran del citoplasma al espacio periplásmico para degradar las cadenas de PG. La ruptura del PG en bacterias Gram-positivas asegura una muerte celular, sin embargo, las bacterias Gram-negativas necesitan de la intervención de una tercera proteína para desintegrar la membrana externa. Las espaninas son proteínas homo o heterodiméricas que se ubican en la envoltura celular, tanto en la membrana externa como en la interna. Cuando la capa de peptidoglicano se encuentra degradada y perforada, las espaninas coordinan la etapa lítica fusionando la membrana interna con la externa [60].

Estructura de las endolisinas de fagos

La estructura que presentan las endolisinas fágicas difiere, dependiendo si van dirigidas a bacterias Gram-positivas o Gram-negativas, esta diferencia se asocia con la arquitectura que tiene la pared celular entre estos dos diferentes grupos bacterianos (Figura 3, 6 y 4, 7) [39]. Las endolisinas que atacan a Gram-positivas han evolucionado para utilizar un diseño modular en donde la actividad catalítica y el reconocimiento del sustrato, se separan en dos dominios funcionales, el primero es el dominio de unión a pared celular (CBD) y el segundo es el dominio enzimáticamente activo (EAD)

como es el caso de la bacteria *Listeria monocytogenes* (Figura 8) [39, 61, 62]. El EAD es el encargado de llevar a cabo el mecanismo catalítico de la enzima (la escisión de los enlaces específicos dentro del peptidoglicano), mientras el dominio CBD dirige la proteína a su sustrato y la mantiene unida firmemente a los residuos de la pared celular incluso después de provocar la lisis, por lo que es probable que se prevenga la difusión y la destrucción posterior de las células intactas circundantes que aún no han sido infectadas por el fago (Figura 8) [63]. Esto no sucede con las Gram-negativas debido a que la membrana externa evita este tipo de daños colaterales, limitando el acceso al espacio periplásmico donde se encuentra el peptidoglicano.

Las endolisinas de fagos que infectan a bacterias Gram-negativas, son en su mayoría pequeñas proteínas globulares de dominio único cuya masa molecular está en el rango de entre 15 y 20 kDa, y generalmente no cuentan con un módulo CBD [64]. Estas endolisinas probablemente desarrollan mejor la función

catalítica de las enzimas clásicas (ayudando a múltiples reacciones catalíticas durante el proceso de lisis celular), en comparación a las Gram-positivas [63], sin embargo, para cada regla siempre existen excepciones, se sabe que la endolisina del fago KZ144 de *Pseudomonas* (Gram-negativa), tiene una arquitectura modular con un CBD N-terminal y un EAD C-terminal (transglucosidasa) (Figura 8) [65, 66]. La parte N-terminal de esta endolisina se une a las paredes celulares de *Pseudomonas aeruginosa* con alta afinidad y tiene la capacidad de reconocer peptidoglicanos de otras bacterias Gram-negativas [65].

Las endolisinas para bacterias Gram-positivas presentan, en su mayoría una orientación opuesta de los módulos funcionales, con un EAD en el extremo N-terminal y un CBD en el extremo C-terminal en el caso más simple como sucede *Listeria monocytogenes* (Figura 8) [63]. Sin embargo, las estructuras de las endolisinas no se limitan necesariamente a solo dos módulos, ya que existen endolisinas fágicas con más de un dominio EAD y/o CDB [67, 68].

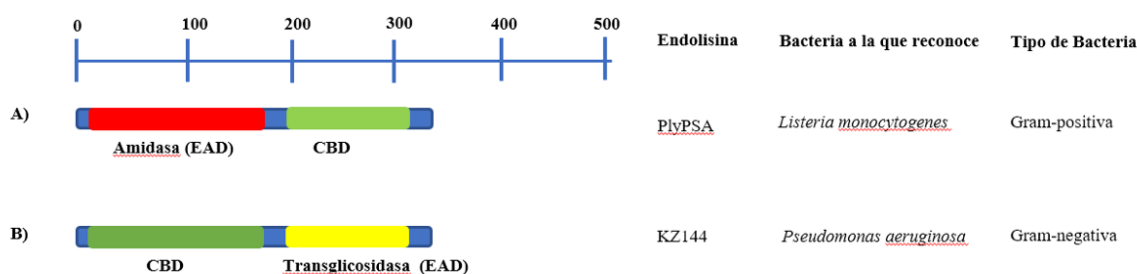


Figura 8. Representación esquemática de las endolisinas de bacteriófagos, destacando su arquitectura modular. El número de aminoácidos de cada dominio: El dominio CBD y el dominio enzimáticamente activo (EAD), de la endolisina PlyPSA que lisa a la bacteria *Listeria monocytogenes* (Gram-positiva) en A) y en B) Los dominios invertidos de la endolisina KZ144 que lisa a la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa). Imagen modificada de Schmelcher *et al.*, (2012) [39].

Actividad enzimática de las endolisinas de fagos

Debido a la estructura general moderadamente conservada del PG, hay un número limitado de enlaces covalentes disponibles para la escisión por endolisinas. Existen cuatro tipos de endolisinas para hidrolizar el PG: glicosidasas, endopeptidasas, amidohidrolasas específicas y transglicosidasas líticas (Figura 9) [69]. Las glicosidasas rompen los enlaces covalentes entre los amino azúcares presentes en el PG, estas endolisinas pueden ser N-acetilglucosamidasa o glucosamidasa (rompen el enlace glucosídico β (1 $\rightarrow$ 4) entre NAG y NAM, liberando el lado reductor de NAG. Las N-acetilmuramidasa o muramidasa (rompen el enlace glucosídico β (1 $\rightarrow$ 4) entre NAG y NAM, liberando el lado reductor de NAM), las muramidasa también son conocidas como lisozimas [42]. Las endopeptidasas se encargan de la hidrólisis del enlace peptídico normalmente compuesto de cinco glicinas (Gly), con la cadena de tetrapéptidos presentes en el ácido N-acetilmurámico (NAM). Esta actividad normalmente solo la presentan endolisinas fágicas que atacan bacterias Gram-positivas, ya que solo éstas presentan dichos enlaces peptídicos [59, 67, 70].

Las aminohidrolasas específicas o amidasa, son responsables de romper uno de los enlaces amida presentes en el radical de tetrapéptidos en el NAM. La N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa escinde el enlace amida que une la cadena de glicano (por medio del residuo de NAM) al tetrapéptido [39, 64, 68]. Esta

actividad se asocia más a endolisinas de bacteriófagos que con autolisinas o exolisinas, la razón de este fenómeno no es clara, ya que la hidrólisis de este enlace separa el polímero (de glicano) del tetrapéptido, se especula que esta actividad es más desestabilizadora para el peptidoglicano que la hidrólisis de otros enlaces y puede ser favorecida evolutivamente por bacteriófagos que requieren una lisis rápida de las células huésped para la diseminación de los fagos [69].

Las transglicosidasas no son consideradas hidrolasas, debido a que no necesitan agua para llevar a cabo la escisión en el PG. Son muy similares a las muramidasa debido a que rompen el enlace β (1 $\rightarrow$ 4) entre los residuos de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El producto de esta escisión es un residuo N-acetil-1,6-anhidro-muramilo, por lo que pertenecen a una clase mecánicamente distinta a las lisozimas [39, 69, 71].

Sinergia de dos agentes antimicrobianos

El tratamiento con dos distintos antimicrobianos usados simultáneamente tiene aspectos muy importantes, como el de generar una cobertura de amplio espectro en simulaciones clínicas donde se desconoce el agente causal de la enfermedad, el tratamiento de las infecciones polimicrobianas, el tratar de reducir el efecto tóxico de determinado fármaco, obtener el efecto sinérgico antibacteriano y finalmente prevenir la resistencia antimicrobiana (Figura 10) [72–75].

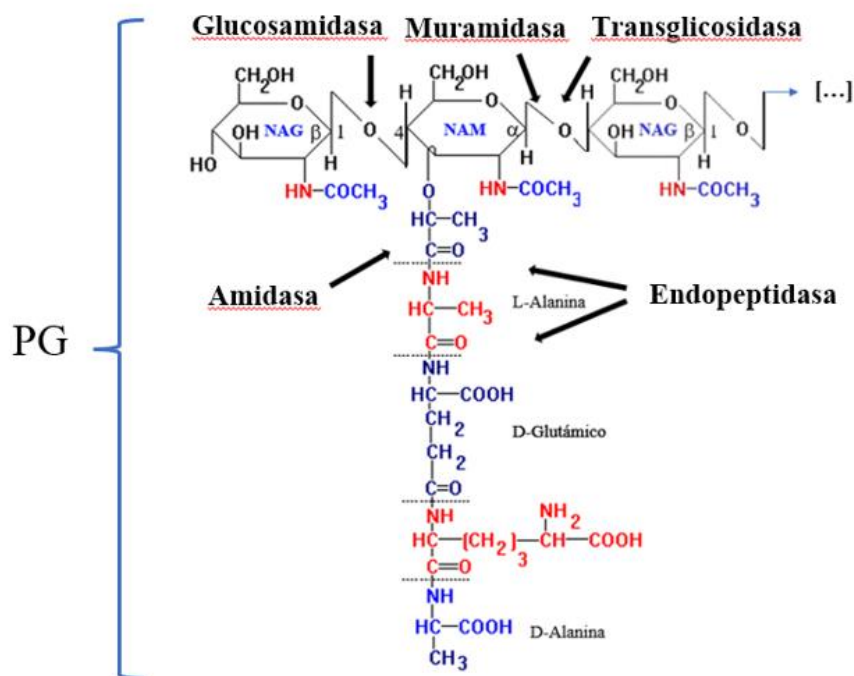


Figura 9. Estructura del peptidoglicano (PG) de la pared celular bacteriana de las bacterias Gram-positivas, mostrando los mecanismos del reconocimiento molecular de las diferentes actividades enzimáticas de las endolisinas de fagos: 1) Glucosamidasa, 2) Muramidasa, 3) Amidasa, 4) Endopeptidasa y 5) Transglicosidasa, las flechas indican los sitios de corte. Imagen modificada de Chapot-Chartier, M. P., y Kulakauskas, S. (2014) [50].

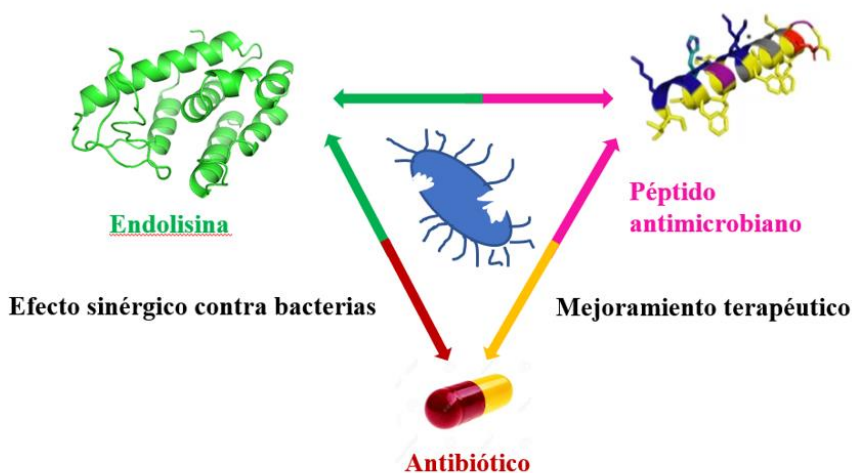


Figura 10. Los efectos sinérgicos de las endolisinas con otras moléculas con actividad antimicrobiana, para inhibir el crecimiento de bacterias multirresistentes.

Se puede evaluar los efectos sinérgicos de las endolisinas fágicas con dos estrategias diferentes. La primera es utilizando dos endolisinas distintas [71] y la segunda es utilizando una endolisina con otras moléculas antimicrobianas (Figura 10) [71, 76–78]. En el caso de las dos endolisinas, estas enzimas deben de reconocer distintas regiones en el peptidoglicano, evaluando la disminución de las dosis requeridas al aplicar ambas endolisinas y mejorando la eficacia del tratamiento. En ese mismo tiempo se puede analizar la disminución de desarrollo de la resistencia bacteriana a ambas endolisinas, al atacar simultáneamente a la bacteria por dos sitios diferentes. Usar dos endolisinas con diferentes sitios de corte en el peptidoglicano, pueden tener un efecto destructivo mejorado, al escindir dos enlaces diferentes al mismo tiempo, generando un efecto más grande sobre el resto de los enlaces del peptidoglicano. La escisión del primer enlace por la primera endolisina podría dar como resultado una mejor accesibilidad al segundo enlace que cortaría la segunda endolisina, generando la degradación más rápida del sustrato.

En la segunda estrategia, la endolisina se combina con otras moléculas antimicrobianas [71, 78]. Se puede analizar el efecto de la endolisina y la otra molécula con efecto antimicrobiano, evaluando la disminución de las dosis requeridas al aplicar ambas moléculas, mejorando la eficacia del tratamiento, analizando la reducción al riesgo de desarrollo de resistencia bacteriana a ambas moléculas al atacar a la bacteria por dos diferentes sitios. La

combinación de las endolisinas con otras moléculas con actividad antimicrobiana, podría ocasionar mayores daños en las superficies de bacterias multirresistentes que difícilmente pudieran generar resistencia microbiana a lo largo de los años.

Eficiencia de las endolisinas

Las endolisinas utilizadas recientemente en contra de bacterias multirresistentes tanto Gram-positivas como Gram-negativas han tenido resultados favorables. En algunos casos se han estudiado las endolisinas naturales de fagos y en otros se han obtenido de manera recombinante y/o quimérica. Por otro lado, algunas endolisinas han sido administradas en cultivos *in vitro* y otros en modelos animales, además, se han combinado con otras sustancias como detergentes o antibióticos. Finalmente, las dosis utilizadas son más pequeñas comparadas con las dosis utilizadas en los antibióticos (Tabla 2). La tecnología de las endolisinas es muy atractiva y prometedora para el futuro tratamiento de infecciones con bacterias multirresistentes en humanos.

Formas de administración de las endolisinas

Las endolisinas se pueden administrar de diferentes formas: sobre una herida evitando contraer una infección cutánea, tal es el caso de las endolisinas Staphfect SA100 y XDR300 las cuales son utilizadas en pacientes con enfermedad crónica en la piel ocasionada *S. aureus* [70]. Por vía intravenosa para las infecciones sistémicas en órganos específicos,

Tabla 2. Resumen de la aplicación de las endolisinas, destacando el tipo, la fuente, los microorganismos y las dosis utilizadas. Se muestran las concentraciones utilizadas y en algunos casos la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y/o la Concentración Mínima Bactericida (CMB).

Endolisina	Tipo de lisina	Fuente	Microorganismo	Dosis	Ref.
Lys1S9LP	Lisina quimérica	Fago SPN1S de <i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i> , <i>A. baumannii</i> y <i>P. aeruginosa</i>	0-40 µM	[79]
PLysChT04	Natural comparada contra antibióticos	Fago ChT04 de <i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	321.5-6215 µg/mL (CMI/CMB)	[80]
LysZX4-NCA	Natural /EDTA	Fago ZX4 de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	100 µg/ mL (CMI) Ratón	[81]
LysAB1245	Natural	Fago T1245 de <i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. aureus</i>	4.68 to 18.72 µg/mL (CMB)	[82]
LisSYL	Natural	Fago SYL de <i>Staphylococcus aureus</i>	Infección por <i>S. aureus</i>	50 mg/Kg Ratón	[83]
PlyKp104	Recombinante	Fago lisogénico de <i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. sonnei</i> y <i>C. freundii</i>	25 µg/mL	[84]
LisZC1	Recombinante /EDTA	Fago ZCPS1 de <i>P. aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	100 µg/mL	[85]

tal es el caso del fármaco SAL200 administrado vía intravenosa, es un fármaco formado por la endolisina fágica SAL-1 para el tratamiento de infecciones generadas por *Staphylococcus aureus* [86].

Finalmente, la administración por vía inhalatoria u oral la endolisina P128, se ha formulado en un hidrogel y los ensayos *in vitro* muestran que esta endolisina, puede lisar con éxito aislados clínicos de *Staphylococcal* recolectados de las fosas nasales humanas, esto continua en proceso para posteriormente ser aplicado [87].

CONCLUSIÓN

Los datos reportados por la OMS en los últimos años, sobre el uso indiscriminado de antibióticos en humanos para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias, ha provocado el surgimiento de bacterias multirresistentes a diferentes antibióticos. Ante el surgimiento de una posible pandemia silente o manifiesta, en este artículo se analiza la importancia de poder utilizar moléculas como las endolisinas fágicas, para inhibir el crecimiento de dichas bacterias. Aunque actualmente existen endolisinas de nueva generación como: Lisinas quiméricas, artilisinas, lisinas asociadas a viriones, lisinas

truncadas. En este trabajo particularmente analizamos las endolisinas naturales. En un futuro cercano las endolisinas de fagos representarán una opción como antimicrobianos, para la eliminación de las bacterias multirresistentes, impactando en diversas áreas como la medicina, la biotecnología, la biología estructural, entre otras disciplinas científicas.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran la ausencia de conflicto de interés.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología, México) por su invaluable apoyo a las becas posdoctorales y de posgrado. De igual forma se agradece al programa de posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM. También, se agradecen al Mtro. Juan Manuel Hurtado Ramírez, M.E.M. David Santiago Castañeda Carreón y Mtro. Servando Aguirre Cruz por su asistencia técnica en computación y a Shirley Ainsworth por sus servicios bibliográficos del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Finalmente, se agradece a Q.I. Santiago Becerra Ramírez por su apoyo técnico del Instituto de Biotecnología de la UNAM.

REFERENCIAS

[1]. Gaynes R. The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of

Clinical Use. *Emerg Infect Dis.* 23(5), 849. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5403050/>

[2]. Tan SY, Tatsumura Y. Alexander Fleming (1881–1955): Discoverer of penicillin. *Singapore Med J.* 2015; 56(7): 366–7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4520913/>

[3]. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010; 1: 1–7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2010.00134/full>

[4]. Jiménez Pearson MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, *et al.* Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Rev Panam Salud Pública.* 2019; 43: 1–8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6705331/>

[5]. Powers JH. Antimicrobial drug development - The past, the present, and the future. *Clin Microbiol Infect Suppl.* 2004; 10(4): 23–31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15522037/>

[6]. Ovung A, Bhattacharyya J. Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophys Rev.* 2021; 13(2): 259–72. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s1255>

[1-021-00795-9](#)

[7]. Demain AL, Elander RP. The β -lactam antibiotics: past, present, and future. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1999; 71: 5–19. Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1001738823146>

[8]. Becker B, Cooper MA. Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS Chem Biol*. 2013; 8(1): 105–15. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cb3005116>

[9]. Pongs O. Chloramphenicol: Chemical Formula and History of Discovery. Springer. 1979; (I): 1–2. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-46403-4_3

[10]. Nelson ML, Levy SB. The history of the tetracyclines. *Ann N Y Acad Sci*. 2011; 1241(1): 17–32. Disponible en: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2011.06354.x>

[11]. Dinos GP. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol*. 2017; 174(18): 2967–83. <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.13936>

[12]. Schwarz S, Shen J, Kadlec K, Wang Y, Michael GB, Feßler AT, *et al.* Lincosamides, Streptogramins, Phenicol, and Pleuromutilins: Mode of Action and Mechanisms of Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016; 45: 1–30. Disponible en: <https://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/11/a027037.long>

[13]. Arthur M, Courvalin P, Pasteur I, Cedex P. Review Origin and evolution of genes specifying resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics: data and hypotheses. *J Antimicrob Chemother*. 1987; 20: 783–802. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3326871/>

[14]. Van Bambeke F, Van Laethem Y, Courvalin P, Tulkens PM. Glycopeptide antibiotics: From conventional molecules to new derivatives. *Drugs*. 2004; 64(9): 913–36. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.2165/00003495-200464090-00001>

[15]. Wehrli W, Staehelin M. Rifamycins and Other Ansamycins. *Mech Action Antimicrob Antitumor Agents*. 1975; (1971): 252–68. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-46304-4_16

[16]. Leiros HKS, Kozielski-Stuhrmann S, Kapp U, Terrado L, Leonard GA, McSweeney SM. Structural basis of 5-nitroimidazole antibiotic resistance: The crystal structure of NimA from *Deinococcus radiodurans*. *J Biol Chem*. 2004; 279(53): 55840–9. Disponible en: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)66355-0/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)66355-0/fulltext)

[17]. Hernández A, Sánchez MB, Martínez JL. Quinolone resistance: Much more than predicted. *Front Microbiol*. 2011; 2: 1–6. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2011.00022/full>

[18]. Huovinen P. Resistance to trimethoprim-

sulfamethoxazole. 2001; 32 (11): 1608-1614.
Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11340533/>

[19]. Pascale R, Giannella M, Bartoletti M, Viale P, Pea F. Use of meropenem in treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2019; 17(10): 819–27. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14787210.2019.1673731>

[20]. Hutchinson D. Oxazolidinone Antibacterial Agents: A Critical Review. *Curr Top Med Chem.* 2005; 3(9): 1021–42. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/c/tmc/2003/00000003/00000009/art00007>

[21]. Serra S, Malpezzi L, Bedeschi A, Fuganti C, Fonte P. Final demonstration of the co-identity of lipiarmycin A3 and tiacumicin B (Fidaxomicin) through single crystal X-ray analysis. *Antibiotics.* 2017; 6(1): 1–9. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/6/1/7>

[22]. Coronelli C, White RJ, Lancini GC, Parenti F. Lipiarmycin, a new antibiotic from *Actinoplanes* II. Isolation, chemical, biological and biochemical characterization. *The Journal of antibiotics,* (1975); 28(4): 253-259. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/antibiotics1968/28/4/28_4_253/article/-char/ja/

[23]. Thakare R, Dasgupta A, Chopra S. Eravacycline for the treatment of patients with bacterial infections. *Drugs of Today.* 2018; 54(4): 245–54. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29869646/>

[24]. Martínez-Miranda R, Gastélum-Acosta M, Guerrero-Estrada P, Ayala-Figueroa RI, Osuna-álvarez LE. Ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam antimicrobial activity against clinically relevant gram-negative bacilli isolated in Mexico. *Gac Med Mex.* 2020; 156(6): 604–9. Disponible en: https://www.gacetamedicademexico.com/frame_eng.php?id=513

[25]. Shirley M. Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs.* 2018; 78(6): 675–92. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-018-0902-x>

[26]. Lapuebla A, Abdallah M, Olafisoye O, Cortes C, Urban C, Quale J, *et al.* Activity of meropenem combined with RPX7009, a novel β -lactamase inhibitor, against Gram-negative clinical isolates in New York City. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(8): 4856–60. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.00843-15>

[27]. Zhanel GG, Lawrence CK, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Zhanel M, *et al.* Imipenem–Relebactam and Meropenem–Vaborbactam: Two Novel Carbapenem- β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Drugs.* 2018; 78(1): 65–98. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-017-0851-9>

[28]. Zhanel GG, Esquivel J, Zelenitsky S, Lawrence CK, Adam HJ, Golden A, *et al.*

Omadacycline: A Novel Oral and Intravenous Aminomethylcycline Antibiotic Agent. *Drugs*. 2020; 80(3): 285–313. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-020-01257-4>

[29]. Smith JR, Rybak JM, Claeys KC. Imipenem-Cilastatin-Relebactam: A Novel β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections. *Pharmacotherapy*. 2020; 40(4): 343–56. Disponible en: <https://accpjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/phar.2378>

[30]. McCreary EK, Heil EL, Tamma PD. New perspectives on antimicrobial agents: Cefiderocol. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021; 65 (8), 10-1128. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34031052/>

[31]. Saravolatz LD, Stein GE. Plazomicin: A New Aminoglycoside. *Clin Infect Dis*. 2020; 70(4): 704–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31328228/>

[32]. Ruiz VH, Shen Y, Abouelhassan Y, Fouad A, Nicolau DP, Kuti JL. Physical compatibility of sulbactam/durlobactam with select intravenous drugs during simulated Y-site administration. *Am J Heal Pharm*. 2024; 81: 21–9. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajhp/article-abstract/81/1/e21/7280752?redirectedFrom=fulltext>

[33]. Holland TL, Cosgrove SE, Doernberg SB, Jenkins TC, Turner NA, Boucher HW, *et al.* Ceftobiprole for Treatment of Complicated *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *N Engl J*

Med. 2023; 15: 1390–401. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37754204/>

[34]. Syed YY. Ceftobiprole medocaril: A review of its use in patients with hospital- or community-acquired pneumonia. *Drugs*. 2014; 74 (13): 1523–42. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-014-0273-x>

[35]. Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2018; 42(1): 68–80. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29069382/>

[36]. Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, *et al.* Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist*. 2018; 11: 1645–58. Disponible en: <https://www.dovepress.com/antibiotic-resistance-a-rundown-of-a-global-crisis-peer-reviewed-fulltext-article-IDR>

[37]. Asokan G V., Ramadhan T, Ahmed E, Sanad H. WHO global priority pathogens list: A bibliometric analysis of medline-pubmed for knowledge mobilization to infection prevention and control practices in Bahrain. *Oman Med J*. 2019; 34(3): 184–93. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31110624/>

[38]. Ruddaraju LK, Pammi SVN, Guntuku G sankar, Padavala VS, Kolapalli VRM. A review on anti-bacterials to combat resistance: From ancient era of plants and metals to present and future perspectives of green nano technological combinations. *Asian J Pharm Sci*. 2020; 15(1): 42–59. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7066045/>

[39]. Schmelcher M, Donovan DM, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiol.* 2012; 7(10): 1147–71. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/fmb.12.97>

[40]. Gondil VS, Chhibber S. Bacteriophage and Endolysin Encapsulation Systems: A Promising Strategy to Improve Therapeutic Outcomes. *Front Pharmacol.* 2021; 12: 1–5. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2021.675440/full>

[41]. Abdelkader K, Gerstmans H, Saafan A, Dishisha T, Briers Y. The preclinical and clinical progress of bacteriophages and their lytic enzymes: The parts are easier than the whole. *Viruses.* 2019; 11(2): 1–16. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/11/2/96>

[42]. Fischetti VA. Development of phage lysins as novel therapeutics: A historical perspective. *Viruses.* 2018; 10(6): 310. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/6/310>

[43]. Indiani C, Sauve K, Raz A, Abdelhady W, Xiong YQ, Cassino C, *et al.* The Antistaphylococcal Lysin, CF-301, Activates Key Host Factors in Human Blood To Potentiate Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteriolysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019; 63(4): 1–19. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.02291>

-18

[44]. Ranjith G, Pujar AA, Dubey AK, Venkatesh P. Antimicrobial resistance and phage therapy in the Indian context. *Curr Sci.* 2019; 117(4): 562–4. Disponible en: <https://www.currentscience.ac.in/Volumes/117/04/0562.pdf>

[45]. Jones JD, Trippett C, Suleman M, Clokie MRJ, Clark JR. The Future of Clinical Phage Therapy in the United Kingdom. *Viruses.* 2023; 15(3): 721. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/15/3/721>

[46]. Dörr T, Moynihan PJ, Mayer C. Editorial: Bacterial Cell Wall Structure and Dynamics. *Front Microbiol.* 2019; 10: 4–7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02051/full>

[47]. Vollmer W, Blanot D, De Pedro MA. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev.* 2008; 32(2): 149–67. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18194336/>

[48]. Vollmer W. Structural variation in the glycan strands of bacterial peptidoglycan. *FEMS Microbiol Rev.* 2008; 32(2): 287–306. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/32/2/287/2683968>

[49]. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. *Medical microbiology, Virology.* 8th Ed. 2021: 36-39. Disponible en: <https://inspectioncopy.elsevier.com/book/details/9788491130765>

[50]. Chapot-Chartier MP, Kulakauskas S. Cell

wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microb Cell Fact.* 2014; 13 (1): 1–23. Disponible en: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-13-S1-S9>

[51]. Carrol KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología médica. Lange. Disponible en: <https://bibliotecaia.ism.edu.ec/Repository/m/MicrobiologiaMedica.pdf>

[52]. Atilano ML, Pereira PM, Yates J, Reed P, Veiga H, Pinho MG, *et al.* Teichoic acids are temporal and spatial regulators of peptidoglycan cross-linking in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107 (44): 18991–6. Disponible en: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1004304107>

[53]. Brown S, Santa Maria JP, Walker S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2013; 67 (6): 313–36. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/content/journal/s/10.1146/annurev-micro-092412-155620>

[54]. Swoboda JG, Campbell J, Meredith TC, Walker S. Wall Teichoic Acid Function, Biosynthesis, and Inhibition. *Chembiochem.* 2010; 11: 35–45. Disponible en: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbic.200900557>

[55]. Aubry C, Goulard C, Nahori MA, Cayet N, Decalf J, Sachse M, *et al.* OatA, a peptidoglycan O-acetyltransferase involved in *Listeria monocytogenes* immune escape, is

critical for virulence. *J Infect Dis.* 2011; 204 (5): 731–40. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3156107/>

[56]. Nau R, Eiffert H. Minimizing the release of proinflammatory and toxic bacterial products within the host: A promising approach to improve outcome in life-threatening infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2005; 44 (1): 1–16. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1016/j.femsim.2005.01.001?sid=nlm%3Apubmed>

[57]. Duong F, Eichler J, Price A, Leonard MR, Wickner W. Biogenesis of the gram-negative bacterial envelope. *Cell.* 1997; 91 (5): 567–73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9393850/>

[58]. Zhang G, Meredith TC, Kahne D. On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol.* 2013; 16(6): 779–85. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527413001586?via%3Dihub>

[59]. Pastagia M, Schuch R, Fischetti VA, Huang DB. Lysins: The arrival of pathogen-directed anti-infectives. *J Med Microbiol.* 2013; 62 (10): 1506–16. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.061028-0#tab2>

[60]. Berry JD, Rajaure M, Young RY. Spanin function requires subunit homodimerization through intermolecular disulfide bonds. *Mol Microbiol.* 2013; 88 (1): 35–47. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3612274/>

- [61]. Loessner MJ. Bacteriophage endolysins - Current state of research and applications. *Curr Opin Microbiol.* 2005; 8 (4): 480–7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527405000767?via%3Dihub>
- [62]. Zimmer M, Sattelberger E, Inman RB, Calendar R, Loessner MJ. Genome and proteome of *Listeria monocytogenes* phage PSA: An unusual case for programmed + 1 translational frameshifting in structural protein synthesis. *Mol Microbiol.* 2003; 50 (1): 303–17. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2958.2003.03684.x>
- [63]. Loessner MJ, Kramer K, Ebel F, Scherer S. C-terminal domains of *Listeria monocytogenes* bacteriophage murein hydrolases determine specific recognition and high-affinity binding to bacterial cell wall carbohydrates. *Mol Microbiol.* 2002; 44 (2): 335–49. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2958.2002.02889.x>
- [64]. Cheng X, Zhang X, Pflugrath JW, Studier FW. The structure of bacteriophage T7 lysozyme, a zinc amidase and an inhibitor of T7 RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91 (9): 4034–8. Disponible en: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.91.9.4034>
- [65]. Briers Y, Schmelcher M, Loessner MJ, Hendrix J, Engelborghs Y, Volckaert G, *et al.* The high-affinity peptidoglycan binding domain of *Pseudomonas* phage endolysin KZ144. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 383 (2): 187–91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X09006500?via%3Dihub>
- [66]. Briers Y, Volckaert G, Cornelissen A, Lagaert S, Michiels CW, Hertveldt K, *et al.* Muralytic activity and modular structure of the endolysins of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages φKZ and EL. *Mol Microbiol.* 2007; 65 (5): 1334–44. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2958.2007.05870.x>
- [67]. Becker SC, Foster-Frey J, Stodola AJ, Anacker D, Donovan DM. Differentially conserved staphylococcal SH3b_5 cell wall binding domains confer increased staphylolytic and streptolytic activity to a streptococcal prophage endolysin domain. *Gene.* 2009; 443 (1–2): 32–41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378111909002133?via%3Dihub>
- [68]. Navarre WW, Ton-That H, Faull KF, Schneewind O. Multiple enzymatic activities of the murein hydrolase from staphylococcal phage φ11: Identification of a D-alanyl-glycine endopeptidase activity. *J Biol Chem.* 1999; 274 (22): 15847–56. Disponible en: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)73097-X/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)73097-X/fulltext)
- [69]. Nelson DC, Schmelcher M, Rodriguez-Rubio L, Klumpp J, Pritchard DG, Dong S, *et al.* Endolysins as Antimicrobials. *Advances in Virus Research.* Elsevier Inc. 2012; 83: 299–365. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/>

[abs/pii/B9780123944382000074?via%3Dihub](https://doi.org/10.3390/antib10020074)

[70]. Abdelrahman F, Easwaran M, Daramola OI, Ragab S, Lynch S, *et al.* Phage-Encoded Endolysins. *Antibiotics*. 2021; 10 (2): 1–29. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/2/124>

[71]. Murray E, Draper LA, Ross RP, Hill C. The Advantages and Challenges of Using Endolysins in a Clinical Setting. *Viruses* 2021; 15(4):1–22. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/4/680>

[72]. Jackson LC, Machado Reyes L. Combinaciones de antimicrobianos. *Acta Medica Cordoba*. 1998; 8 (1): 101–4. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/06/20300/combinaciones-de-antimicrobianos.pdf>

[73]. Xu X, Xu L, Yuan G, Wang Y, Qu Y, Zhou M. Synergistic combination of two antimicrobial agents closing each other's mutant selection windows to prevent antimicrobial resistance. *Sci Rep*. 2018; 8 (1): 1–7. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-25714-z>

[74]. Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Kaewdaeng S. Synergistic activities between carbapenems and other antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii* including multidrug-resistant and extensively drug-resistant isolates. *Int J Antimicrob Agents*. 2010; 36 (3): 243–6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857910001998>

[75]. Tamma PD, Cosgrove SE, Maragakis LL.

Combination therapy for treatment of infections with Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25 (3): 450–70. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/cmr.05041-11>

[76]. Loeffler JM, Djurkovic S, Fischetti VA. Phage Lytic Enzyme Cpl-1 as a Novel Antimicrobial for Pneumococcal Bacteremia. *Infect Immun*. 2003; 71 (11): 6199–204. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.71.11.6199-6204.2003>

[77]. García P, Martínez B, Rodríguez L, Rodríguez A. Synergy between the phage endolysin LysH5 and nisin to kill *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *Int J Food Microbiol*. 2010; 141 (3): 151–5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160510002655?via%3Dihub>

[78]. Letrado P, Corsini B, Díez-Martínez R, Bustamante N, Yuste JE, García P. Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Future Microbiol*. 2018; 13 (11): 1215–23. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/fmb-2018-0077>

[79]. Son SM, Kim J, Ryu S. Development of sensitizer peptide-fused endolysin Lys1S-L9P acting against multidrug-resistant gram-negative bacteria. *Front Microbiol*. 2023; 14: 1–11. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1296796/full>

- [80]. Leungtongkam U, Kittit T, Khongfak S, Thummeepak R, Tasanapak K, Wongwigkarn J, *et al.* Genome characterization of the novel lytic phage vB_AbaAut_ChT04 and the antimicrobial activity of its lysin peptide against *Acinetobacter baumannii* isolates from different time periods. Arch Virol. 2023; 168 (9): 1–13. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-023-05862-y>
- [81]. Li P, Shen M, Ma W, Zhou X, Shen J. LysZX4-NCA, a new endolysin with broad-spectrum antibacterial activity for topical treatment. Virus Res. 2024; 340: 1992-96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170223002587?via%3Dihub>
- [82]. Soontarach R, Srimanote P, Voravuthikunchai SP, Chusri S. Antibacterial and Anti-Biofilm Efficacy of Endolysin LysAB1245 against a Panel of Important Pathogens. Pharmaceuticals. 2024; 17 (2): 1–13. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/2/155>
- [83]. Liu H, Wei X, Wang Z, Huang X, Li M, Hu Z, *et al.* LysSYL: a broad-spectrum phage endolysin targeting *Staphylococcus* species and eradicating *S. aureus* biofilms. Microb Cell Fact. 2024; 23 (1): 1–19. Disponible en: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-024-02359-4>
- [84]. Euler CW, Raz A, Hernandez A, Serrano A, Xu S, Andersson M, *et al.* PlyKp104, a Novel Phage Lysin for the Treatment of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2023; 67 (5), 1519-22. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.01519-22>
- [85]. Abdelrahman F, Gangakhedkar R, Nair G, El-Didamony G, Askora A, Jain V, *et al.* *Pseudomonas* Phage ZCPS1 Endolysin as a Potential Therapeutic Agent. Viruses. 2023; 15 (2): 520. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/15/2/520>
- [86]. Jun SY, Jung GM, Yoon SJ, Choi YJ, Koh WS, Moon KS, *et al.* Preclinical safety evaluation of intravenously administered SAL200 containing the recombinant phage endolysin SAL-1 as a pharmaceutical ingredient. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58 (4): 2084–8. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.02232-13>
- [87]. Vipra AA, Desai SN, Roy P, Patil R, Raj JM, Narasimhaswamy N, *et al.* Antistaphylococcal activity of bacteriophage derived chimeric protein P128. BMC Microbiol. 2012; 12: 41. Disponible en: <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/tech-docs/paper/179055>