

Búsqueda de tratamientos alternativos contra patógenos de interés biomédico

Search for alternative treatments against pathogens of biomedical interest

Ríos-Soto, G.¹, Andrade-Cantú, F.L.¹, Flores-Hernández, J.¹, Fernández-Belman, M.¹, Urrutia-Rocha, A.L.¹, Reyes-Martínez, J.E.², Alva-Murillo, P.N.²

¹Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. ²Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Tel. 473-732-0006 Ext. 8199. pn.alva@ugto.mx

Resumen

La resistencia bacteriana es un problema de salud a nivel mundial. Entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades de los Estados Unidos (CDC por sus siglas en inglés: Centers for Disease Control and Prevention) establecieron la lucha contra la resistencia antimicrobiana como una de sus prioridades, sin embargo, este problema aumenta exponencialmente día con día ya que tanto las bacterias Gram positivas y Gram negativas, tienden a tener una resistencia a antibióticos entre ellos los β -lactámicos, cefalosporinas, tetraciclinas e incluso antibióticos de última generación como carbapenem. Es por eso por lo que se está buscando tratamientos alternativos para combatir esta resistencia bacteriana, una opción prometedora es el péptido Tritripticina4 ya que tiene una interacción electrostática con la superficie del patógeno, sin la evidencia de tener actividad hemolítica.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, péptido, tritripticina.

Introducción

Los antibióticos son definidos como medicamentos cuyo objetivo es tratar infecciones causadas por bacterias en seres humanos y animales, ya sea matando a las bacterias (bactericidas) o dificultando su crecimiento (bacteriostático) (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2022). Por algún tiempo, los antibióticos salvaron muchas vidas, pero la aparición de resistencia a estos ha amenazado a los sistemas de salud del mundo. Esto es que, en ocasiones, las bacterias sufren cambios para defenderse de los antibióticos, generando así la resistencia a estos. Dichas bacterias resistentes causan infecciones más difíciles de tratar que sus contrapartes no resistentes, por consecuencia llevan a mayores gastos médicos, estancias hospitalarias prolongadas y aumento de la mortalidad en los pacientes que las padecen (Organización Mundial de la Salud, 2022).

Las bacterias pueden presentar tres tipos de resistencia. La multi droga resistencia (MDR), que consiste en el desarrollo de resistencia a al menos un agente de tres o más clases de antibióticos. La amplia resistencia que se da cuando la bacteria es resistente a al menos un agente de todas las clases de antibióticos, excepto dos o menos clases. Finalmente, la pandrogo resistencia se presenta en aquellas bacterias que resisten a todas las clases de antibióticos (Mohd Asri et al., 2021).

Sin importar la edad, sexo o posición socioeconómica de las personas afectadas, las bacterias resistentes son una amenaza inminente para la salud pública a nivel mundial. De hecho, las enfermedades infecciosas causadas por estas bacterias fueron la causa de muerte de al menos 1.27 millones de personas alrededor del mundo y se le asoció con 5 millones de defunciones en 2019 (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2022). Por ejemplo, cerca del 47% de las personas infectadas con *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenem mueren (Xu et al., 2017); mientras que, la tasa de mortalidad de los pacientes infectados con *Enterococcus faecalis* resistente a penicilina y ampicilina es del 26.9% (Kim et al., 2019).

Al reducirse drásticamente las opciones de tratamientos comerciales contra las enfermedades infecciosas asociadas a bacterias resistentes, es apremiante encontrar tratamientos novedosos para combatirlos, pero es igual de importante cambiar la forma en que éstos se usan (Organización Mundial de la Salud, 2021). Sin un cambio de comportamiento, las bacterias seguirán desarrollando mecanismos para defenderse y subsistir a cualquier tratamiento que se les presente. Por ello, en el presente artículo de divulgación pretendemos brindar un panorama acerca de los péptidos antimicrobianos como una potencial opción para el desarrollo de terapias innovadoras y alternativas contra bacterias resistentes a los antibióticos.

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae fue descrita por primera vez en 1882, por Carl Friedlander, como un bacilo inmóvil rodeado por una cápsula que aisló a partir de muestras de los pulmones de pacientes que habían muerto de neumonía. Actualmente, sabemos que es una bacteria Gram negativa (Figura 1) que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, encapsulada, en forma de varilla y no móvil; se aloja principalmente en la orofaringe y el tubo digestivo de los humanos, y también se le encuentra frecuentemente en las manos del personal hospitalario. Esta bacteria se destaca porque, una vez que ingresa al cuerpo, es capaz de causar un alto grado de daño al paciente, y adquirir resistencia a los antibióticos con facilidad (Ashurst & Dawson, 2023).



Figura 1. Tinción Gram de *Klebsiella pneumoniae*. Se observan bacilos Gram negativos (100 X). Micrografía obtenida en el XXVIII Verano de la Ciencia UG.

Esta bacteria puede ser un patógeno oportunista y causar un gran número de enfermedades infecciosas, tales como infecciones en el tracto urinario y respiratorias, meningitis, neumonía, infecciones en la sangre y en sitios quirúrgicos; siendo los grupos más vulnerables los neonatos, personas de la tercera edad y pacientes inmunocomprometidos (Mohd Asri et al., 2021). Hoy en día, la neumonía causada por *K. pneumoniae* es considerada la causa más común de neumonía intrahospitalaria en los Estados Unidos y representa entre el 3-8% de todas las infecciones bacterianas intrahospitalarias. En general, este organismo representa aproximadamente el 11.8 % de todas las neumonías nosocomiales en el mundo (Ashurst & Dawson, 2023). En 2015, la Dirección General de Epidemiología en México reportó en su informe anual 34,884 infecciones asociadas al cuidado de la salud (IAAS), de las cuales el 9.5% fueron causadas por *K. pneumoniae*, siendo uno de los agentes etiológicos más prevalentes en el ámbito hospitalario (Secretaría de Salud, 2015).

Se sabe que el grado de patogenicidad de este microorganismo se debe a una amplia gama de factores que pueden conducir tanto a la infección como a la resistencia a los antibióticos; estos le permiten rehuir al sistema inmunitario del organismo hospedero y liberar una cascada inflamatoria que puede conducir a sepsis y choque séptico. También poseen mecanismos que permiten que la bacteria se adhiera a las células del hospedero, de manera que son capaces de infectar y facilitan su propagación (Chang et al., 2021; Ashurst & Dawson, 2023).

Según la Organización Mundial de la Salud, *K. pneumoniae* forma parte del grupo ESKAPE junto con *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.*, y ha tomado relevancia porque se encuentra dentro del grupo de prioridad crítica MDR. Se ha reportado que aislamientos de *K. pneumoniae* de distinto origen son resistentes a los antibióticos neomicina, estreptomina, kanamicina, gentamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, ácido nalidixico, tetraciclina, cloranfenicol y sulfametoxazol-trimetoprim en el 50.9%, 7.3%, 9.1%, 1.8%, 7.3%, 3.6%, 9.1%,

1.8% y 9.1% de los aislamientos, respectivamente (Denissen et al., 2022). Asimismo, *K. pneumoniae* resistente a carbapenem (CRKP) se ha convertido en un problema apremiante de salud pública a nivel mundial (Li et al., 2022). Con ello, *K. pneumoniae* se convierte en una bacteria patógena oportunista que representa un desafío en el tratamiento y prevención de la propagación, principalmente en el ámbito hospitalario.

Enterococcus faecalis

Por mucho tiempo se consideró que los enterococos formaban parte de la microbiota gastrointestinal, siendo inofensivos para el hospedero; sin embargo, en las últimas décadas ha surgido evidencia de que son una de las principales causas de infecciones intrahospitalarias (Esmail et al., 2019). *E. faecalis*, bacteria Gram positiva con morfología de coco (Figura 2), es uno de los principales patógenos asociados con heridas, infecciones en sitios quirúrgicos, bacteriemias, entre otras. La tasa de mortalidad de pacientes con infecciones sanguíneas causadas por *E. faecalis* puede ser de hasta el 12.3% (Kim et al., 2019).

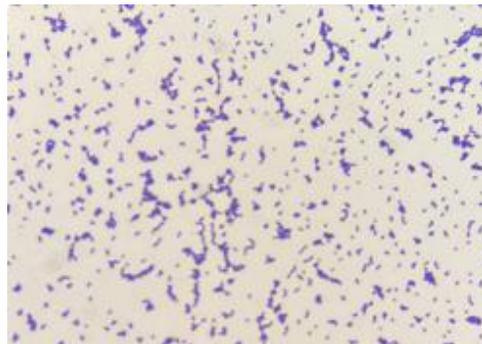


Figura 2. Tinción Gram de *Enterococcus faecalis*. Se observan bacilos Gram positivos. Micrografía (100 X) obtenida en el XXVIII Verano de la Ciencia UG.

Esta bacteria es capaz de sobrevivir en superficies inertes (ej. equipo médico) y en las manos del personal médico por mucho tiempo, por lo que la colonización de las manos de estos trabajadores pueden ser una fuente de infección (Esmail et al., 2019).

Las infecciones causadas por *E. faecalis* pueden ser especialmente difíciles de tratar debido a la resistencia a los antibióticos de muchos cultivos aislados de esta bacteria (Public Health Agency of Canada, 2016). *E. faecalis* es menos virulenta que otros organismos Gram positivos, como *Staphylococcus aureus*, neumococos y estreptococos del grupo A. En algunos casos puede ser una coinfección con otros microorganismos patógenos, en los cuales no está claro el papel del enterococo en la etiología. Sin embargo, en algunas otras infecciones potencialmente mortales claramente tiene protagonismo (Kau et al., 2005).

En *E. faecalis* se presenta resistencia intrínseca a aminoglucósidos y β -lactámicos, debido a que en su genoma se encuentran genes que se asocian con tal propiedad; además, por cambios en el ADN o por adquisición de nuevos genes, la bacteria resiste a macrólidos, vancomicina, cefalosporinas, tetraciclinas y fluoroquinolonas (resistencia adquirida) (Esmail et al., 2019). La resistencia a β -lactámicos ocurre porque la bacteria posee una afinidad baja a la penicilina en sus proteínas de unión PBP (proteínas de unión a penicilinas) así como a las cefalosporinas. Dicha resistencia alcanza tal grado, que estos fármacos no pueden utilizarse como tratamiento en pacientes con infecciones por enterococo (Cercenado et al., 2011).

En México, se realizó un estudio en Instituto Nacional de Pediatría (INP) en 2016 por un periodo de doce meses, con el objetivo de describir la susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis*. Los autores mencionan que, de 149 cultivos en total el 68.5% eran de *E. faecalis*, y que las cepas aisladas presentaron una alta tasa de resistencia a eritromicina y gentamicina. Asimismo, se recalca que, dentro de la misma institución, se había observado una tasa de resistencia del 0.8% en 2013 para este mismo patógeno y que para el 2016 había aumentado a 2.9% (Arredondo García et al., 2018).

Con todo ello, *E. faecalis* es un patógeno que representa un reto en el sistema de salud, debido a su capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos.

Mecanismos de resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antibióticos puede ser generada por diferentes mecanismos:

Disminución en la permeabilidad de la membrana externa: la membrana externa de las bacterias Gram negativas es el primer obstáculo que deben vencer los antibióticos para alcanzar el sitio blanco, la cual a su vez funciona como una barrera de permeabilidad. Algunos antibióticos como los β -lactámicos, tetraciclinas y algunas quinolonas, utilizan las proteínas de membrana externa también conocidas como OMP (por sus siglas en inglés Outer Membrane Protein), o porinas, como canales de entrada a la bacteria. Los factores que intervienen en este proceso están relacionados con la carga eléctrica del compuesto y su hidrofobicidad. Moléculas cargadas negativamente ingresan de manera lenta a la bacteria, mientras aquellas cargadas positivamente o con carga neutra (Zwitteriones) entran con mayor facilidad. Las bacterias tienen la capacidad de generar mutaciones en los genes que codifican las porinas para cambiar su estructura y evitan que estas últimas sean utilizadas por los antibióticos como su canal de entrada (Delcour, 2009; Pagès et al., 2008).

Alteraciones del sitio blanco: en las bacterias pueden ocurrir mutaciones capaces de alterar el sitio donde se fija y actúa el antibiótico, impidiendo que interrumpa una función vital de ésta. Un ejemplo de este mecanismo es la resistencia a quinolonas en las bacterias Gram negativas, dada por una alteración de la ADN-girasa y topoisomerasa IV por mutaciones puntuales en los genes *gyrA* y/o *parC* (Rice, 2012).

Modificación enzimática del antibiótico: las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Como ejemplo de este fenómeno están las enzimas denominadas modificadoras de aminoglucósidos que catalizan la modificación del antibiótico a través de N-acetilación, O-nucleotidilación o la O-fosforilación. El segundo grupo de enzimas son las β -lactamasas, capaces de hidrolizar los antibióticos β -lactámicos, principal armamento para combatir las infecciones por bacterias MDR. Dentro de este grupo, las β -lactamasas tipo carbapenemasas (CARB) son las de mayor impacto clínico, ya que confieren resistencia a prácticamente la mayor parte de los β -lactámicos (Rice, 2012).

En general, aunque todos o algunos de estos mecanismos de resistencia pueden estar presentes en las bacterias Gram negativas, sin duda alguna la producción de β -lactamasas son el mecanismo más prevalente e importante en bacterias Gram negativas. Las β -lactamasas son enzimas producidas tanto en bacterias Gram positivas como negativas, sin embargo, en las primeras, las β -lactamasas no son el principal mecanismo de resistencia ya que son diluidas en el espacio extracelular; mientras que, en las Gram negativas estas enzimas son secretadas al espacio periplásmico donde se acumulan generando una ventaja adaptativa, ya que no es indispensable que tengan alta afinidad por el sustrato gracias a las concentraciones alcanzadas en el espacio periplásmico (Matagne et al., 1998).

Tratamientos alternativos contra patógenos de interés biomédico

El tema de la resistencia antimicrobiana es de preocupación mundial, ya que se reducen las opciones para tratar enfermedades infecciosas generadas por bacterias resistentes. Actualmente, diversas investigaciones se enfocan en el diseño, identificación y/o desarrollo de moléculas que puedan sustituir a los antibióticos convencionales, tal es el caso de péptidos antimicrobianos (PAM) (Xuan et al., 2023), compuestos derivados de plantas (Kokoska et al., 2018), nanopartículas (Bruna et al., 2021), entre otras. Los PAM son de especial interés para el grupo de trabajo, debido a su amplio espectro de actividad.

Péptidos antimicrobianos (PAM)

Los PAM son moléculas de menos de 100 residuos de aminoácidos, generalmente son catiónicos e hidrofóbicos, y están ampliamente distribuidos en la naturaleza y que son parte del sistema inmune innato de distintos organismos (Chandros Hull, 2023). Los PAM naturales son tan diversos que se clasifican de distintas maneras; ya sea según su procedencia, su actividad, sus características estructurales o por el tipo de aminoácidos más abundantes en su estructura. Por ejemplo, el origen de los PAM se puede dividir en mamíferos, anfibios, microorganismos e insectos según datos reportados en la base de datos de péptidos antimicrobianos (APD3). Asimismo, su actividad se puede dividir en 18 categorías que pueden resumirse en antibacteriano, antiviral, antifúngico, antiparasitario, antiviral de la inmunodeficiencia humana (VIH) y antitumorales (Huan et al., 2020), entre otras.

Mecanismo de acción de los PAM

Como su nombre lo dice, los PAM tienen efecto sobre microorganismos, entre ellos patógenos de interés biomédico (ej. bacterias). Tanto PAM naturales como sintéticos han mostrado buenos niveles de actividad inhibitoria para bacterias Gram positivas y Gram negativas. Sin embargo, su mecanismo de acción no ha sido

comprendido por completo. Por el momento, sus mecanismos antimicrobianos pueden ser clasificados en dos grupos: los mecanismos dirigidos a la membrana y el mecanismo intracelular.

Los mecanismos dirigidos a la membrana se pueden describir a través de modelos, incluidos los modelos de poste y alfombra, y el modelo de polo se puede dividir en el poro toroidal y modelos barril-duela. Lo anterior ocurre porque los PAM son adsorbidos electrostáticamente en la superficie bacteriana y, al ser hidrofóbicos, pueden penetrar y destruir la membrana, generando la muerte celular (Xuan et al., 2023).

Por su parte, el mecanismo intracelular consiste en la penetración directa, o endocitosis, de los PAM en la célula. Después de ingresar al citoplasma, los PAM identifican y actúan sobre el objetivo. Dependiendo del objetivo, los PAM se pueden dividir en otras categorías, como son: inhibición de la biosíntesis de proteínas, inhibición de la biosíntesis de ácidos nucleicos, inhibición de la actividad de la proteasa e inhibición de la división celular (Huan et al., 2020; Zhang et al., 2021).

A diferencia de los antibióticos convencionales, como se puede leer anteriormente, los PAM destruyen a los patógenos al atacar múltiples blancos, reduciendo así el surgimiento de bacterias resistentes a los péptidos.

Péptidos derivados de PAM

Los péptidos tienen un gran potencial de desarrollo biotecnológico y de aplicación en infecciones causadas por patógenos resistentes. No obstante, se requiere mejorar su eficiencia y costo de producción así como su estabilidad para hacerlos menos susceptibles a la degradación por proteasas, su bioseguridad (algunos son hemolíticos) (da Cunha et al., 2017), entre otras características. Es por ello por lo que al diseñar y optimizar los PAM se obtienen péptidos derivados que son candidatos prometedores para futuras aplicaciones clínicas y/o comerciales (Dong et al., 2012).

Tritrpticina y péptidos derivados

Las catelicidinas son PAM que se expresan ampliamente en células fagocíticas de mamíferos. Los cerdos son los animales que tienen la colección más diversa de catelicidinas de todas las especies de mamíferos, entre estos PAM se encuentran la profenina-1 (rica en prolina-fenilalanina), la profenina-2, la profenina-39 (rica en prolina-arginina) y las protegrinas, que son ricas en cisteína (PG-1 a -5). Existe un péptido derivado de la profenina-2, de 13 residuos de aminoácidos, llamado tritrpticina (Figura 3) (Lawyer et al., 1996). Los péptidos ricos en triptófano (W), como la tritrpticina (VRRFPWWPFLRR), son un subconjunto de PAM que muestran potente actividad antimicrobiana. Esta se les atribuye a las propiedades bioquímicas del triptófano, que le permiten insertarse en membranas biológicas con facilidad. Ya en el citoplasma, los TRP pueden inhibir o eliminar patógenos por diversos mecanismos. Se ha demostrado que tiene un alto grado de actividad antimicrobiana contra muchos patógenos clínicos y ambientales importantes. Sin embargo, también tiene efectos hemolíticos agresivos (Shagaghi et al., 2016).

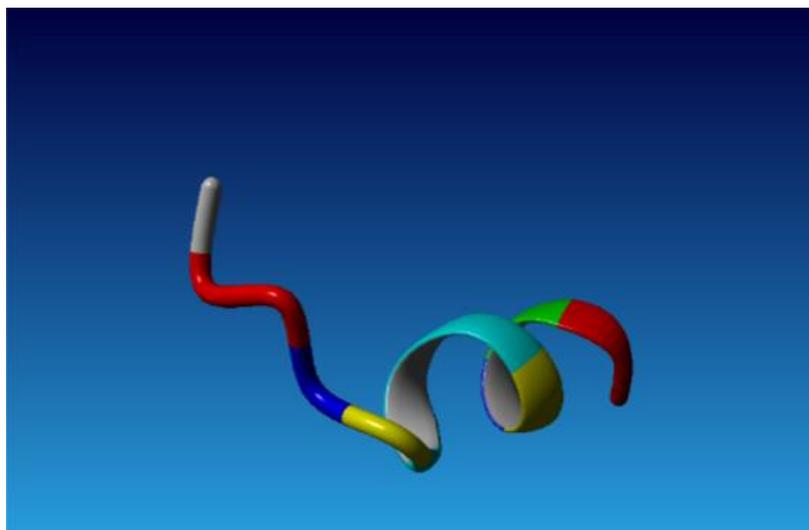


Figura 3. Estructura 3D del PAM tritrpticina. Modelo generado con I-TASSER. Crédito: QFB. Moisés Adrián Martínez Padilla.

Por lo anterior, la optimización *in silico* de la tritripticina ha generado péptidos que mantienen la actividad antimicrobiana, sin presentar actividad hemolítica, tal es el caso de la tritripticina4 (VRRFPYYPFLRR, Figura 4). Además, se ha demostrado que agregando un grupo amida al extremo carboxilo terminal, aumenta la actividad antibacteriana de los péptidos, comparada con el PAM parental (Schibli et al., 2006).

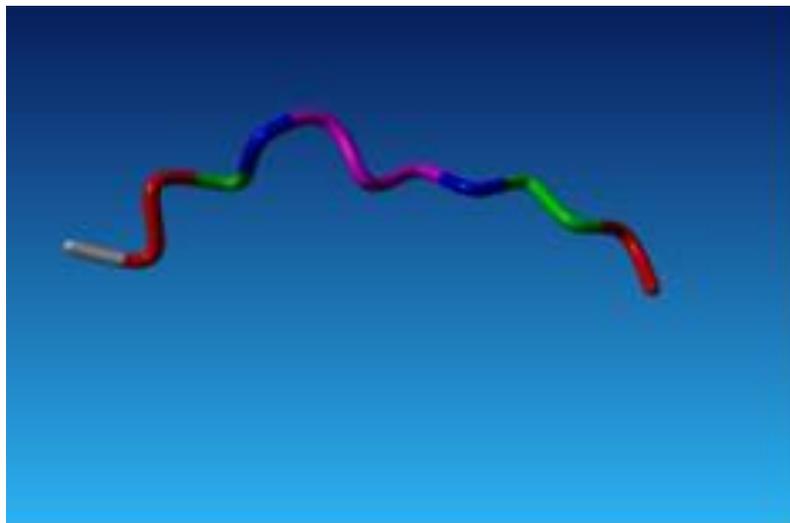


Figura 4. Estructura 3D del PAM tritripticina4. Modelo generado con I-TASSER. Crédito: QFB. Moisés Adrián Martínez Padilla.

Se ha estudiado poco sobre el efecto antibacteriano de la tritripticina4. En este sentido, Schibli y colaboradores (2006) identificaron la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) del péptido sobre *Escherichia coli* y *S. aureus*, estas fueron de 50 µg/mL y de 20-25 µg/mL, respectivamente. Mientras que, la concentración mínima bactericida (MBC, por sus siglas en inglés) fueron de 100 y 25 µg/mL para la bacteria Gram negativa y positiva, respectivamente.

Entendiendo que este péptido es potencialmente atractivo para usarse de manera alternativa al uso de antibióticos convencionales, en el XXVIII Verano de la Ciencia, el grupo de trabajo decidió evaluar el efecto de la tritripticina4 sobre *K. pneumoniae* y *E. faecalis*, ambos patógenos de interés biomédico a nivel mundial por la multi-resistencia que presentan.

Los resultados indican que la tritripticina4 puede ser un agente antimicrobiano efectivo para controlar infecciones causadas por *K. pneumoniae* (Tabla 1), ya que tanto la MIC como la MBC obtenidas fueron de 25 µg/mL.

Tabla 1. Efecto antibacteriano de la tritripticina4 sobre *K. pneumoniae* y *E. faecalis*.

	MIC (µg/mL)		MBC (µg/mL)	
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>
Tritripticina4	25	200	25	>200

MIC, concentración mínima inhibitoria. MBC, concentración mínima bactericida.

Por otro lado, la máxima concentración de tritripticina4 utilizada en este proyecto (200 µg/mL) fue la MIC de *E. faecalis* (Tabla 1); no obstante, al realizar la cuenta viable para determinar la concentración mínima bactericida esta fue > 200 µg/mL. Con ello se sugiere que, en este caso, la tritripticina4 actúa como bacteriostático.

Conclusión

En la búsqueda de moléculas antimicrobianas como una alternativa al uso de antibióticos convencionales para el tratamiento de patógenos MDR, ha logrado identificar que el péptido antimicrobiano tritripticina4, el cual actúa sobre *K. pneumoniae* presentando un efecto bactericida por lo cual puede considerarse una opción viable para desarrollar nuevas terapias. Es necesario seguir explorando su posible actividad contra otros microorganismos tanto Gram positivos como Gram negativos.

Bibliografía/Referencias

- Agudelo Higueta NI & Huycke MM. (2014). Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190429/>
- Ashurst JV, Dawson A. (Act. 2023). *Klebsiella pneumoniae*. StatPearls Publishing; 2023 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 13). <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades: CDC. (Rev. 2022). Prescripción y uso de antibióticos: preguntas y respuestas sobre el uso de antibióticos. <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/sp/should-know.html>
- Cercenado E. (2011). *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y epidemiología en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2011; 29 (Supli 5): 59-65. <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/ccs-2010-bacteriologia.pdf>
- Chandros Hull S. (Act. 2023). Peptide. National Human Genome Research Institute: NIH. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Peptide#:~:text=A%20peptide%20is%20a%20short,from%20one%20or%20more%20polypeptides.>
- Correa Bermúdez AM, & De La Cadena Vivas, E. (2021). Resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos. *Estudios en resistencia a los antibióticos beta-lactámicos en bacterias Gram negativas [online]*. Santiago de Cali: Editorial USC, 2021, pp. 11-34. ISBN: 978-958-5583-92-4. Available from: <https://books.scielo.org/id/t755k>. doi: <https://doi.org/10.35985/9789585583924.1>.
- Chang D, Sharma L, Dela Cruz CS & Zhang D. (2021). Clinical Epidemiology, Risk Factors and Control Strategies of *Klebsiella pneumoniae* Infection. *Frontiers in Microbiology*, 22. Volumen 12. Sec. Infectious Agents and Disease. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.750662>
- da Cunha, N. B., Cobacho, N. B., Viana, J. F. C., Lima, L. A., Sampaio, K. B. O., Dohms, S. S. M., Ferreira, A. C. R., de la Fuente-Núñez, C., Costa, F. F., Franco, O. L., & Dias, S. C. (2017). The next generation of antimicrobial peptides (AMPs) as molecular therapeutic tools for the treatment of diseases with social and economic impacts. *Drug Discovery Today*, 22(2), 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.DRUDIS.2016.10.017>
- Denissen J, Reyneke B, Waso-Reyneke M, Havenga B, Barnard T, Khan S & Khan W. (2022). Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection, and risk to human health. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, Vol 244 (2022) 114006. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114006>
- Dong, N., Ma, Q.-Q., Shan, A.-S., Lv, Y.-F., Hu, W., Gu, Y., & Li, Y.-Z. (2012). Novel design of short antimicrobial peptides derived from the bactericidal domain of avian b-defensin-4. *Protein & Peptide Letters*, 19(11), 1212–1219. <https://doi.org/10.2174/092986612803217006>
- Esmail MAM., Abdulghany HM, & Khairy RM. (2019). Prevalence of Multidrug-Resistant *Enterococcus faecalis* in Hospital-Acquired Surgical Wound Infections and Bacteremia: Concomitant Analysis of Antimicrobial Resistance Genes. *Infectious diseases*, 12, 1178633719882929. <https://doi.org/10.1177/1178633719882929>

- Kau AL, Martin SM, Lyon W, Hayes E, Caparon MG & Hultgren SJ. (2005). *Enterococcus faecalis* tropism for the kidneys in the urinary tract of C57BL/6J mice. *Infection and Immunity*, 2005 Apr;73(4):2461-8. doi: 10.1128/IAI.73.4.2461-2468.2005. PMID: 15784592; PMCID: PMC1087416.
- Kim D, Lee H, Yoon EJ, Hong JS, Shin JH, Uh Y, Shin KS, Shin JH, Kim YA, Park YS, & Jeong SH. (2019). Prospective Observational Study of the Clinical Prognoses of Patients with Bloodstream Infections Caused by Ampicillin-Susceptible but Penicillin-Resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(7), e00291-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00291-19>
- Kokoska, L., Kloucek, P., Leuner, O., & Novy, P. (2018). Plant-derived products as antibacterial and antifungal agents in human health care. *Current Medicinal Chemistry*, 26(29). <https://doi.org/10.2174/0929867325666180831144344>
- Lawyer, C., Pai, S., Watabe, M., Borgia, P., Mashimo, T., Eagleton, L., & Watabe, K. (1996). Antimicrobial activity of a 13 amino acid tryptophan-rich peptide derived from a putative porcine precursor protein of a novel family of antibacterial peptides. *FEBS Letters*, 390(1). [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00637-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00637-0)
- Li Y, Kumar S, Zhang L & Wu H. (2022). *Klebsiella pneumonia* and Its Antibiotic Resistance: A Bibliometric Analysis. *BioMed Research International* 22. doi: 10.1155/2022/1668789. PMID: 35707374; PMCID: PMC9192197.
- Mohd Asri NA, Ahmad S, Mohamad R, Mohd Hanafi N, Mohd Zaidi NF, Irekeola AA, Shueb RH, Yee LC, Mohd Noor N, Mustafa FH, Yean CY, & Yusof NY. (2021). Global Prevalence of Nosocomial Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1508. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121508>
- Organización Mundial de la Salud: OMS. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Public Health Agency of Canada. (2016). Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Canada. Ca. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/enterococcus-faecalis.html>
- Schibli, D. J., Nguyen, L. T., Kernaghan, S. D., Rekdal, Ø., & Vogel, H. J. (2006). Structure-function analysis of tritrypticin analogs: potential relationships between antimicrobial activities, model membrane interactions, and their micelle-bound NMR structures. *Biophysical Journal*, 91(12), 4413–4426. <https://doi.org/10.1529/BIOPHYSJ.106.085837>
- Shagghi N, Palombo EA, Clayton AH & Bhave M. (2016). Archetypal tryptophan-rich antimicrobial peptides: properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*; 32(2):31. doi: 10.1007/s11274-015-1986-z. Epub 2016 Jan 9. PMID: 26748808.
- World Health Organization: WHO. (2020). Antibiotic resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance#:~:text=Antibiotic%20resistance%20occurs%20when%20bacteria,caused%20by%20non%20resistant%20bacteria.>
- Xu, L, Sun, X, & Ma, X. (2017). Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 16(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0191-3>
- Xuan, J., Feng, W., Wang, J., Wang, R., Zhang, B., Bo, L., Chen, Z. S., Yang, H., & Sun, L. (2023). Antimicrobial peptides for combating drug-resistant bacterial infections. In *Drug Resistance Updates* (Vol. 68). <https://doi.org/10.1016/j.drup.2023.100954>
- Zhang QY, Yan ZB, Meng YM, Hong XY, Shao G, Ma JJ, Cheng XR, Liu J, Kang J & Fu CY. (2021). Antimicrobial peptides: mechanism of action, activity, and clinical potential. *Military Med Res* 8, 48. <https://doi.org/10.1186/s40779-021-00343-2>