



FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

## **BACTERIAS DEPREDADORAS: ¿UNA ALTERNATIVA A LOS ANTIBIÓTICOS?**



Imagen portada: tomada de (Gaceta UNAM, 2021).

Alumno: Andrea Gómez Mazo

Tutor: Salvadora Navarro de la Torre



FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Departamento de Microbiología y Parasitología

# **BACTERIAS DEPREDADORAS: ¿UNA ALTERNATIVA A LOS ANTIBIÓTICOS?**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Revisión bibliográfica

Alumno: Andrea Gómez Mazo

Tutor: Salvadora Navarro de la Torre

Grado en Farmacia

En Sevilla, junio 2023

## RESUMEN

La resistencia a los convencionales antibióticos se ha convertido en una peligrosa amenaza global, suponiendo un grave problema para la salud a nivel mundial que continuará empeorando en el transcurso de los próximos años; por ello, es una cuestión fundamental no frenar la investigación científica, logrando alcanzar nuevos tratamientos contra las enfermedades infecciosas. En esta revisión bibliográfica nos centraremos en el empleo de las bacterias depredadoras como una posible alternativa para esta amenaza que nos concierne. Como su nombre indica, estas bacterias son capaces de dirigir un ataque contra otras especies bacterianas; por tanto, dicho ataque podría resultar de gran interés para el ser humano en campos como la agricultura, la medicina, la veterinaria o la industria alimentaria. Sin embargo, antes de llegar a este punto, es relevante llegar a comprender su “engranaje”, cómo funcionan y cuáles son las principales estrategias de ataque llevadas a cabo: depredación epibiótica, depredación endobiótica y ataque grupal. La depredación epibiótica es un tipo de ataque basado en la liberación, por parte de la bacteria depredadora, de compuestos líticos que alcanzan la bacteria presa sin necesidad de adentrarse en el espacio periplasmático de ésta; a su contrario, las bacterias que llevan a cabo una depredación endobiótica sí que requieren de dicha invasión para proceder al ataque. Actualmente, los BALOs (*Bdellovibrio* and Like Organisms) son el grupo bacteriano más estudiado como alternativa a la terapia antibiótica, estos organismos tienen como mayor representante al género *Bdellovibrio* capaz de llevar a cabo una depredación endobiótica contra bacterias Gram negativas. Por su parte, *Myxococcus xanthus* es capaz de realizar una depredación epibiótica en solitario; no obstante, su depredación resulta más exitosa cuando el ataque es ejecutado de manera grupal mediante la asociación de células bacterianas individuales.

**Palabras Clave:** antibióticos, alternativas, BALOs, depredación bacteriana, *Myxococcus xanthus*.

## **ABSTRACT**

Resistance to conventional antibiotics has become a dangerous global threat and has become a serious health problem that will continue to worsen over the course of the coming years. Therefore, it is fundamental not to slow down scientific research to reach new treatments against infectious diseases. This literature will focus on the use of predatory bacteria as a possible alternative to this threat that concerns us. As the name suggests, these bacteria are capable of leading an attack against other bacterial species. Consequently, such an attack could be of great interest to human beings in fields such as agriculture, medicine, veterinary medicine, or the food industry. However, before reaching this point, it is essential to understand their "gear" - how they work and what the main attack strategies carried out by these types of bacteria are: epibiotic predation, endobiotic predation, and wolf-pack attack or cooperative predation. Epibiotic predation is a type of attack based on the release, by predatory bacteria, of diffusible lytic compounds that reach the prey bacterium without having to enter the periplasmic space of the latter. In contrast, bacteria that carry out endobiotic predation require such invasion to proceed with the attack. Currently, BALOs (*Bdellovibrio* and Like Organisms) are the most studied group of bacteria as an alternative to antibiotic therapy. These organisms have as their greatest representative the genus *Bdellovibrio*, which is capable of preying on Gram-negative bacteria through endobiotic predation. Furthermore, *Myxococcus xanthus* is capable of performing epibiotic predation on its own. However, its predation is more successful when the attack is carried out in groups or clusters made up of the association of individual bacterial cells.

**Key words:** antibiotics, alternatives, BALOs, bacterial predation, *Myxococcus xanthus*.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
<b>3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>12</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>13</b>
4.1. Estrategias de depredación microbiana .....	13
4.1.1. Depredación epibiótica .....	14
4.1.2. Depredación endobiótica o invasión directa.....	16
4.1.3. Ataque grupal .....	17
4.2. <i>Myxococcus xanthus</i> .....	18
4.2.1. Localización, taxonomía y estilo de vida.....	18
4.2.2. Formación de cuerpos fructíferos .....	19
4.2.3. Depredación bacteriana. ....	19
4.2.4. Material genético: metabolitos, enzimas y sistemas reguladores .....	21
4.3. <i>Bdellovibrio</i> y organismos similares (BALOs).....	23
4.3.1. Taxonomía y localización.....	23
4.3.2. Depredación bacteriana. ....	23
4.3.3. Caracterización de los BALOs: condiciones de crecimiento, morfología y genoma.....	25
4.4. Bacterias depredadoras como alternativa a los antibióticos .....	26
4.4.1. ¿Suponen las bacterias depredadoras una alternativa segura y efectiva? .....	27
4.4.2. Bacterias depredadoras y biofilms.....	30
4.4.3. Supervivencia en ambientes anaerobios. ....	32
4.4.4. Ventajas e inconvenientes.....	33
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>35</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUCCIÓN.

En 1675 Anton van Leeuwenhoek fue la primera persona en observar lo que hoy en día conocemos como microorganismos mediante un microscopio simple conformado por una única lente que él mismo creó, a dichos microorganismos los denominó “animálculos”. El holandés llegó a describir y dibujar las principales morfologías bacterianas, como cocos, bacilos y espiroquetas. Sin embargo, no fue hasta el siglo XIX cuando se pudo evidenciar la relación entre microorganismos y enfermedades infecciosas, siendo fundamentales los trabajos de Louis Pasteur y Robert Koch. Gracias a las investigaciones de Pasteur se establecieron los fundamentos de la “teoría microbiana de la enfermedad”, abriendo las puertas a la concepción etiológica de la enfermedad y al surgimiento de la microbiología científica (Gómez-Lus & González, 2013).

Los antibióticos son sustancias obtenidas a partir de organismos vivos. Determinamos que éstos presentan acción bacteriostática cuando son capaces de detener la actividad celular bacteriana sin llegar a provocar la muerte de la bacteria; mientras que empleamos el término bactericida cuando sí que provocan dicha muerte. Debido a la infinitud de microorganismos que albergan nuestro ecosistema es probable que los antibióticos fueran empleados por primera vez mucho antes de que la civilización fuera conocedora de su existencia, puesto que las tribus o las poblaciones antiguas donde llevaban a cabo una medicina empírica basada en la experiencia utilizaban la tierra como fuente de curación de enfermedades. Además, existen pruebas que verifican la presencia de tetraciclinas en materiales pertenecientes a las culturas egipcias (Belloso, 2009). En la Serbia, China, Grecia y Egipto de hace más de 2000 años eran usados cataplasmas elaborados a base de pan mohoso. El papiro de Ebers que data del año 1550 a.C. es el documento médico más antiguo que se conserva en la actualidad, en sus páginas se pueden localizar remedios como el pan mohoso o el empleo de la tierra de manera medicinal. Así, transcurrirían bastantes años desde que los antibióticos eran empleados de manera inadvertida hasta que de verdad fueron utilizados con conocimiento de causa (Hutchings et al., 2019).

Paul Ehrlich fue un químico alemán centrado en el estudio de la selectividad que poseían algunos colorantes ante tejidos o bacterias. Gracias a dichos estudios surgió el concepto “bala mágica” haciendo referencia a aquellas sustancias capaces de atacar a un microorganismo de forma exclusiva, es decir, sin causar daño en el hospedador. La búsqueda de aquella bala mágica se convirtió en la meta a alcanzar por los científicos de la época, siendo Ehrlich el primero en comenzar a dar pasos en esta carrera de fondo tras

el descubrimiento de la arsfenamina para el tratamiento de la sífilis. En las primeras décadas del siglo XX fueron probadas numerosas sustancias con potencial terapéutico pero una elevada toxicidad que hacían que dichos compuestos no fueran ni mucho menos ideales como materia prima para la elaboración de medicamentos (Belloso, 2009). No obstante, Alexander Fleming fue el autor de aquel famoso hito que cambió por completo la historia de la terapéutica. Fleming se encontraba estudiando la principal bacteria que coloniza piel y mucosas, *Staphylococcus aureus*, y al volver a la investigación tras unos días ausente observó que una de las placas de agar había sido contaminada con moho del ambiente. Su sorpresa fue cuando se percató que donde había crecido ese moho se había inhibido el crecimiento de la bacteria (Figura 1). Tras estudiar esto más profundamente finalmente demostró que esta inhibición era debida a un compuesto producido por el hongo *Penicillium* al que denominó “penicilina”. A pesar de que este hecho ocurrió en 1928 no fue hasta prácticamente casi dos décadas después cuando se comenzó a emplear en terapéutica (Belloso, 2009).



Figura 1. Placa de *S. aureus* contaminada con *Penicillium chrysogenum*.  
(Belloso, 2009).

Otros científicos siguieron los pasos de Ehrlich en el estudio de los colorantes químicos. Gerhard Domagk se percató de los efectos de un compuesto conocido como Prontosil ante infecciones por estreptococos en ratones. Narra la historia que cuando se encontraba experimentando con Prontosil en un hospital se arriesgó a emplear dicho novedoso compuesto en una herida infectada del brazo de su hija, salvándola de una amputación. Así, las sulfonamidas fueron los primeros compuestos empleados en clínica que no poseían una toxicidad que limitara su uso. A partir de dicho momento comenzó la conocida “era de oro de los antibióticos” cuyo esplendor tuvo lugar en la década de los 50 y en la década de los 60 con la introducción de numerosos antimicrobianos (Figura 2) (Hutchings et al., 2019).

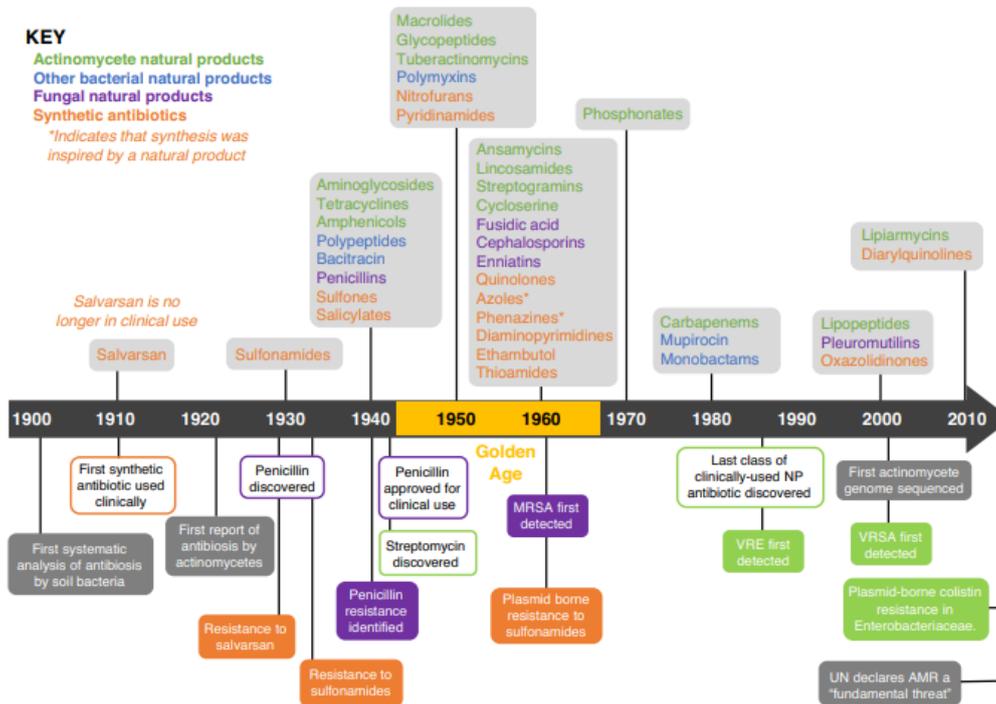


Figura 2. Árbol cronológico en el que se refleja la introducción de los antibióticos en terapéutica y las primeras resistencias desarrolladas por las bacterias (Hutchings et al., 2019).

El hecho de poder aplicar un tratamiento para las enfermedades infecciosas o reducir el riesgo de mortalidad en operaciones como el trasplante de órganos, en quimioterapia contra el cáncer o en diálisis renal supusieron, sin duda, el mayor avance médico del siglo XX y una mejora considerablemente elevada en la esperanza de vida (Figura 3). No obstante, esta etapa dorada fue seguida de un gradual declive en el descubrimiento de los antibióticos puesto que, debido a la idea de que apenas quedaba mundo natural por explotar, el material económico invertido por las empresas farmacéuticas en la investigación de nuevos productos naturales fue reemplazado por la inversión en el descubrimiento de antibióticos sintéticos mediante programas de cribado de alto rendimiento (HTS) que en su mayoría resultaron improductivos (Hutchings et al., 2019). Sumado a este declive, la emoción inicial por el éxito de los antibióticos, los cuáles ayudaron a salvar innumerables vidas, fue viéndose encapotada por la aparición de resistencias a los antimicrobianos (Hutchings et al., 2019). Las bacterias son responsables de numerosas enfermedades o de la complicación de patologías potencialmente mortales, causando desde una simple caries hasta una grave meningitis. En nuestro entorno son abundantes los microorganismos resistentes a los antibióticos, dicha resistencia ha sido adquirida gracias a diferentes mecanismos evolutivos desarrollados para lograr su supervivencia (Ebana et al., 2019).

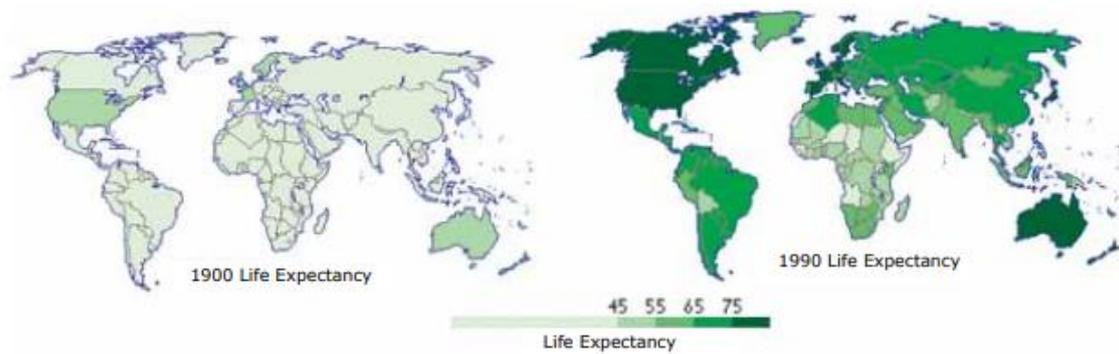


Figura 3. Mapa comparativo de la esperanza de vida en 1900 y en 1990.

(Belloso, 2009).

El término resistencia bacteriana hace referencia a la capacidad de la bacteria de poder subsistir en presencia de la concentración terapéutica eficaz de un antibiótico. La resistencia a los compuestos antimicrobianos puede ser de tres tipos: resistencia innata, resistencia adquirida y resistencia adaptativa (Fernández & Hancock, 2012).

La resistencia innata se debe a propiedades intrínsecas que posee el microorganismo, y que, por tanto, impiden la efectividad del tratamiento; la resistencia adquirida se fundamenta en mutaciones que tienen lugar en el material genético, o bien puede alcanzarse mediante plásmidos o transposones. Por último, la resistencia adaptativa es ocasionada por las alteraciones en la expresión de genes o proteínas desencadenadas por condicionantes ambientales, ocasionando un incremento temporal de la supervivencia de la bacteria al antimicrobiano (Fernández & Hancock, 2012).

En realidad, el origen de la resistencia se localiza en el medio natural. Una cantidad notable de antibióticos como la estreptomycin, cloranfenicol, tetraciclinas o vancomicina son producidos por el género *Streptomyces* sp., y, como es natural, las especies productoras son resistentes a los efectos de los antibióticos que sintetizan, pero también a otros no sintetizados por ellas. Esta multiresistencia es debida a que las bacterias no solo son capaces de adquirir genes mediante transferencia vertical a partir de la bacteria progenitora, sino que también son capaces de adquirirlos de la “comunidad” mediante transferencia horizontal (Perry et al., 2016).

El inicio de la aparición de resistencias fue prácticamente paralelo al descubrimiento de los antibióticos (Figura 2), y esto es así porque, aunque el fenómeno de resistencia sea una cuestión natural, el uso, desde siempre, de manera indebida de los antibióticos ha acelerado el proceso. El hecho de que los antibióticos fueran vistos como una especie de

“panacea universal” conllevó a circunstancias como que la penicilina fuera comercializada en productos de venta libre tales como cremas cosméticas, pastillas para la garganta o ungüentos nasales. En un principio se pensó que si se conocía el mecanismo por el cual la bacteria era capaz de sobreponerse a la acción del antibiótico se podría sintetizar nuevos compuestos que evadieran dicha resistencia. Sin embargo, no se tardó demasiado en descubrir que la velocidad en la que los microorganismos desarrollaban resistencias a los nuevos fármacos semisintéticos era bastante menor a los tiempos que se necesitaban para llevar a cabo todo el proceso de desarrollo, síntesis y experimentación de un nuevo fármaco (Belloso, 2009).

Sumado a las conocidas problemáticas de abandonar los tratamientos antes de tiempo, de no respetar las pautas terapéuticas impuestas por los facultativos o de emplear antibióticos cuando no son necesarios, nos encontramos con la indebida utilización de éstos en agricultura y ganadería. El uso de antibióticos en ambientes donde habitan los animales destinados a consumo humano, su empleo como estimulantes del crecimiento animal o el hecho de no respetar los tiempos necesarios entre la toma de antibióticos y el procesado de los alimentos como la leche o la carne han supuesto un factor importante a la hora de desarrollar resistencias puesto que al ser humano alcanzan concentraciones subterapéuticas de los fármacos. Aunque si bien es cierto que estas cuestiones se encuentran más reguladas en la actualidad, durante mucho tiempo carecían de una normativa adecuada (Belloso, 2009).

Por tanto, el uso inapropiado de los antibióticos ha conducido de manera inevitable a la gran problemática de resistencia bacteriana. El actual ritmo exponencial en la generación de mecanismos de resistencias y su propagación por todo el planeta suponen una grave amenaza para la salud actual y futura de la población, la seguridad alimentaria y el desarrollo, suponiendo una de las principales causas de incremento de la estancia hospitalaria, de la mortalidad y de los costes médicos (OMS, 2020). Tanto es así, que según el informe O’Neill encargado por el gobierno británico, en el año 2050 se prevén a causa de la resistencia que los microorganismos han desarrollado a los antimicrobianos 10 millones de muertes al año (Hutchings et al., 2019). Aunque se estén implantando estrategias para la concienciación de la población ante esta amenaza y planes de actuación como el lanzando por la Organización Mundial de la Salud en mayo de 2015 con finalidad de que las enfermedades infecciosas puedan seguir siendo prevenidas y tratadas con fármacos eficaces y seguros, se hace palpable la necesidad de la búsqueda de alternativas

a los antibióticos entre las que se encuentran los péptidos antimicrobianos, bacteriófagos o nanomateriales (OMS, 2020; Samaniego Velasco, 2021). Sin embargo, en este trabajo nos vamos a centrar en el novedoso mundo de las bacterias depredadoras, que, a diferencia de las bacterias parásitas, son capaces de matar a sus presas consumiendo sus macromoléculas como nutrientes (Pérez et al., 2016).

Nos debemos de remontar 75 años para alcanzar el primer estudio sobre bacterias depredadoras. A lo largo de estos tres cuartos de siglo se ha ido investigando y descubriendo diversas cepas depredadoras, sus estrategias y sus genomas, poniéndose en evidencia su distribución por una amplia variedad de entornos y su indiscutible importancia en la evolución y la biodiversidad. Estas bacterias presentan diferentes “estrategias de caza” como la depredación epibiótica, la depredación endobiótica y el ataque en grupo (Pérez et al., 2016), todas ellas explicadas en mayor profundidad a lo largo del trabajo.

Se han descrito diferentes bacterias depredadoras en la actualidad, aunque todavía quede mucho por investigar. El programa de depredadores patógenos de la agencia de proyectos de investigación avanzada de defensa de Estados Unidos ha comunicado la aportación de 16 millones de dólares para ayudar a la investigación de las bacterias depredadoras. El punto clave del interés que guardan estas bacterias en la terapéutica, y en otros campos como la agricultura o la industria alimentaria, es el hecho de que su genética se encuentra confeccionada para poder terminar con la vida de otras bacterias, simulando una especie de industria en la que se fabrican compuestos alternativos a los conocidos antibióticos (Pérez et al., 2016).

Ahora solo nos queda preguntarnos si realmente tienen un futuro en nuestra clínica, ¿podrán llegar a tener una importancia y efectividad comparable a la de los antibióticos? ¿suponen realmente una buena disyuntiva?. Estas cuestiones intentarán ser resueltas a lo largo de este trabajo.

## **2. OBJETIVOS.**

El principal objetivo de esta revisión bibliográfica es investigar sobre las bacterias depredadoras para alcanzar resultados concluyentes sobre su utilidad terapéutica como alternativa a los antibióticos. En concreto, más específicamente los objetivos pueden ser resumidos en:

- I. Analizar la historia de los antibióticos y la problemática mundial de la resistencia a los antimicrobianos.
- II. Indagar en el concepto de depredación y profundizar en el mundo de las bacterias depredadoras, conociendo sus principales estrategias de caza.
- III. Conocer información relevante sobre algunas de las bacterias depredadores más estudiadas en la actualidad, y cómo éstas pueden ser empleadas para el beneficio humano.
- IV. Reflexionar sobre la utilidad real de esta alternativa.

### 3. METODOLOGÍA.

Para la realización de esta revisión bibliográfica se ha procedido a la búsqueda de información en artículos científicos, libros, trabajos de fin de grado y tesis doctorales. Para ello, la búsqueda principal ha tenido lugar en bases de datos científicas como PubMed, Elsevier o Google Scholar, y fuentes de datos como la OMS (Organización Mundial de la Salud), empleándose palabras clave como “antibiotics”, “predatory bacteria”, “*Myxococcus xanthus*” o “BALOs” para lograr recopilar información sobre la historia de los antibióticos, la resistencia y la depredación bacteriana. Para filtrar los resultados obtenidos durante la búsqueda de información en las bases de datos he empleado los operadores booleanos AND, OR y NOT. Por su parte, para obtener los datos más actualizados acerca de la taxonomía bacteriana ha sido utilizada la base de datos LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature).

La selección de los artículos se ha llevado a cabo conforme a los objetivos del trabajo, buscando de manera progresiva trabajos relacionados con cada uno de los puntos clave en los que se pretendía profundizar, intentando seleccionar aquellos artículos más actuales en relación con el tema en cuestión. No obstante, a lo largo de este trabajo también se han escogido artículos más pasados en la línea temporal pero relevantes.

La gran mayoría de artículos recopilados se encontraban redactados en inglés; si bien, también han sido seleccionados artículos en español. Para la traducción de las fuentes bibliográficas empleadas, además de conocimiento propios, se ha utilizado el diccionario Word Reference.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

Las bacterias son capaces de establecer interacciones muy diversas. Estas interacciones pueden ser positivas, neutras o negativas (Borrego, 2021). La depredación es un tipo de interacción negativa que no solo llevan a cabo las bacterias. Es empleada desde los seres vivos más pequeños hasta los más grandes, desde virus hasta leones en las sabanas o tiburones en el océano, y es que la “vida salvaje” va mucho más allá de lo que nuestros ojos pueden ver, siendo la depredación bacteriana un factor clave en la selección bacteriana, la biodiversidad y la mortalidad en los ecosistemas donde habitan, convirtiéndose en un impulsor del proceso evolutivo. Los organismos eucariotas suelen emplear la depredación sobre organismos de menor tamaño, sin embargo, justo lo contrario es lo común en los organismos procariotas (Pérez et al., 2016). Centrándonos en los organismos procariotas, existen dos tipos de depredadores: los depredadores obligados, que necesitan de la depredación para poder obtener las macromoléculas necesarias para su supervivencia, y los facultativos, que pueden completar su división celular sin estar obligatoriamente en interacción con un huésped (Jurkevitch, 2007).

La fagocitosis es una estrategia empleada por muchos microorganismos eucariotas. Tras englobar a la presa en el interior del fagosoma, ésta es digerida, permitiendo al microorganismo acceder a los nutrientes a medida que se produce dicho proceso. En la vacuola fagocítica se liberan una serie de enzimas hidrolíticas que favorecen al proceso de fagocitosis mediante un mecanismo de acidificación del medio. Sin embargo, este proceso se encuentra condicionado por la dimensión de la presa ya que debe poseer un tamaño adecuado para poder ser “engullida” dentro del fagosoma (Berleman & Kirby, 2009).

##### **4.1. Estrategias de depredación microbiana.**

El progreso de las técnicas de secuenciación genética ha permitido poder conocer datos interesantes sobre el genoma de las bacterias depredadoras, así como establecer diferencias con el genoma de las no depredadoras. Entre estas diferencias encontramos (Pérez et al., 2016):

- Una cuantiosa cantidad de genes que codifican adhesinas, enzimas líticas como proteasas u otras proteínas implicadas en la adhesión y destrucción de las estructuras celulares de las víctimas bacterianas.

- Resalta el hecho de que en muchas ocasiones no son autosuficientes para poder sintetizar vitaminas y/o aminoácidos debido a la escasez de las vías completas necesarias para ello. Así, estas macromoléculas son obtenidas a partir de sus presas.
- Las bacterias que llevan a cabo un ataque en grupo presentan un elevado número de sintetetasas de polipéptidos no ribosomales encargadas de la síntesis de metabolitos secundarios relacionados con la inhibición y muerte de sus “cazas”.

Las estrategias de depredación más empleadas por las bacterias van a ser vistas a lo largo de las siguientes páginas de este trabajo. Cabe destacar que estas estrategias no son excluyentes entre sí. Por ejemplo, *Lysobacter* sp. puede llevar a cabo tanto una depredación epibiótica en solitario como una estrategia de ataque en grupo (Pérez et al., 2016).

#### 4.1.1. Depredación epibiótica.

Se trata de un tipo de estrategia donde el depredador no penetra en el interior de la célula atacada. Por contrario, éste queda anclado a la pared celular degradando los componentes celulares de la bacteria presa y comenzando un ciclo de división celular desde el exterior (Figura 4). Los géneros más estudiados son *Vampirococcus*, *Bacillus*, *Micavibrio*, *Stenotrophomonas*, *Vampirovibrio*, *Bdellovibrio*, *Streptomyces*, *Lysobacter*, *Ensifer*, *Cupriavidus* y *Cytophaga* (Berleman & Kirby, 2009; Pérez et al., 2016).

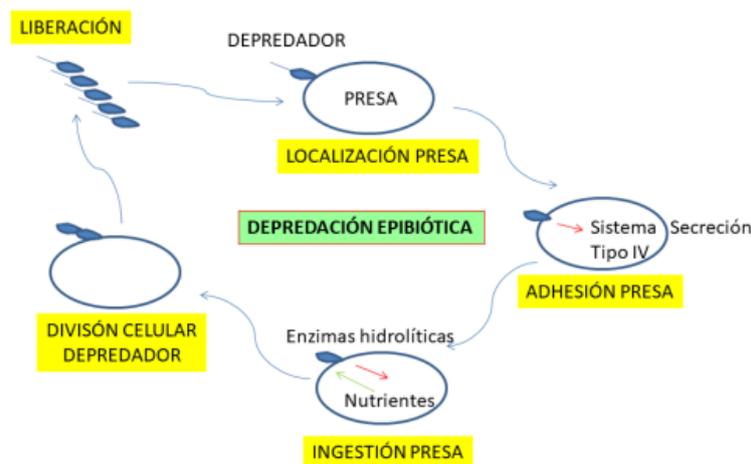


Figura 4. Esquema representativo de la depredación epibiótica (Borrego, 2021).

Citando el género *Vampirococcus* (de ahí, que también sean conocidas como “bacterias vampiro”), una de las localizaciones de este género es el agua. En el agua albergan numerosas especies de bacterias como es el caso del género *Chromatium* perteneciente al

orden bacterias púrpuras del azufre, bacterias Gram negativas capaces de llevar a cabo la fotosíntesis anoxigénica lo que les permite situarse en zonas del océano alejadas de la luz solar. Allí, en las zonas más bajas del océano *Vampirococcus* sp. y sus 0,6 micrómetros de tamaño, son capaces de emplear puentes citoplasmáticos para llevar a cabo la depredación epibiótica (Figura 5) enriqueciéndose del contenido de otras bacterias acuáticas como *Chromatium* sp., a la vez que llevan a cabo su división celular. Se trata de un depredador obligado que necesita de su presa para poder completar su ciclo vital. Además del citado género *Chromatium*, *Vampirococcus* sp. es capaz de atacar a otras especies bacterianas fotosintéticas (Guerrero et al., 1986).

Dentro de este tipo de estrategia podemos encontrarlos (Berleman & Kirby, 2009; Pérez et al., 2016):

- Bacterias como *Ensifer adhaerens* que lleva a cabo una depredación epibiótica formando grupos, pero no es necesario que exista un número mínimo de ellos como sí que ocurre en las estrategias de ataque en grupo.
- Bacterias como *Cytophaga* sp. y *Lysobacter* sp. que necesitan de proximidad con la célula presa para poder llevar a cabo la lisis celular mediante la producción de enzimas líticas.
- Bacterias como *Stenotrophomonas maltophilia* y *Cupriavidus necator* que combinan la depredación epibiótica con la producción de factores líticos difusibles, mecanismo similar al que emplean eucariotas que no llevan a cabo la fagocitosis como es el caso de los hongos. En este caso no se requiere del contacto celular. La lisis celular ocurre gracias a una serie de metabolitos secundarios difusibles cuya producción suele relacionarse con situaciones de niveles bajos de nutrientes. Este tipo de técnica también es empleada por *Streptomyces* sp., capaz de liberar metabolitos como la estreptomycinina.

El ataque de estas bacterias presenta especificidad por bacterias Gram negativas (Berleman & Kirby, 2009).



Figura 5. Representación gráfica del ataque epibiótico llevado a cabo por *Vampirococcus* sp. frente a *Chromatium* sp. mediante microscopía electrónica de transmisión utilizando tetróxido de osmio como agente de tinción (Pérez et al., 2016).

#### 4.1.2. Depredación endobiótica o invasión directa.

A diferencia de la estrategia anterior, en este caso sí que existe invasión del periplasma o citoplasma. Tanto la obtención de macromoléculas como la división celular de la bacteria depredadora se produce en el interior de su presa. Esta invasión tiene lugar gracias a la secreción de enzimas hidrolíticas que alteran la pared celular del microorganismo que pretende invadir (Figura 6) (Borrego, 2021). Una vez producida la invasión, comenzará la etapa replicativa de la bacteria depredadora a la vez que ésta obtiene los recursos nutritivos que la presa puede aportarle. Posteriormente, se produce la lisis de la pared bacteriana de la célula atacada con la correspondiente liberación de las células hijas formadas a partir de la célula madre depredadora durante el proceso replicativo. A diferencia del mecanismo fagocítico, necesita de una célula huésped con el tamaño lo suficientemente grande como para poder albergar a la bacteria depredadora que no puede seguir su ciclo de vida fuera de la célula parasitada. Los géneros más estudiados son *Daptobacter* (Figura 7) y *Bdellovibrio*, depredadores obligados con especificidad de ataque sobre bacterias Gram negativas. En el caso de *Bdellovibrio* sp. la fase de crecimiento se encuentra acompañada de la formación de una estructura que recibe el nombre de bdelloplasto, este ciclo será estudiado en mayor profundidad posteriormente en este trabajo (Berleman & Kirby, 2009).

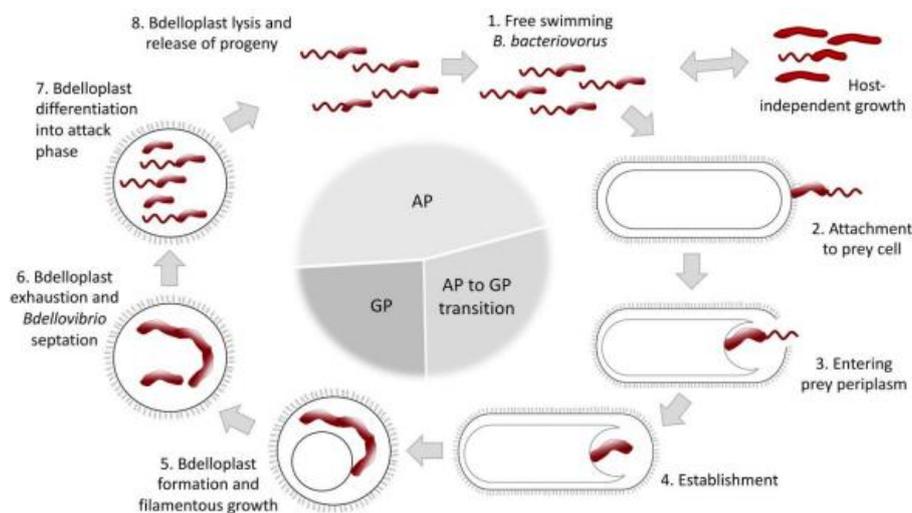


Figura 6. Esquema representativo de la depredación endobiótica ejemplificado con el ciclo de vida de *Bdellovibrio bacteriovorus*: localización de la presa, anclaje a la presa, invasión, formación del bdelloplasto, desarrollo, septación y liberación de la progenie. AP, fase de ataque (attack phase); GP, fase de crecimiento (growth phase) (Bratanis et al., 2020).



Figura 7. Ilustración representativa de la estrategia endobiótica con invasión del citoplasma de *Chromatium* sp. por parte de *Daptobacter* sp.

La imagen ha sido obtenida a través de la técnica de microscopía electrónica de transmisión empleando tetróxido de osmio como agente de tinción (Pérez et al., 2016).

#### 4.1.3. Ataque grupal.

Existen una serie de depredadores bacterianos que pueden actuar como cazadores en solitario. No obstante, en la naturaleza prefieren actuar en grupos de forma cooperativa. Como es de suponer, el ataque en manada necesita de una agrupación de bacterias, en este ataque cada célula individual se encarga de producir metabolitos secundarios y enzimas hidrolíticas que posteriormente serán compartidos entre todas ellas, siendo capaces de degradar a las bacterias presas con éxito y coordinación (Pérez et al., 2022). Los ejemplos más representativos son *Myxococcus* sp., siendo *Myxococcus xanthus* la especie más estudiada, *Streptomyces* sp., *Lysobacter* sp., *Saprospira* sp. y *Herpetosiphon* sp. Todas ellas presentan capacidad de ataque epibiótico grupal. Por el momento, no se conocen especies bacterianas que empleen una depredación endobiótica de manera grupal (Borrego, 2021).

Esta estrategia solo es llevado cabo por depredadores facultativos, que, en condiciones de ausencia de presas, ostentan la capacidad de llevar a cabo un estilo de vida saprófito. Los depredadores facultativos presentan una ventaja sobre depredadores obligados como *Bdellovibrio* sp. Esta ventaja hace referencia a la capacidad de ataque tanto a bacterias Gram negativas como a bacterias Gram positivas (Korp et al., 2016). La depredación en grupo requiere de un quórum de células depredadoras, es por este motivo por lo que se trata de un tipo de ataque característico de aquellas bacterias que presenten un comportamiento social que recuerda a la formación de biofilms, con sistemas de comunicación complejos y motilidad deslizante (Korp et al., 2016). En esta revisión bibliográfica, para lograr comprender mejor este tipo de estrategia, se empleará como bacteria modelo *M. xanthus*.

*Saprospira* sp. es una particular bacteria filamentosa Gram negativa que habita en el medio acuático, se caracteriza por presentar filamentos multicelulares helicoidales que conforman una estructura reticular tridimensional que le permite capturar y, por ende,

lisar a su presa mediante contacto directo debido a que este género no presenta capacidad de síntesis de compuestos bactericidas. Ha sido comprobado que la actuación en grupo de las células filamentosas supone un incremento de la velocidad del proceso. Estas bacterias son móviles por deslizamiento, su actividad letal parece estar relacionada con este hecho debido a que las presas quedan atrapadas en las corrientes mucilaginosas generadas gracias a su movimiento bacteriano deslizante (Borrego, 2021; Pérez et al., 2016).

A continuación, procedemos a adentrarnos en una explicación más extendida de las especies bacterianas depredadoras más estudiadas en la actualidad, y que mayores expectativas tienen de ser importante en un futuro próximo para ser empleados como una posible alternativa favorable a los recursos ya existentes contra las enfermedades infecciosas: *M. xanthus* y especialmente, el grupo bacteriano conocido como BALOs (*Bdellovibrio* y organismos similares).

#### **4.2. *Myxococcus xanthus*.**

A pesar de que son bastante escasos los ensayos realizados en torno al empleo de este microorganismo unicelular Gram negativo como un “antibiótico vivo”, su complejo mecanismo de ataque, su amplio genoma de 9,13 Mb y su alta tasa de éxito depredador hacen de sumo interés su estudio (Berleman & Kirby, 2009). De hecho, estamos ante uno de los genomas más grandes del mundo procariota (Pérez et al., 2022), y este hecho se encuentra relacionado con la complejidad de su modo de ataque. Antes de poder estudiar su repercusión en la futura práctica clínica, es relevante poder deslucir en profundidad cómo lleva a cabo su mecanismo de depredación, y es en esta cuestión en la que se encuentran enfocadas la mayor parte de las investigaciones científica actuales que tienen como centro de su investigación a esta especie bacteriana (Berleman & Kirby, 2009; Pérez et al., 2022).

##### **4.2.1. Localización, taxonomía y estilo de vida.**

*M. xanthus* fue aislada en 1941 (Beebe, 1941) y se encuentra incluida en la familia *Myxococcaceae*, en el orden *Myxococcales* y la clase *Deltaproteobacteria* (Parte et al., 2020). La mayor parte de las mixobacterias pertenecientes al orden *Myxococcales* habitan en el suelo (Berleman & Kirby, 2009). A pesar de ser un organismo unicelular presenta comportamientos multicelulares durante su ciclo de vida mediante la formación de cuerpos fructíferos y el ataque colectivo (Mercier & Mignot, 2016).

#### 4.2.2. Formación de cuerpos fructíferos.

Al igual que ocurre en los mohos mucilaginosos, en situaciones poco favorables para la supervivencia se forman los denominados cuerpos fructíferos macroscópicos (Figura 8) conformados por estructuras multicelulares complejas donde tiene lugar la diferenciación a esporas resistentes. En realidad, durante el proceso de desarrollo que transcurre en un espacio temporal con escasez de nutrientes, nos encontramos con tres subpoblaciones de células: la primera de ellas se transforma en mixosporas redondeadas, la segunda queda como bastoncillos periféricos y la fracción mayoritaria de células inducen su propia muerte con el objetivo de suministrar nutrientes que permitan la diferenciación y agregación de las células. Cuando retornan las condiciones favorables a partir de las mixosporas con capacidad germinativa se formarán nuevos enjambres depredadores (Pérez et al., 2022; Thiery & Kaimer, 2020).

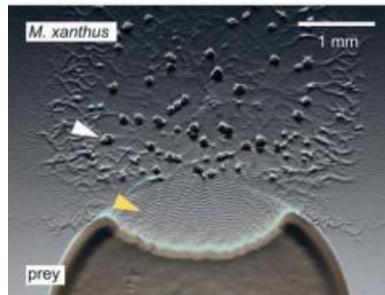


Figura 8. Representación de la depredación epibiótica grupal, obtenida a través de la técnica microscópica “time-lapse”, llevada a cabo por *M. xanthus*: el triángulo blanco representa los cuerpos fructíferos multicelulares que forman las células de *M. xanthus* mientras que el triángulo amarillo refleja su movimiento en ondas oscilantes (Thiery & Kaimer, 2020).

#### 4.2.3. Depredación bacteriana.

*M. xanthus* realiza una depredación epibiótica, pero generalmente la lleva a cabo de manera grupal para garantizar el éxito. De hecho, la comunidad científica avala la idea de que la depredación eficaz requiere de la actuación de las células en grupo. Se caracterizan porque en situaciones de baja proporción de nutrientes las células individuales se agrupan para trabajar en comunidad poniendo en marcha una serie de complejos sistemas de regulación en los que intervienen más de 1400 genes (Berleman & Kirby, 2009).

Como depredación epibiótica que es, para que pueda producirse de manera efectiva *M. xanthus* debe localizarse en un área cercana a la bacteria presa donde las células secretarán un conjunto de enzimas hidrolíticas que permiten el ataque a su víctima (Mercier & Mignot, 2016). El hecho de que el ataque deba producirse en la proximidad de las células

presa hace necesario la existencia en la bacteria depredadora de un sistema de secreción de proteínas; particularmente, en su genoma se codifica para los sistemas II, III (incompleto) y VI; o bien estas bacterias pueden llevar a cabo el ataque mediante un mecanismo de secreción proteica muy común en bacterias Gram negativas basado en la formación de vesículas que envuelven el contenido proteico, tras producirse la fisión de la célula a la que pertenecen, las vesículas quedan liberadas al medio fusionándose con la membrana externa de la bacteria presa. Este segundo mecanismo ofrece una serie de ventajas frente al primero, ya que permite que la concentración de compuestos líticos que alcanzan la célula atacada sea más elevada, además de que el interior de estas vesículas funciona como un almacén de diversos compuestos líticos, esta variedad de compuesto líticos que pueden ser empleados para el ataque bacteriano, no solo aumenta la eficacia del ataque, sino que también reduce la posibilidad de que la célula atacada desarrolle mecanismos de resistencia (Thiery & Kaimer, 2020).

La agrupación de células lleva a cabo lo que se conoce como “motilidad social”, donde las bacterias se deslizan lentamente en el medio gracias a que poseen pili polares de tipo IV (TFP) que se extienden y retraen permitiendo el movimiento (motilidad S) (Mercier & Mignot, 2016). De forma alternativa, pueden desplazarse en solitario movilizados por una especie de motores localizados lateralmente en la envoltura celular. Este tipo de motilidad se conoce como “motilidad aventurera” (motilidad A) (Mercier & Mignot, 2016). El desplazamiento de esta bacteria se describe como un movimiento en ondas oscilantes (Figura 8) que permite incrementar la tasa de expansión alrededor de la presa y permanecer el mayor tiempo posible en dicha expansión al verse reducido el desplazamiento cuadrático medio, es decir, el desplazamiento aleatorio de las células individuales. La motilidad S y A se encuentran reguladas por la vía de señalización *frzF*, un sistema quimiosensorial especializado que permite garantizar la lisis celular de sus presas (Thiery & Kaimer, 2020). Mediante esta vía las señales son conducidas al módulo de control de polaridad compuesto por las proteínas MgIA (activador central de la motilidad), MgIB (proteína activadora de la enzima GTPasa MgIA) y RomR (proteína reguladora de la respuesta multidominio), y el cambio de polaridad se traduce en un cambio en la dirección del movimiento bacteriano (Mercier & Mignot, 2016). Sin embargo, en la actualidad no se conoce con exactitud ni cuáles son las señales de activación de la vía *frzF* ni cómo estas señales alcanzan el módulo de polaridad. Aunque no se hayan podido evidenciar la secreción de compuestos quimioatrayentes, el debate de

que el proceso de quimiotaxis juegue un papel fundamental en los comportamientos multicelulares de *M. xanthus* se encuentra activo en la actualidad puesto que se han localizado otras vías similares a la vía *frzF*, como la vía de transducción de señales de quimiotaxis (Che); además de 21 proteínas semejantes a la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP). Por tanto, en caso de que esta idea fuera cierta, una mutación en los genes implicados en el movimiento bacteriano supondría una disminución en la tasa de éxito del proceso de depredación al verse reducida la efectividad en la búsqueda de la presa (Mercier & Mignot, 2016; Thiery & Kaimer, 2020).

Para poner de manifiesto la reorganización celular en forma de ondas oscilantes durante el ataque depredador, Berleman y demás investigadores del grupo realizaron un ensayo con cepas de *M. xanthus* DZ2 con bajo nivel intrínseco de autólisis y con cepas de *Escherichia coli* 2155 sensibles al ácido diaminopimélico (DAP). Mediante microscopía de fluorescencia y microscopía de contraste de fases, pudieron concluir que, en ausencia de la presa, las colonias de *M. xanthus* se deslizan de forma aleatoria en grupos amorfos, sin patrón estable tras una hora después de la incubación (Figura 9A); por contrario, en presencia de la presa, las células depredadoras se organizan de forma mantenida durante el ataque en ondas ondulantes dinámicas y paralelas (Figura 9B) (Berleman et al., 2008).

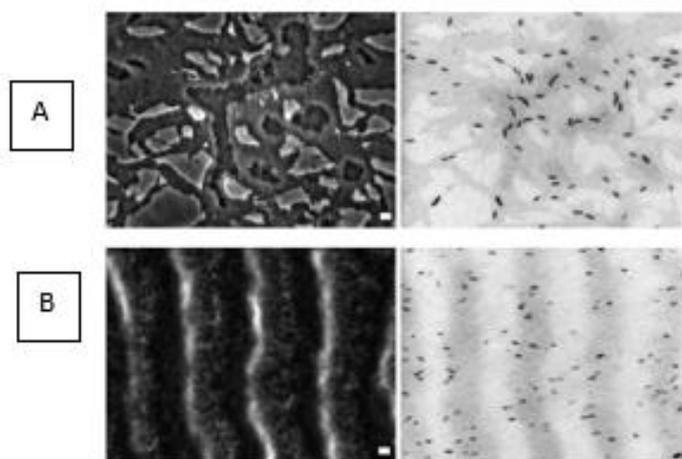


Figura 9. A) Desplazamiento aleatorio de *M. xanthus* DZ2 en ausencia de *E. coli* 2155; B) Desplazamiento regular en ondas oscilantes de *M. xanthus* DZ2 en presencia de *E. coli* 2155 (Berleman et al., 2008).

#### 4.2.4. Material genético: metabolitos, enzimas y sistemas reguladores.

En un estudio llevado a cabo mediante tecnología RNA-seq para estudiar las modificaciones transcripcionales producidas en la bacteria depredadora cuando ésta se encuentra en una situación de ataque se determinó que a las 2 horas de comenzar el proceso de depredación predominan las vías relacionadas con el metabolismo de los ácidos grasos, fosforilación oxidativa y la producción de metabolitos secundarios. Sin

embargo, a las 6 horas serán dominantes los procesos de traducción para la inducción de la síntesis de péptidos, ARNt y metabolismo de proteínas (Pérez et al., 2022).

Como bacteria depredadora que es, no es de extrañar que su ADN sea rico en genes que codifican proteínas encargadas de la síntesis de metabolitos secundarios, enzimas degradantes y mecanismos reguladores (Berleman & Kirby, 2009; Pérez et al., 2022). De hecho, *M. xanthus* es capaz de sintetizar compuestos como (Thiery & Kaimer, 2020):

- Sideróforos que otorgan la capacidad a la bacteria de apropiarse del hierro de la célula atacada.
- Bacteriocinas similares a las sintetizadas por nuestra microbiota normal como mecanismo de defensa ante bacterias patógenas.
- Pigmentos que podrían utilizarse como mecanismo de ataque al ser estas moléculas capaces de absorber la luz visible y pasar de un estado normal a un estado excitado, desencadenando una cadena de reacciones de fotooxidación cuyo resultado puede ser la muerte del microorganismo.
- Antibióticos dirigidos contra hongos y bacterias.

Dentro de los antibióticos producidos nos encontramos la mixovirescina A (en inglés, myxovirescin A) que conduce a la formación en células en desarrollo de enlaces cruzados entre la pared celular y la membrana interna al actuar sobre la enzima peptidasa II, inhibiendo la maduración de la lipoproteína, o la mixoprincomida (en inglés, myxoprincomide) que es un péptido de 9 aminoácidos cuyo mecanismo de acción no se encuentra del todo esclarecido (Thiery & Kaimer, 2020). Se ha concluido que éstos a pesar de no tener un papel fundamental a la hora de la depredación sí que pueden favorecerla. En el caso de la mixoprincomida parece que su función se basa en reducir la acción de alguno de los antibióticos producidos por las células presas. Por tanto, la ausencia de producción de este antibiótico en las células depredadoras solo afectará negativamente a la tasa de crecimiento de *M. xanthus* frente a bacterias productoras de antibióticos cuya acción pueda ser contrarrestada gracias a la actuación de la mixoprincomida, pero no sobre cepas que hayan sufrido una mutación que bloquee la capacidad de producir antibióticos (Thiery & Kaimer, 2020). Por otro lado, la mixovirescina A parece intervenir neutralizando el metabolismo de la presa haciendo más fácil la tarea de degradar las células mediante enzimas hidrolíticas (Thiery & Kaimer, 2020).

### **4.3. *Bdellovibrio* y organismos similares (BALOs).**

#### **4.3.1. Taxonomía y localización.**

*Bdellovibrio* fue por primera vez aislado por Stolp y Starr en 1963 (Stolp & Starr, 1963) mientras realizaban un estudio sobre bacteriófagos del suelo, y la primera especie en estudio dentro de este género fue *Bdellovibrio bacteriovorus* (Stolp & Starr, 1963) perteneciente a la familia *Bdellovibrionaceae*. Hasta el año 2017 este género era incluido dentro de la clase *Deltaproteobacteria*. No obstante, ha sido reclasificado en la clase *Oligoflexia* (Hahn et al., 2017; Parte et al., 2020). Por tanto, desde este momento las bacterias incluidas dentro del grupo BALOs quedaron divididas en dos clases: la clase *Oligoflexia*, que incluye las familias *Bdellovibrionaceae*, *Peredibacteraceae*, *Bacteriovoraceae*, *Pseudobacteriovoraceae* y *Halobacteriovoraceae*, y la clase *Alfaproteobacteria* únicamente conformada por el género *Micavibrio* (Lambina et al., 1989). Las bacterias del género *Micavibrio* presentan un estilo de vida similar al de las bacterias del género *Bdellovibrio* y es por ello por lo que se incluye dentro de los BALOs (Parte et al., 2020; Solana-Guillén, 2021).

A pesar de que su principal hábitat es el suelo, estas bacterias han sido localizadas más allá de los ambientes terrestres. De hecho, se trata de un microorganismo ubicuo también hallado en ambientes acuáticos, como depósitos de aguas termales, capas anaeróbicas de lagos sulfurosos, sedimentos marinos árticos e incluso en el intestino de mamíferos (Ebana et al., 2019; Guerrero et al., 1986).

#### **4.3.2. Depredación bacteriana.**

En la gran mayoría de bacterias pertenecientes a los BALOs predomina la depredación endobiótica, adentrándose en el espacio periplasmático de su presa para beneficiarse de los compuestos extraídos. Sin embargo, las especies perteneciente al género *Micavibrio* (Figura 10) incluido dentro de este grupo bacteriano, y algunas especies del género *Bdellovibrio* llevan a cabo una depredación epibiótica. El hecho de que existan dos diferentes tipos de depredación en un mismo grupo de organismos se debe a que especies pertenecientes a él han evolucionado de manera independiente en algún momento de la línea temporal. Estos organismos se encuentran muy extendidos en nuestro entorno, siendo otras bacterias sus objetivos de caza, especialmente bacterias Gram negativas, y entre sus favoritas se encuentran *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Deeg et al., 2020; Ebana et al., 2019).

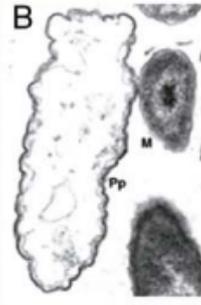


Figura 10. *Micavibrio* sp. (M) frente a *Pseudomonas corrugata* (Pp). Ilustración obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión empleando tetróxido de osmio como agente de tinción (Pérez et al., 2016).

Centrándonos en la depredación endobiótica del género *Bdellovibrio*, su ciclo vital (Figura 6) ha podido ser observado gracias a la microscopía electrónica y a la microscopía de contraste de fases: transcurre en una primera etapa de búsqueda de la bacteria presa gracias a la movilidad que le aporta su flagelo unipolar y envainado (fase de ataque) y una segunda etapa donde tiene lugar la depredación endoplasmática (fase de crecimiento). En esta última etapa, el depredador, tras penetrar en el interior de la membrana externa de su presa a través de un pequeño poro como consecuencia de la acción enzimática de peptidasas y glicanasas encargadas de la degradación del peptidoglicano de la pared bacteriana, crecerá en el periplasma de la presa adoptando una estructura característica conocida como bdelloplasto. Esta estructura puede ser definida como una célula presa en posesión de una membrana externa redondeada y osmóticamente estable en cuyo periplasma se pueden apreciar células de *Bdellovibrio* sin flagelo. Dichas células se encuentran sumergidas en un proceso replicativo, a medida que va transcurriendo la replicación de las bacterias van formando una larga estructura en espiral. La fase de crecimiento seguirá vigente hasta que las bacterias logren hacerse con todo el tesoro nutritivo que la bacteria atacada puede aportarles. Cuando llega este momento, tiene lugar la separación por fisión múltiple tras un proceso de septación, obteniéndose 5-8 células hijas, cada una de ellas con su correspondiente flagelo. Tras la lisis bacteriana serán liberadas numerosas células del depredador para reiniciar de nuevo todo el proceso que dura en torno a 4 horas (Deeg et al., 2020; Sockett & Lambert, 2004; Stolp, 1973).

Se ha demostrado que conforme sea mayor el número de presas que se encuentran disponibles para ser atacadas, mayor será la posibilidad de adherirse a ellas. Esto es así porque parece ser que en esa primera etapa de localización de las presas interviene un proceso de quimiotaxis que permite a las células detectar las señales que las conducen hacia donde haya una elevada carga alimenticia. Si bien, factores como la temperatura, el pH o la composición del medio influirán en este proceso (Ebana et al., 2019). Su genoma completo es bastante grande, y gracias a ello, contiene la información genética necesaria

para su metabolismo; no obstante, se trata de un depredador obligado pues necesita de la depredación de la presa para obtener nutrientes que son incapaces de sintetizar por sí mismos. Además, cabe destacar, que a diferencia de *M. xanthus* no presenta capacidad de formación de cuerpos fructíferos (Lovering & Sockett, 2021).

A pesar de que la depredación endobiótica sea predominante, dentro del género *Bdellovibrio* han sido aisladas especies con un mecanismo de depredación epibiótica. Este es el caso de *Bdellovibrio exovorus*, que no penetra en el periplasma bacteriano para llevar a cabo la fase de crecimiento, sino que por contrario permanece adherida al exterior de la bacteria atacada (Deeg et al., 2020).

#### **4.3.3. Caracterización de los BALOs: condiciones de crecimiento, morfología y genoma.**

Estamos ante microorganismos aerobios y mesófilos cuya temperatura óptima para el crecimiento ronda los 28-30 °C, sin capacidad de formación de endosporas (Ebana et al., 2019).

En cuanto a la morfología del género *Bdellovibrio* presenta un aspecto ligeramente curvado, tipo vibroide, que recuerda a una varilla en forma de coma con presencia de un flagelo envainado (Figura 11) (Deeg et al., 2020).

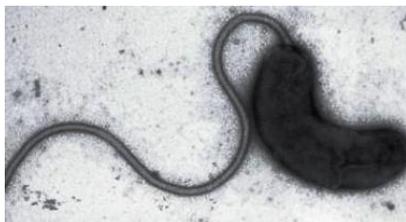


Figura 11. Morfología bacteriana de *B. bacteriovorus* observada en microscopio electrónico de transmisión (Ebana et al., 2019).

Por norma general, la depredación epibiótica se encuentra relacionada con un genoma comparativamente más pequeño que aquel que poseen las bacterias con una depredación endobiótica. Tras *B. exovorus*, *Candidatus Bdellovibrio qaytius* ha sido la segunda especie de *Bdellovibrio* encontrada con este tipo de depredación, hallada en un estanque eutrófico templado de Canadá, siendo su dimensión de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  x 0,4  $\mu\text{m}$  (Deeg et al., 2020). Sin embargo, a pesar de llevar a cabo una depredación sin intrusión en el periplasma, este microorganismo presenta un genoma que resulta complejo, tanto es así que el tamaño de dicho genoma alcanza 3,35 Mb, a diferencia de los 2,66 Mb de *B.*

*exovor* cuyo tamaño celular comprende de 0,5-1,4  $\mu\text{m}$  x 0,5  $\mu\text{m}$  (Deeg et al., 2020). Por tanto, resulta llamativo que su material genético se aproxime más, en cuanto a número de pares de bases, a organismos con una depredación endobiótica como es el caso de *B. bacteriovorus* HD100 cuyo material genético es de 3,78 Mb y su tamaño comprende de 0,5-1,4  $\mu\text{m}$  x 0,3-0,5  $\mu\text{m}$  (Deeg et al., 2020). Por otro lado, también cabe destacar que esta nueva especie presenta el menor contenido de G+C de todas las especies del género, disminuyendo su adaptación a medios con elevada temperatura. Con esto, podemos concluir que a pesar de conocer las características generales del género *Bdellovibrio*, cada especie presenta particularidades. Por tanto, antes de estudiar una especie con vistas a la futura práctica clínica, es importante conocer todas las características individuales de dicha especie, y de ese modo tener la capacidad de poder comprender cómo dicha bacteria podría interactuar con nuestro organismo (Deeg et al., 2020).

Finalmente, en este trabajo, nos centraremos en la cuestión central que nos ocupa, ¿son las bacterias depredadoras una opción para combatir la resistencia a los antibióticos?

#### **4.4. Bacterias depredadoras como alternativa a los antibióticos.**

Las bacterias depredadoras están despertando el interés de diversos grupos de investigación debido a su posible uso como arma para frenar el crecimiento bacteriano de aquellas bacterias que han desarrollado resistencias a los convencionales antibióticos. Actualmente, los BALOs son los organismos en los cuáles se están centrando la mayoría de las investigaciones realizadas, y en particular, la especie más estudiada es *B. bacteriovorus* gracias a que su genoma, ciclo de vida y mecanismo de depredación se encuentran bien esclarecidos en la actualidad. Además de en el campo médico, estas bacterias también pueden ser empleadas como recursos biológicos (Pérez et al., 2022). De hecho, se prevé que pueden llegar a resultar de una gran utilidad en salud, medio ambiente y agricultura (Ebana et al., 2019).

Al igual que ocurre en cualquier tratamiento candidato a ser empleado en la práctica clínica, la primera cuestión donde debemos adentrarnos es en la seguridad del uso de las bacterias depredadoras como “antibióticos vivos”, continuando por comprobar su porcentaje de eficacia. Por tanto, son de suma importancia las investigaciones sobre la inocuidad y efectividad de dichas bacterias cuando son administradas para luchar contra una infección bacteriana ya instaurada en nuestro organismo (Ebana et al., 2019).

#### 4.4.1. ¿Suponen las bacterias depredadoras una alternativa segura y efectiva?

En las bacterias, de forma general, la capa de lipopolisacáridos se encuentra conformada por lípido A con grupos fosfatos cargados negativamente. Sin embargo, uno de los principales motivos que avalan la seguridad de esta alternativa es la peculiaridad de que el lípido A que conforma la capa de lipopolisacáridos de los BALOs contiene residuos de  $\alpha$ -D-manosa en lugar de grupos fosfato (Figura 12). Al carecer de cargas negativas en su estructura presentan una afinidad significativamente menor, con respecto a otras bacterias que sí poseen los grupos fosfato formando parte del lípido A, por los receptores de lipopolisacáridos (LPS) de las células de mamíferos; por esto mismo, los macrófagos humanos producen una baja proporción de IL-6 y TNF- $\alpha$  ante la exposición a los BALOs, no originándose reacciones inmunogénicas graves en el ser humano (Schwudke et al., 2003).

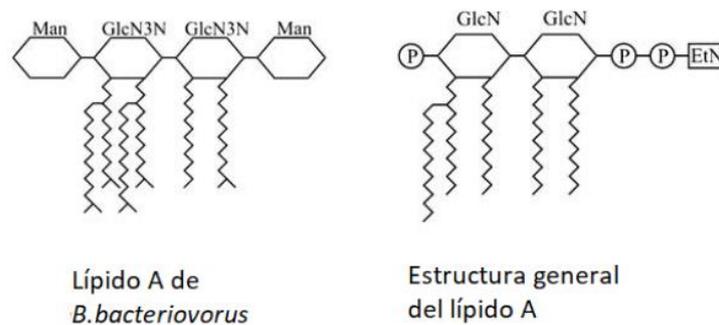


Figura 12. Diferencia en la estructura del lípido A de *B. bacteriovorus* con respecto a la estructura general del lípido A (Cortés-Prieto, 2019).

Ha sido demostrado mediante diferentes estudios que la administración mediante inyección o ingestión de los BALOs produce una leve respuesta inflamatoria, pero sin llegar a suponer una fuente de daño para los mamíferos (Solana-Guillén, 2021).

Además de la evaluación de la respuesta inflamatoria y efectos tóxicos producidos por las bacterias depredadoras, la eficacia en la erradicación de las bacterias causantes de infecciones humanas y animales supone un punto clave en las investigaciones llevadas a cabo. El grupo Nakamura realizó la primera administración *in vivo* de *B. bacteriovorus* (Nakamura, 1972). El objetivo de este ensayo se basaba en evaluar su capacidad para disminuir la gravedad de una queratoconjuntivitis donde *Shigella flexneri* era protagonista. La administración de ambas bacterias fue ejecutada de forma conjunta en el íleon de conejos empleados como animales de experimentación, el resultado concluido

por el grupo investigador fue una reducción en la carga bacteriana de *S. flexneri* si *B. bacteriovorus* era inoculada en las primeras 48 horas tras la infección. Posteriormente, se evaluó la seguridad de una aplicación ocular de *B. bacteriovorus* en casos donde no existía daño y en casos en los que sí se habían producido alteraciones en el epitelio corneal, no notificándose efectos adversos en ninguno de los dos planteamientos (Bonfiglio et al., 2020; Nakamura, 1972). Posteriormente, numerosos científicos han llevado a cabo diferentes ensayos donde la bacterias depredadoras eran protagonistas (Bonfiglio et al., 2020; Ebana et al., 2019; Gupta et al., 2016; Iebba et al., 2013; Iebba et al., 2014; Kadouri & O'Toole, 2005; Kongrueng, 2017; Patini et al., 2019; Romanowski et al., 2016; Shatzkes et al., 2017; Westergaard & Kramer, 1977)

El grupo investigador Romanowoski (Romanowski et al., 2016) provocó defectos en el epitelio corneal de conejos, las cepas de bacterias depredadoras empleadas fueron *Micavibrio aeruginosavorus* ARL-13, *B. bacteriovorus* HD100 y *B. bacteriovorus* 109J. Mediante ELISA se midieron los niveles de citoquinas proinflamatorias en el sobrenadante obtenido a partir de queratocitos, y se comprobó que las bacterias depredadoras no inducían un aumento de IL-1 $\beta$  pero sí de IL-8. Se conoce que la IL-8 juega un papel fundamental a la hora de promover la atracción de monocitos y neutrófilos al foco dónde se está produciendo la infección bacteriana lo que supondría una ventaja para que nuestro propio sistema inmune luche contra la bacteria patógena; no obstante, cabe citar que dicha interleucina también ha sido relacionada con patologías como la aterosclerosis o la angiogénesis de células endoteliales (Russo et al., 2014). Sin embargo, la respuesta inflamatoria decayó a los niveles iniciales tan solo 18 horas tras la inoculación, no siendo duradera en el tiempo (Romanowski et al., 2016). Por su parte, se comparó los efectos tóxicos producidos por la administración de vancomicina 5 g/100 mL con respecto a los producidos por la administración de los BALOs. La vancomicina ocasionó inflamación de la conjuntiva y producción de moco ocular mientras que las bacterias depredadoras no indujeron ningún daño aparente en la conjuntiva, no siendo observadas diferencias significativas con aquellos conejos únicamente tratados con solución salina (grupo control) (Figura 13) (Romanowski et al., 2016).

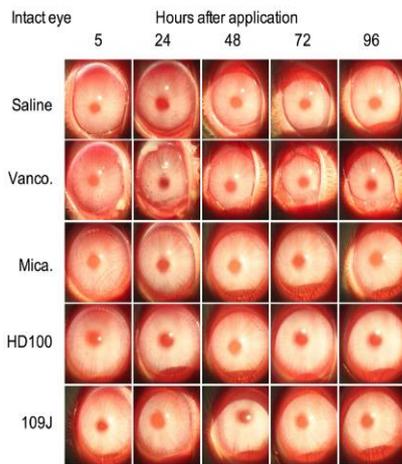


Figura 13. Comparación de la afectación de la conjuntiva a las 5, 24, 48, 72 y 96 horas tras la inoculación en ojo de solución salina, vancomicina, *M. aeruginosavorus* ARL-13, *B. bacteriovorus* HD100 y *B. bacteriovorus* 109J. Imágenes obtenidas mediante el empleo de una lámpara de hendidura (Romanowski et al., 2016).

Por su parte, Shatzkes y colaboradores pusieron de manifiesto la reducción de la carga de *Klebisella pneumoniae* en pulmones de ratas al administrar un aerosol de *B. bacteriovorus* (Shatzkes et al., 2017). En su investigación se observó mediante técnicas moleculares el aumento moderado de las citoquinas inflamatorias al transcurrir una hora de la inoculación en ratones por vía inhalatoria e intravenosa; sin embargo, esta respuesta no perduró tras 24 horas concluyéndose la seguridad de la administración (Bonfiglio et al., 2020).

En 2016 se realizó un estudio en cinco líneas celulares humanas expuestas a las cepas *P. aeruginosa* PA14 y *E. coli* 43888; y a las cepas depredadoras *M. aeruginosavorus* ARL-13, *B. bacteriovorus* HD100 y *B. bacteriovorus* 109J (Gupta et al., 2016). Este estudio resulta muy útil para poder comprender qué efecto tendrían si fueran administradas *in vivo* en seres humanos. Las líneas celulares expuestas a dosis elevadas de bacterias depredadoras fueron queratinocitos (HaCaT), células epiteliales hepáticas (HepG2), monocitos del bazo (MD), monocitos sanguíneos (THP-1) y células renales (HK-2). En primer lugar, llevaron a cabo un ensayo de citotoxicidad tras 24 horas después de la exposición donde se comprobó el efecto citotóxico de *P. aeruginosa* para todas las líneas celulares en un 80-95%, mientras que las cepas depredadoras no causaron una disminución significativa de la viabilidad en ninguna de las líneas celulares ( $p > 0,05$ ), llegando incluso a incrementarla en el caso de los monocitos sanguíneos en un 5-17%. Posteriormente, se evaluó la respuesta inflamatoria y en el caso de *E. coli* se vieron duplicados los niveles de al menos dos de las nueve citoquinas estudiadas en cuatro de las líneas celulares. Por su parte, las bacterias depredadoras no indujeron cambios significativos en cuatro de las cinco líneas celulares, mientras que para la línea celular THP-1 sí se cuantificaron niveles elevados de IL-1 $\beta$  y IL-6 a las 4 y 24 horas tras

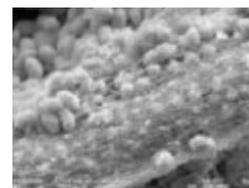
incubación, siendo también considerable el aumento transcurridas 24 horas de GMCSF (Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor; induce la expresión de diferentes citoquinas, así como la modulación de la respuesta inmunológica), IL-10, IL-12p70 y TNF- $\alpha$ . No obstante, el aumento observado en IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  fue menor que el provocado por *E. coli*, además se conoce que la IL-10 presenta un efecto inhibitor de la respuesta inflamatoria. Los efectos observados en la respuesta inflamatoria podrían ser explicados por la dosis elevada de bacterias depredadoras que fueron empleadas, siendo 10 veces mayor a la dosis empleada de *E. coli*, aunque esta cuestión debiera de ser comprobada. Así, este estudio llevado a cabo por Gupta y su equipo avala la seguridad del empleo de bacterias depredadoras en un amplio espectro de células humanas (Gupta et al., 2016).

Puesto que las bacterias depredadoras son estudiadas como una opción viable ante la ineficacia de los antibióticos, un objetivo que deben cumplir para suponer una buena alternativa es ser eficaces contra aquellas bacterias que han desarrollado la capacidad de eludir la respuesta antibiótica. Se ha demostrado que *B. bacteriovorus* y *M. aeruginosavorus* son depredadores de cepas bacterianas dotadas de genes de resistencias como es el caso de aquellas cepas que cuentan con actividad carbapenemasa de tipo KPC (betalactamasas con capacidad para hidrolizar e inactivar la acción de todos los antibióticos betalactámicos. Se localizan en bacterias como *K. pneumoniae*) o  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE: betalactamasas capaces de inactivar a la mayoría de los antibióticos betalactámicos, exceptuando cefamicinas y carbapenemes) y de tipo AmpC (serin-betalactamasas que actúan en mayor medida como cefalosporinasas, presentes de forma natural en gran parte de las enterobacterias y en Gram negativas no fermentadoras como *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*). Además, también actúan sobre cepas de *P. aeruginosa* resistentes a las fluoroquinolonas (Ebana et al., 2019).

#### **4.4.2. Bacterias depredadoras y biofilms.**

Los biofilms ostentan un papel fundamental en las infecciones resistentes a los fármacos antibióticos. Un biofilm es definido como una comunidad de células de microorganismos impregnadas en una matriz polimérica extracelular y adheridas a un tejido vivo o a una superficie inerte (Figura 14). Por tanto, esta matriz de exopolisacáridos les confiere un seguro adicional de protección, complicándose tanto la eficacia del tratamiento con antibióticos como la actuación de nuestro sistema inmunitario (Lasa et al., 2005).

Figura 14. Biofilm de *Salmonella enteritidis* observado a través de microscopía electrónica de barrido (Lasa et al., 2005).



Una positiva particularidad que poseen las bacterias depredadoras con respecto a la mayoría de los antibióticos es su capacidad de ataque sobre estas resistentes comunidades bacterianas. El grupo de investigación de Kadouri evaluó la actividad depredadora de *B. bacteriovorus* sobre un biofilm de *E. coli* (Kadouri & O'Toole, 2005). Para evaluar la viabilidad celular del biofilm ante la presencia de la bacteria depredadora emplearon tanto la microscopía electrónica de barrido como una tinción con cristal. Los resultados obtenidos reflejaron que con una proporción pequeña de colonias depredadoras ( $10^2$  UFC/pocillo) y en tan solo 30 minutos tras la exposición ya era observable una reducción del biofilm, reducción que transcurridas 24 horas alcanzó niveles del 87%. Seguidos a éste, se han realizado otros estudios que confirman estos primeros resultados, comprobándose una mayor tasa de eficacia del ataque depredador cuando el biofilm ya se encuentra formado que previamente a su formación; además, el porcentaje de éxito es variable en función de la especie formadora del biofilm, siendo *E. coli* la especie más vulnerable al ataque depredador (Tabla 1) (Sun et al., 2017). En 2017, la OMS publicó una lista de bacterias para las cuáles era de excesiva relevancia invertir en I+D en la búsqueda de nuevos antibióticos, con prioridad crítica fueron citadas las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, cabe destacar que todas ellas presentan capacidad de formación de biofilms (OMS, 2017).

Tabla 1. Capacidad depredadora de *B. bacteriovorus* sobre especies formadoras de biofilms (Sun et al., 2017).

Especies formadoras de biofilms	Tasa de éxito de <i>B. bacteriovorus</i> para frenar la formación de biofilms.	Tasa de éxito de <i>B. bacteriovorus</i> para reducir la viabilidad celular de biofilms ya formados.
<i>E. coli</i>	65,2%	83,4%
<i>K. pneumoniae</i>	37,1%	81,8%
<i>P. aeruginosa</i>	44,7%	83,1%
<i>A. baumannii</i>	36,8%	79,9%

También ha sido comprobada la actuación de los BALOs contra biofilms formados por *Vibrio parahaemolyticus*, causante de una necrosis hepatopancreática aguda. Los resultados de esta aplicación fueron satisfactorios viéndose reducida la mortalidad y la biopelícula formada por este microorganismo (Ebana et al., 2019; Kongrueng, 2017).

Por su parte, en el año 2014, Iebba y el resto del grupo investigador probaron la capacidad de ataque de *B. bacteriovorus* HD100 sobre biofilms formados por *P. aeruginosa* y *S. aureus*, principales causantes de la fibrosis quística. El hecho del posible ataque sobre *S. aureus* supuso una nueva ventana de estudio puesto que la depredación sobre Gram positivos no había sido comprobada hasta el momento, y se observó que la depredación empleada contra *S. aureus* fue una depredación epibiótica a diferencia de la depredación endobiótica que por norma general presenta (Iebba et al., 2014). Sin embargo, no se ha realizado un gran avance en este área, siendo el ataque contra Gram positivos una cuestión por descubrir.

#### **4.4.3. Supervivencia en ambientes anaerobios.**

Aunque el tracto digestivo parece tener un ambiente predominantemente anaerobio, es cierto que la relación que establecen las diferentes bacterias que en él habitan podría generar un gradiente de oxígeno favorable para las bacterias aerobias (Bonfiglio et al., 2020). Westergaard y Kramer pusieron en pie una investigación en el año 1977 con la idea de alcanzar datos esclarecedores sobre el destino final de las células de una cepa MS7 de *B. bacteriovorus* aislada en aguas residuales (Westergaard & Kramer, 1977). Para ello, se procedió a la administración de esta cepa vía oral a ranas, ratones y peces. *In vitro* esta cepa era capaz de multiplicarse en el intestino de los animales; sin embargo, *in vivo* los resultados no fueron concluyentes. En el caso de los peces solo una pequeña proporción de las células fueron encontradas en heces al cabo de los 6 días, en el caso de las ranas la recuperación en heces de las células depredadoras fue decayendo de forma considerable a lo largo del tiempo siendo máxima a los 15 minutos y mínima al transcurrir 48 horas y, por último, en el caso de los ratones no se recuperó ninguna célula de *Bdellovibrio*, lo que significa que la cepa MS7 no pudo establecerse como miembro de la microbiota intestinal de los ratones. En mamíferos, los primeros estudios que se realizaron fueron desmotivadores puesto que ponían de manifiesto la incapacidad de *Bdellovibrio* de sobrevivir en el intestino. Aunque, recientemente sí que se han encontrado células de *Bdellovibrio* en heces de mamíferos de vacas, caballos, cerdos y patos, lo que podría significar que dependiendo de la cepa empleada puede colonizar o no en el intestino de

mamíferos, y, por ende, en los seres humanos. Así, Iebba y otros investigadores procedieron a seguir indagando sobre esta cuestión y sacaron una serie de conclusiones al respecto (Iebba et al., 2013). En primer lugar, el crecimiento de *Bdellovibrio* es menor a medida que se avanza en el tracto digestivo siendo máximo en duodeno; en segundo lugar, determinaron que en personas con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad celíaca la colonización de esta bacteria se encuentra reducida con respecto a personas sanas, cuestión que podría ser motivada por la alteración de la microbiota intestinal producida en estas enfermedades (Bonfiglio et al., 2020). Patini y su grupo (Patini et al., 2019) demostraron que, aunque la capacidad depredadora de estos organismos se ve reducida en condiciones de anaerobiosis, parece ser que sí son capaces de sobrevivir el tiempo suficiente para atacar a sus bacterias presas en estos ambientes. El hecho de que los BALOs se hayan encontrado en heces de mamíferos, indicando que, probablemente, están presentes en el intestino de este tipo de animales, sugieren además su posible uso como probióticos (Sockett, 2004).

#### **4.4.4. Ventajas e inconvenientes.**

Por tanto, según los datos extraídos, el empleo de estas bacterias como método de erradicación de bacterias que han desarrollado resistencias a los antibióticos presenta una serie de ventajas. En primera instancia, ostentan con una gran especificidad atacando a las bacterias sin ocasionar un grave daño en células eucariotas lo que conlleva a que, en principio, pudieran ser bien toleradas por los seres humanos sin generar respuestas inmunitarias graves para los pacientes; por otro lado, son capaces de atacar a un amplio espectro de bacterias Gram negativas y este ataque puede tener lugar tanto a biofilms como a cultivos aislados (Hoare et al., 2017).

Los inconvenientes a los que hay que hacer frentes son (Bonfiglio et al., 2020; Ebana et al., 2019):

- Organismos como los BALOs parecen ser aerobios estrictos lo cuál sería muy limitantes para su empleo en cavidades con ambientes principalmente anaerobios como el intestino o el tracto urinario; si bien, los estudios más recientes sí revelan la posible supervivencia en estos ambientes, aunque por el momento se desconoce el tiempo en el que permanecen viables.
- La capa S superficial de algunas bacterias suponen un mecanismo de defensa, reduciéndose la efectividad en la actuación de las bacterias depredadoras.

- Estudios avalan la necesidad de una rápida administración del depredador. Por contrario, parece verse muy reducido el efecto por superioridad de la carga bacteriana de la presa frente a la carga bacteriana del depredador.
- La actividad depredadora de los BALOs se ve muy disminuida frente a bacterias Gram positivas, limitando su uso a infecciones causadas por Gram negativas.

A pesar de que la inducción de resistencias parece ser considerablemente menor en el caso de las bacterias depredadoras con respecto a los antibióticos convencionales, sí ha podido ser comprobado de forma experimental que las bacterias depredadoras al ser incorporadas a un ecosistema son capaces de generar una veloz evolución de las bacterias a las que ataca, desarrollándose en ellas mecanismos defensivos como alteraciones en la morfología celular o en componentes de la superficie celular dificultando así la adhesión de las depredadoras, además de otras tácticas defensivas tales como la formación de biopelículas, aumento de la velocidad de desplazamiento de los bacilos flagelados, secreción de antibióticos y la liberación de toxinas perjudiciales para los depredadores (Pérez et al., 2016). Por ejemplo, *E. coli* o *Bacillus subtilis* utilizan la formación de biopelículas para su protección. Por su parte, *Bacillus licheniformis* reduce su susceptibilidad a ser atacado mediante glicosilación de la mixovirescina A (Thiery & Kaimer, 2020). Por tanto, estos mecanismos también juegan un papel como factores de virulencia llevando a las bacterias atacadas a adquirir capacidad patógena (Pérez et al., 2016).

Finalmente, no cabe duda, de que “el papel de lo infinitamente pequeño es infinitamente grande” (Louis Pasteur, 1822-1895).

## 5. CONCLUSIONES.

A partir de toda la información recopilada a lo largo de este trabajo bibliográfico, se pueden extraer las siguientes conclusiones dando respuesta a los objetivos planteados:

- I. El descubrimiento de los antibióticos supuso una mejora exponencial en el tratamiento de las enfermedades infecciones y en el aumento de la esperanza de vida; no obstante, pronto empezarían a aparecer las primeras resistencias. Actualmente, la resistencia a los antibióticos es considerada como uno de los principales problemas de salud a nivel mundial; por ello, se hace innegable la necesidad de búsqueda de alternativas adecuadas.
- II. Las bacterias depredadoras han conseguido elucubrar estrategias eficaces de depredación que provocan la muerte de sus competidores microbianos. Así, estas bacterias podrían ostentar un gran papel en la lucha *in vivo* contra las enfermedades infecciosas en animales o en seres humanos.
- III. La eficacia demostrada del ataque grupal epibiótico llevado a cabo por *Myxococcus xanthus* junto con la posible actuación de esta especie frente a bacterias Gram positivas y su mayor capacidad de supervivencia ante condiciones poco favorables suponen una ventaja frente al ataque bacteriano endobiótico realizado por el género *Bdellovibrio*, el cuál ve limitado su actuación frente a bacterias Gram negativas; por tanto, resultaría de gran interés ampliar la línea de investigación a estudios relacionados con su aplicación contra las enfermedades infecciosas, comprobándose la seguridad de su administración.
- IV. A pesar de los inconvenientes a superar y la necesidad de continuar indagando en cuestiones tan importantes como eficacia, calidad, seguridad, margen terapéutico, relación beneficio-riesgo o relación beneficio-coste, de momento, la mayor parte de las investigaciones llevadas a cabo en torno al género *Bdellovibrio* parecen avalar su empleo como alternativa a la terapia antibiótica gracias a los favorables resultados obtenidos en relación a la seguridad y eficacia de esta alternativa consecuencia de la comprobada baja respuesta inmunitaria generada tras su administración y el éxito de ataque frente a bacterias que han obtenido la capacidad de eludir la acción de los tradicionales antibióticos, así como su actuación frente a los biofilms bacterianos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Beebe JM. The morphology and cytology of *Myxococcus xanthus*, n. sp. Am J Soc Microbiol. 1941; 42 (2): 193-223. <https://doi.org/10.1128/jb.42.2.193-223.1941>
2. Belloso WH. Historia de los antibióticos. Rev Hosp italiano B. Aires. 2009; 29 (2): 102-111. [https://www1.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias\\_attachs/47/documentos/7482\\_102-111-belloso.pdf](https://www1.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_attachs/47/documentos/7482_102-111-belloso.pdf)
3. Berleman JE, Scott J, Chumley T, Kirby JR. Predatix behavior in *Myxococcus xanthus*. Proc Natl Acad Sci. 2008; 105 (44): 17127-17132. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804387105>
4. Berleman JE, Kirby JR. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack. FEMS Microbiol Rev. 2009; 33 (5): 942–957. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00185.x>
5. Bonfiglio G, Neroni B, Radocchia G, Marazzato M, Pantanella F, Schippa S. Insight into the possible use of the predator *Bdellovibrio bacteriovorus* as a probiotic. Nutrients. 2020; 12 (8): 1-18. <https://doi.org/10.3390/nu12082252>
6. Borrego, JJ. Bacterias depredadoras. Encuentros en la biología. 2021; 19 (177): 10-13. [https://encuentros.uma.es/assets/journals/14/177Singles/177.4\\_Bacterias.pdf](https://encuentros.uma.es/assets/journals/14/177Singles/177.4_Bacterias.pdf)
7. Bratanis E, Andersson T, Lood R, Bukowska-Faniband E. Biotechnological potential of *Bdellovibrio* and like organisms and their secreted enzymes. Front Microbiol. 2020; 11 (662): 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00662>
8. Cortés-Prieto MS. Bacterias depredadoras: *Bdellovibrio bacteriovorus* y sus posibles aplicaciones. Trabajo de fin de grado. Universidad Complutense. Madrid. 2019. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20ISABEL%20CORTES%20PRIETO.pdf>
9. Deeg CM, Le TT, Zimmer MM, Suttle CA. From the inside out: an epibiotic *Bdellovibrio* predator with an expanded genomic complement. J bacteriol. 2020; 202 (8): 1-13. <https://doi.org/10.1128/JB.00565-19>
10. Ebanu RU, Edet UO, Anosike IK, Etok CA. *Bdellovibrio* and like organisms: the much-anticipated “magic bullet”. World News Nat Sci. 2019; 23: 233-249. <http://www.worldnewsnaturalsciences.com/wp-content/uploads/2019/01/WNOFNS-23-2019-233-249-2.pdf>

11. Fernández L, Hancock REW. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25 (4): 661–681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
12. Gaceta UNAM. Sobreuso de antibióticos, otra alerta en el mundo. 2021. [Consultado en mayo 2023]. Disponible en: <https://www.gaceta.unam.mx/sobreuso-de-antibioticos-otra-alerta-en-el-mundo/>
13. Gómez-Lus ML, González J. La teoría microbiana y su repercusión en medicina y salud pública. *Esfera salud.* 2013. [Consultado en febrero 2023]. Disponible en: <https://esferasalud.com/wp-content/uploads/2013/04/Teor%C3%ADa-Microbiana.pdf>
14. Guerrero R., Pedrós-Alió C, Esteve I, Mas J, Chase D, Margulis L. Predatory prokaryotes: predation and primary consumption evolved in bacteria. *Proc Natl Acad Sci.* 1986; 83 (7): 2138-2142. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.7.2138>
15. Gupta S, Tang C, Tran M, Kadouri DE. Effect of predatory bacteria on human cell lines. *Plos One.* 2016; 11 (8): 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161242>
16. Hahn MW, Schmidt J, Koll U, Rohde M, Verborg S, Pitt A, Ryosuke N, Takeshi N, Elke L. *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of *Silvanigrellaceae* fam. nov. and *Silvanigrellales* ord. nov., reclassification of the order *Bdellovibrionales* in the class *Oligoflexia*, reclassification of the families *Bacteriovoracaceae* and *Halobacteriovoraceae* in the new order *Bacteriovoracales* ord. nov., and reclassification of the family *Pseudobacteriovoracaceae* in the order *Oligoflexales*. *Int J Syst Evolut Microbiol.* 2017; 67 (8), 2555–2568. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001965>
17. Hoare A, Marsh PD, Diaz PI. Ecological therapeutic opportunities for oral diseases. *Am J Soc Microbiol.* 2017; 5 (4): 1-23. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0006-2016>.
18. Hutchings M., Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol.* 2019; 51: 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
19. Iebba V, Santangelo F, Totino V, Nicoletti M, Gagliardi A, De Biase RV, Cucchiara S, Nencioni L, Pia-Conte M, Schippa S. Higher prevalence and abundance of *Bdellovibrio bacteriovorus* in the human gut of healthy Subjects. *Plos One.* 2013; 8 (4): 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061608>

20. Iebba V, Totino V, Santangelo F, Gagliardi A, Ciotoli L, Virga A, Ambrosi C, Pompili M, De-Biase RV, Selan L, Artini M, Pantanella F, Mura F, Passariello C, Nicoletti M, Nencioni L, Trancassini M, Quattrucci S, Schippa S. *Bdellovibrio bacteriovorus* directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cystic fibrosis isolates. *Front Microbiol* 2014; 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00280>
21. Jurkevitch E. A brief history of short bacteria: a chronicle of *Bdellovibrio* (and like organisms) research. *Predatory prokaryotes-biology, ecology and evolution*. 4<sup>a</sup>. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 2007. p.1-10. Disponible en: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/7171\\_051](https://link.springer.com/chapter/10.1007/7171_051).
22. Kadouri D, O'Toole GA. Susceptibility of biofilms to *Bdellovibrio bacteriovorus* attack. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71 (7): 4044–4051. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.4044-4051.2005>
23. Kongrueng J, Mitraparp-arthorn P, Bangpanwimon K, Robins W, Vuddhakul V, Mekalanos J. Isolation of *Bdellovibrio* and like organisms and potential to reduce acute hepatopancreatic necrosis disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Inter Res Sci Publ*. 2017; 124 (3): 223-232. <https://doi.org/10.3354/dao03120>.
24. Korp J, Vela-Gurovic MS, Nett M. Antibiotics from predatory bacteria. *Beilstein J Org Chem*. 2016; 12: 594-607 <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.58>
25. Lambina VA, Afinogenova AV, Romay Penobad Z, Konovalova SM, Andreev LV. New species of exoparasitic bacteria of the genus *Micavibrio* infecting gram-positive bacteria. *Mikrobiologiya*. 1983; 52 (5): 777-780. <https://www.semanticscholar.org/paper/%5BNew-species-of-exoparasitic-bacteria-of-the-genus-Lambina-Afinogenova/7e3d0a17d0ad80cb83138765bbaffcaf449a190f>
26. Lasa I, Del Pozo JL, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. *Anales Sis San Navarra*. 2005; 28 (2). [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272005000300002](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000300002)
27. Parte AC, Sardà-Carbasse J, Meier-Kolthoff JP, Reimer LC, Göker M. List of Prokaryotic names with standing in nomenclature. *Int J Syst Evolut Microbiol*. 2020; 70 (11). [Consultado en abril 2023]. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>
28. Lovering AL, Sockett RE. Microbe profile: *Bdellovibrio bacteriovorus*: a specialized bacterial predator of bacteria. *Microbiol Soc*. 2021; 167 (4): 1-3. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.001043>

29. Mercier R, Mignot T. Regulations governing the multicellular lifestyle of *Myxococcus xanthus*. *Curr Opin Microbiol.* 2016; 34: 104-110. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.08.009>.
30. Nakamura M. Alteration of *Shigella* pathogenicity by other bacteria. *Am J Clin Nutr.* 1972; 25 (12): 1441-1451. <https://doi.org/10.1093/ajcn/25.12.1441>
31. Patini R, Cattani P, Marchetti S, Isola G, Quaranta G, Gallenzi P. Evaluation of predation capability of periodontopathogens bacteria by *Bdellovibrio Bacteriovorus* HD100. An in vitro study. *Materials.* 2019; 12 (12): 1-9. <https://doi.org/10.3390/ma12122008>
32. Pérez J, Moraleda-Muñoz A, Marcos-Torres FJ, Muñoz-Dorado J. Bacterial predation: 75 years and counting! *Environ Microbiol.* 2016; 18 (3): 766-779. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13171>
33. Pérez J, Contreras-Moreno FJ, Muñoz-Dorado J, Moraleda-Muñoz A. Development versus predation: transcriptomic changes during the lifecycle of *Myxococcus xanthus*. *Front Microbiol.* 2022; 13: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1004476>
34. Perry J, Wagelchner N, Wright G. The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspect Med.* 2016; 6 (6): 1-9. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025197>
35. Organización mundial de la salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Informe de un grupo científico de la OMS. Ginebra: OMS; 2017. [Consultado en marzo 2023]. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
36. Organización mundial de la salud. Resistencia a los antibióticos. Informe de un grupo científico de la OMS. Ginebra: OMS; 2020. [Consultado en febrero 2023]. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>.
37. Romanowski EG, Stella NA, Brothers KM, Yates KA, Funderburgh ML, Funderburgh JL, Gupta S, Dharani S, Kadouri DE, Shanks RMQ. Predatory bacteria are nontoxic to the rabbit ocular surface. *Sci Rep.* 2016; 6: 1-9. <https://doi.org/10.1038/srep30987>
38. Russo RC, García CC, Teixeira MM, Amaral FA. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014; 10 (5): 593-619. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2014.894886>

39. Samaniego-Velasco C. La era post antibiótica: buscando alternativas. Trabajo de fin de grado. Universidad de Sevilla. 2021. [Consultado en marzo 2023]. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/133267/SAMANIEGO%20VELASCO%20CARMEN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
40. Schwudke D, Linscheid M, Strauch E, Appel B, Zähringer U, Moll H, Muller M, Brecker L, Gronow S, Lindner B. The obligate predatory *Bdellovibrio bacteriovorus* possesses a neutral lipid containing  $\alpha$ -D-mannoses that replace phosphate residues. *J Biol Chem.* 2003; 278 (30): 27502–27512. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303012200>
41. Shatzkes K, Tang C, Singleton E, Shukla S, Zuena M, Gupta S, Dharani S, Rinaggio J, Connell ND, Kadouri ED. Effect of predatory bacteria on the gut bacterial microbiota in rats. *Natl Libr Med.* 2017; 7 (43483): 1-12. <https://doi.org/10.1038/srep43483>
42. Sockett RE, Lambert C. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance? *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2 (8): 669-675. <https://www.nature.com/articles/nrmicro959>
43. Solana-Guillén R. Caracterización biológica y ecología de BALOs en una planta de depuración simbiótica de aguas residuales. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. 2021. Disponible en: <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/103570>.
44. Stolp H, Starr MP. *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1963; 29: 217-248. <https://doi.org/10.1007/BF02046064>
45. Stolp H. The *Bdellovibrios*: bacterial parasites of bacteria. *Annu Rev Phytopathol.* 1973; 11 (1): 53–76. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.11.090173.000413>
46. Sun Y, Ye J, Hou Y, Chen H, Cao J, Zhou T. Predation efficacy of *Bdellovibrio bacteriovorus* on multidrug-Resistant clinical pathogens and their corresponding biofilms. *Jpn J Infect Dis.* 2017; 70 (5): 485-489. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2016.405>
47. Thiery S, Kaimer C. The predation strategy of *Myxococcus xanthus*. *Front Microbiol.* 2020; 11 (2): 1-7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00002>
48. Westergaard JM, Kramer TT. *Bdellovibrio* and the intestinal flora of vertebrates. *Appl Environ Microbiol.* 1977; 34 (5): 506-511. <https://doi.org/10.1128/aem.34.5.506-511.1977>