

## **BACTERIOCINAS: VISIÓN BÁSICA Y APLICADA**

### **BACTERIOCINS: BASIC AND APPLIED VISION**

Isabella Cañaverl Sánchez<sup>1\*</sup>, Julia R. Chalarca<sup>1</sup> Vélez, Duverney Gaviria Arias<sup>1</sup>.

Universidad Libre de Pereira, Microbiología

Autor de correspondencia: isabella-canaverals@unilibre.edu.co

Recibido: 10 de septiembre de 2020

Aceptado: 15 de junio de 2021

#### **Abstract**

Bacteriocins, defined as antimicrobial peptides (PAMs) are ribosomally synthesized molecules, consisting of 12-100 amino acids synthesized by certain microbes and which are released extracellularly to inhibit the growth of other microbes. Among PAM molecules, bacteriocins are produced by Gram-positive and Gram-negative bacterial species and are used to eliminate or inhibit other prokaryotes in the environment. Currently its classification is based on aspects such as mechanism of action, genetic location, molecular weight and chemical characteristics and production methods. Bacteriocins have traditionally been used as food preservatives, either added to or produced by starter cultures during fermentation. In-depth studies of a few selected bacteriocins have allowed them to break through and extend their application possibilities to new fields of research and have expanded their uses to biomedical fields. The ability to develop bacteriocins into next-generation antibiotics, along with rapid development in genetics and nanotechnology, has paved the way for even more fascinating advances, such as towards the development of new transporter molecules (delivery systems) and even cancer treatment. Furthermore, some bacteriocins are found to regulate quorum detection, suggesting new applications for this group of molecules.

**Keywords: bacteriocins, classification, biotechnological uses**

## **Introducción**

Los escasos nutrientes en el ambiente, la competencia con otros organismos por el espacio y los recursos, y la defensa contra sustancias u organismo extraños; desencadenan la producción de una variedad de sustancias antimicrobianas, con el fin de poder sobrevivir en un ambiente particular. Se han identificado muchas sustancias antibacterianas producidas por animales, plantas, insectos y bacterias. Entre estas, el peróxido de hidrógeno, algunos ácidos grasos, ácidos orgánicos, etanol, antibióticos y bacteriocinas (Cotter et al., 2005). Los péptidos antimicrobianos (PAM) o las proteínas producidas por bacterias con función bactericida se clasifican como bacteriocinas. Las bacteriocinas son abundantes, tienen una gran diversidad y se ha identificado que algunos de ellas tienen la capacidad de acabar con otros microorganismos relacionadas con el microorganismo productor (espectro estrecho) o no relacionados con este (espectro amplio) funcionando como una de las armas inherentes del sistema de defensa de las bacterias (Cotter et al., 2005). Más del 99% de las bacterias pueden producir al menos una bacteriocina, sin embargo, la mayoría de ellas no se han podido identificar (Riley & Wertz, 2002). La capacidad de eliminar de las bacteriocinas se considera una estrategia exitosa para mantener la población y reducir el número de competidores para obtener más nutrientes y espacio vital en los entornos. A diferencia de la mayoría de los antibióticos, que son metabolitos secundarios, las bacteriocinas se sintetizan ribosómicamente, son de naturaleza proteica, por lo que son sensibles a las proteasas. Paralelo a lo reportado que establece que las bacteriocinas son inofensivas para el cuerpo

humano y el medio ambiente circundante, se han desarrollado múltiples aplicaciones biotecnológicas que se asocian con sus diferentes modos de acción y sus características. En este sentido, las bacteriocinas han sido usadas en la industria de alimentos, como preservantes, en la industria farmacéutica, como agentes antimicrobianos en humanos, plantas y animales; y como moléculas para el tratamiento del cáncer (Balciunas et al., 2013).

## **Metodología**

Este trabajo corresponde a una investigación no experimental transversal de tipo correlacional - causal con base documental donde se analizó la información proveniente de trabajos científicos basados en las investigaciones sobre conceptos básicos y aplicaciones biotecnológicas de las bacteriocinas.

### **Fuentes de información y plan de recolección**

La recolección de información consistió en una búsqueda sistemática de publicaciones científicas que cumpliera los criterios de calidad de la metodología aplicada a la investigación, así como su grado de evidencia; que permitiera identificar los avances científicos sobre la caracterización, clasificación, posibles aplicaciones y el mercado actual que representa las bacteriocinas. Estos criterios usando bases de datos que incluyan revistas con altos niveles de calidad e indexación (SCOPUS y PUBMED). La búsqueda se realizó teniendo en cuenta la información disponible de bacteriocinas; conceptos básicos, caracterización bioquímica y molecular, investigaciones relacionadas al uso de bacteriocinas como preservante alimentario, posibles usos biotecnológicos y el mercado mundial que representa las

bacteriocinas en diferentes industrias. Adicionalmente, se incluyeron las estructuras reportadas en la base de datos del PDB a modo de ejemplo de cada uno de los grupos. Se definió la inclusión de todos los artículos disponibles hasta septiembre de 2020. El algoritmo de búsqueda empleado analizó la inclusión o exclusión en el título, el resumen y las palabras clave de los artículos publicados: ((bacteriocin OR antimicrobial peptide) AND classification) AND (biotechnological uses AND biomedical application OR food preservative OR antimicrobial resistance) AND (bioinformatics OR data base). Los artículos seleccionados fueron descargados y luego revisados para posteriormente clasificar aquellos que se ajustaran a los objetivos específicos de este trabajo, considerando los títulos y resúmenes de cada artículo.

## **Resultados**

### **Péptidos antimicrobianos**

Los péptidos antimicrobianos (PAM) son moléculas que contienen una longitud que va de 12 a unos 100 aminoácidos. Estos, por lo general, poseen una carga neta catiónica y características anfipáticas, se sintetizan y liberan para actuar extracelularmente (Jenssen et al., 2006; Rios et al., 2016). Son producidos por varias especies (desde bacterias hasta mamíferos) y se usan para inactivar o inhibir el crecimiento de microbios en el medio ambiente (Jenssen et al., 2006). Hasta la fecha, se han descrito más de 1.700 PAM diferentes (Rios et al., 2016), los cuales actúan a diferentes niveles, por ejemplo, funcionando como moléculas antimicrobianas, generando daño o desestabilización de membranas bacterianas y fúngicas al igual que cápsides virales, adicionalmente, actúan en los

procesos de reclutamiento de células del sistema inmune en sitios con procesos inflamatorios activos, y promueven la angiogénesis en la reparación de heridas (Jenssen et al., 2006).

### **Bacteriocinas**

Entre los PAM se encuentran las bacteriocinas producidas por especies bacterianas tanto Grampositivas como Gramnegativas. Estas moléculas confiere a las bacterias productoras una ventaja competitiva de supervivencia sobre otros procariontes en el mismo nicho (Preciado et al., 2016). Las bacteriocinas, como los PAM, tiene funciones bactericidas y bacterioestáticas sobre otros procariontes en el mismo entorno, tanto sobre diferentes cepas bacterianas como sobre aquellas estrechamente relacionadas entre sí (Zou et al., 2018).

### **Clasificación bacteriocinas**

Las bacteriocinas se clasifican de varias maneras, incluyendo, las cepas productoras, mecanismos comunes de resistencia y por su mecanismo de acción (acción bactericida). Existen una gran variedad de categorías de bacteriocinas que solo están fenomenológicamente relacionadas. Estas incluyen las bacteriocinas de bacterias Gram positivas, Gram negativas y de archaeobacterias (Cascales et al., 2007). Ejemplo de ellas son las bacteriocinas de *Escherichia coli* llamadas colicinas, (antes llamadas Coli-lisinas que significa “asesinos de coli”), son las más estudiadas, conforman un grupo diverso de moléculas y a su vez no incluyen todas las producidas por *E. coli*. Por ejemplo, una de las colicinas más antiguas conocidas era conocida anteriormente como colicina V y ahora se conoce como microcina V, se ha identificado que esta es mucho más pequeña, y se produce y secreta

de manera diferente a las colicinas clásicas.

Este sistema de nombres es problemático por varias razones. Primero, nombrar las bacteriocinas por lo que supuestamente atacan no es adecuado, sería más preciso si su espectro de acción se relacionara directamente con las designaciones de género o especie. Adicionalmente, se ha identificado que algunas de estas moléculas con frecuencia poseen espectros que exceden los límites de sus taxones nombrados y casi nunca eliminan a la mayoría de los taxones para los que se nombran. Finalmente, el nombre original generalmente no se deriva de la cepa sensible a la que ataca, sino del organismo que la produce (Chikindas et al., 2018; Rea et al., 2011). Esto hace que el uso de este sistema de nombres sea problemático y por esto se generen sistemas alternativos de clasificación entre los que se incluyen:

- Estrategias de destrucción (formación de poros, actividad nucleasa, inhibición de la producción de peptidoglucano, etc.).
- Localización genética (plásmidos grandes, pequeños, cromosómicos).
- Peso molecular y química (proteína grande, péptido, con/sin azúcares, que contiene aminoácidos atípicos como la lantionina).
- Método de producción (ribosomal, modificaciones post-ribosomales).

A continuación, se presenta la clasificación más usada en la actualidad con respecto a bacteriocinas para bacterias Gram negativas y Gram positivas.

#### **Bacteriocinas de bacterias Gram negativas**

Las bacteriocinas producidas por bac-

terias Gramnegativas generalmente son clasificadas en base a su tamaño. Por ejemplo, Las microcinas tienen un tamaño inferior a 20 kDa, las bacteriocinas tipo colicina tienen un tamaño de 20 a 90 kDa y las tailocinas que son bacteriocinas de múltiples subunidades que se asemejan a las colas de los bacteriófagos, son también conocidas como bacteriocinas de alto peso molecular. Esta clasificación de tamaño también coincide con similitudes genéticas, estructurales y funcionales (Simons et al., 2020) .

#### **Bacteriocinas tipo microcinas**

Las microcinas reúnen a los péptidos pequeños (<10 kDa), son producidas generalmente en condiciones de estrés (escasez de nutrientes o en la fase estacionaria del crecimiento bacteriano). Algunos definen dos subclases: La subclase I son bacteriocinas modificadas postrasduccionalmente, con un peso molecular inferior a 5kDa (Microcinas B17, C7, J25, D93), y la subclase II son bacteriocinas no modificadas o mínimamente modificadas, su peso molecular varía de 5 a 10 kDa (Microcinas E492,V,LH47, 24) (Simons et al., 2020). Las microcinas son péptidos de 43 residuos que contiene oxazol y heterociclos de tiazol, estas moléculas son sintetizadas por el ribosoma a partir del gen mcbA. El producto génico corresponde a un péptido de 69 residuos de los cuales, 26 residuos hacia el extremo N-terminal constituyen un péptido líder, y los 43 residuos C-terminal restantes, forman un dominio rico en glicina que corresponden a la secuencia precursora. Cuatro serinas y cuatro cisteínas en el dominio de 43 residuos se convierten postrasduccionalmente en anillos heterociclicos de oxazol y tiazol, además de la eliminación del péptido líder por

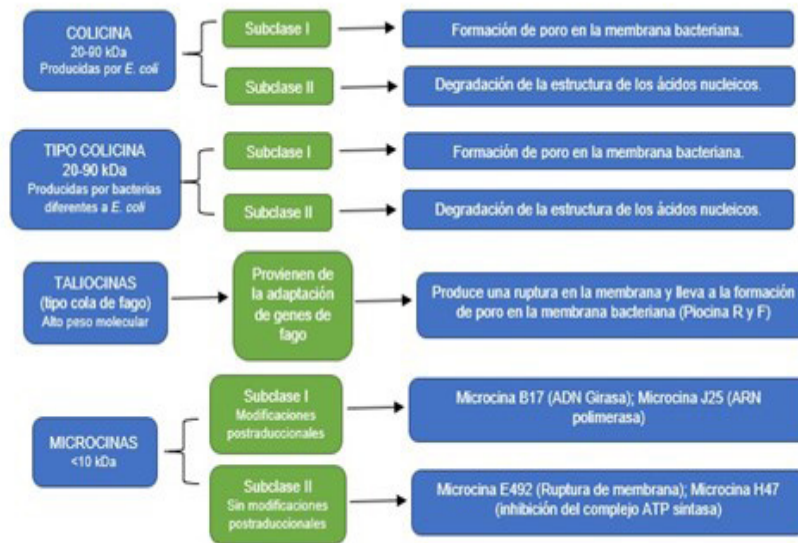


Figura 1. Esquema general sobre la clasificación de bacteriocinas de bacterias Gram negativas (Clase, subclase, modo de acción). Adaptado de Simons A, Alhanout K, Duval R. (2020) (Simons et al., 2020).

una proteasa endógena, todas estas modificaciones son esenciales para la actividad antibacteriana (Collin & Maxwell, 2019).

• **Estructura genética:** Los genes que codifican la producción de microcinas son transportados por plásmidos o cromosomas, y organizadas en grupos, así, *mcbA* es el gen estructural, *mcbBCD* codifica los componentes de la sintasa para la modificación postraduccionales e introducir los restos de tiazol y oxazol; y *mcbEFG* son responsables de la exportación y de inmunidad (Collin & Maxwell, 2019).

• **Estructura molecular:** Son sintetizados ribosomalmente y son de bajo peso molecular (<10 kDa), se diferencian de las colicinas ya que son de alto peso molecular (25 a 80 kD) (Rebuffat, 2012) (ver fig. 3 en material complementario).

• **Mecanismos acción:** Los mecanismos bactericidas de las microcinas son diversos, incluido el tipo de formación de poro, el tipo de nucleasa, como las funciones DNasa y RNasa, e inhibidores de la síntesis de proteínas o la replicación del ADN. Ninguno de los genes de microcinas genera productos con actividad de lisis. Además, las

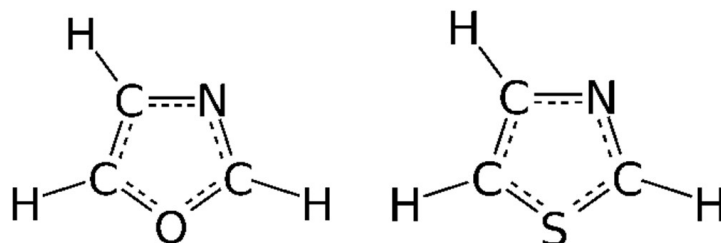


Figura 2. Modelos moleculares para los anillos oxazol y tiazol respectivamente, izquierda a derecha. Modificaciones postraduccionales presentes en bacteriocinas.



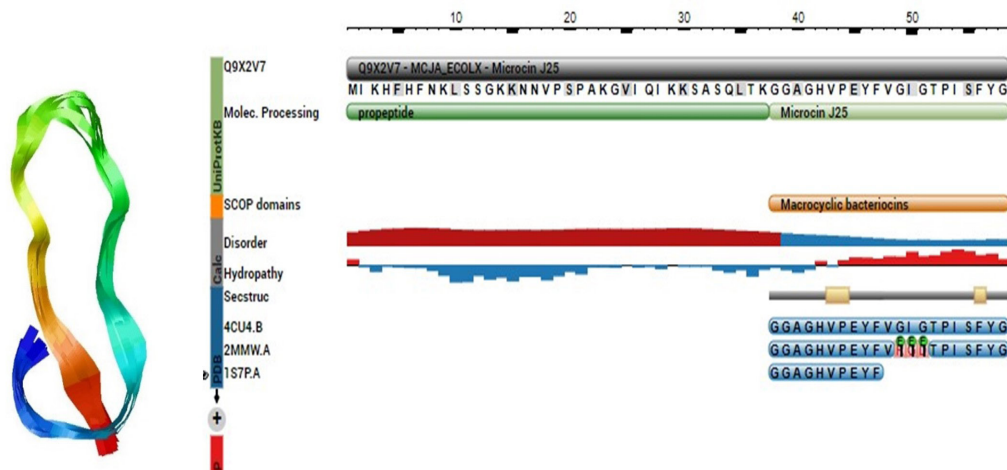


Figura 3. Estructura 3D de la microcina de E.coli J25 con peso molecular de 2,13 kDa. Un prototipo de Lazo de anudar de 21 residuos. Código PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1PP5. En la parte de abajo una mirada a las características de la molécula.

microcinas se secretan fuera de la bacteria a través del sistema de secreción basado en transportadores ABC tipo I (casete de unión a ATP), los cuales están compuestos por varias proteínas (Duquesne et al., 2007). Algunos ejemplos de la acción de este grupo de bacteriocinas son: La interrupción de la formación de membrana por parte de la microcina E492 o la inhibición de funciones enzimáticas vitales como el complejo ATP sintasa de microcinas M y H47, el ARN polimerasa de microcina J25, el ADN girasa de microcina B17, entre otros (Simons et al., 2020).

### Bacteriocinas tipo colicina

Las colicinas o bacteriocinas parecidas a colicinas (BPC) son polipéptidos que se encuentran en *E. coli*, y se producen de manera similar en otras bacterias Gram negativas. Estas BPC son distintas de las bacteriocinas de bacterias Gram positivas, son proteínas modulares de entre 20 y 90 kDa de tamaño (ver fig. 4 en material complementario). A menudo, consisten en un dominio de unión al receptor, un dominio de translocación y un dominio citotóxico. Las combinaciones de

estos dominios entre diferentes BPC ocurren con frecuencia en la naturaleza y se pueden crear en el laboratorio. Debido a estas combinaciones, la subclasificación adicional puede basarse en el mecanismo de importación (grupo A y B) o en el mecanismo citotóxico (nucleasas, formación de poros, tipo M, tipo L) (Cascales et al., 2007).

- **Estructura genética:** Poseen un grupo de genes que codifican para la proteína de toxina (*cx*a), es decir, la colicina; La proteína de inmunidad a la toxina (*cx*i); y un gen de lisis (*cx*l), la cual puede inducir a la liberación de la bacteriocina (BRP), en este caso las colicinas (Cascales et al., 2007; Guasch et al., 1995; Kleanthous, 2010). Estas moléculas son producidas normalmente por cepas de *E. coli* que contiene un plásmido colinogénico, y a su vez existen dos tipos de este plásmido, los tipos I son pequeños (6 a 10kb) y se transfiere en presencia de un plásmido conjugativo. Este tipo de moléculas de ADN extracromosomal de tipo II son grandes (40kb) y promueven la transferencia horizontal de material genético.

### Tailocinas (Bacteriocinas tipo cola de fago)

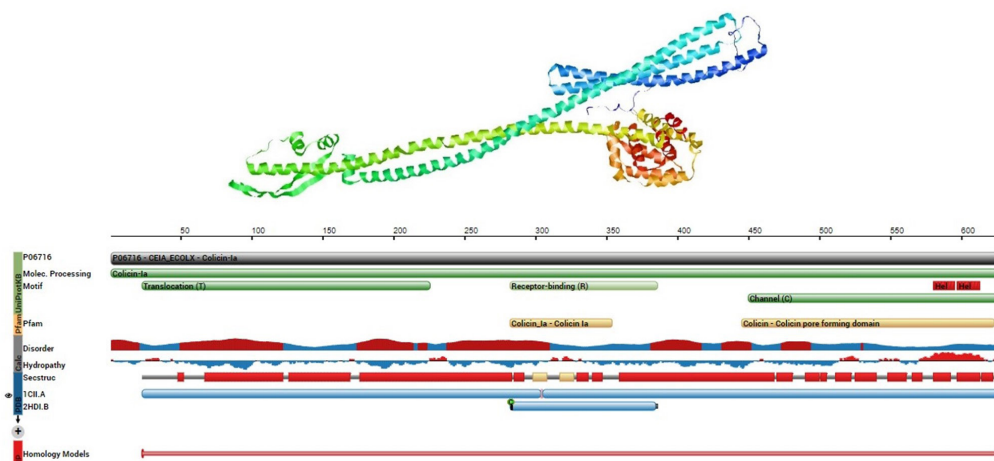


Figura 4. Estructura de colicina IA transmembranal de *E. coli* con un peso molecular de 67,04kD. Se observa la constitución de hélices alfa que conforman su estructura terciaria. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1CII. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

Los más estudiados son los tailocins de *Pseudomonas aeruginosa*, esta a su vez se pueden subdividir en piocinas tipo R y tipo F (Ghequire & De Mot, 2014).

- **Estructura molecular:** Son proteínas de alto peso molecular (25 a 80kDa), y su secuencia de aminoácidos no presenta ningún enlace disulfuro (Cascales et al., 2007) (ver fig. 5 en material complementario).

- **Composición aminoacídica:** Estas moléculas están organizadas en tres dominios específicos, un dominio de translocación amino-terminal (T), que está implicado en la transferencia a través de la membrana externa de la proteína translocadora; un dominio de unión al receptor central (R), que está unido con un receptor de membrana externa bacteriana; y un dominio citotóxico (C) carboxilo terminal, que tiene actividad antibacteriana (Cascales et al., 2007) (Kleanthous, 2010).

- **Mecanismos acción:** El principal mecanismo de acción es la formación de poros, sin embargo, para llevar a cabo el proceso de formación de poros o canales en la célula sensible, deben ocurrir los siguientes eventos secuenciales: i) La colicina debe unirse a un

receptor externo de membrana de la célula blanco; ii) debe ser translocada a través de la envoltura celular; y iii) debe insertarse en la membrana interna y formar el poro que conducirá a la muerte celular. Los receptores de estas bacteriocinas son proteínas integrales de membrana que normalmente son utilizados para la captación de nutrientes, como hierro, vitamina B12 y nucleósidos, entre otros. Para la translocación hacia la membrana interna utilizan o bien el Sistema Ton ó el Sistema Tol. El sistema Ton es utilizado para la translocación de nutrientes con consumo de energía y el Sistema Tol que no es dependiente de energía, se ha sugerido que está involucrado en la integridad de la envoltura celular (Braun et al., 1994).

### Bacteriocinas de bacterias Gram positivas

En los últimos años, un grupo de proteínas antibacterianas producidas por bacterias Grampositivas ha despertado un gran interés por su uso potencial como conservantes de alimentos y como agentes antibacterianos para combatir ciertas infecciones causadas por bacterias patógenas Gram

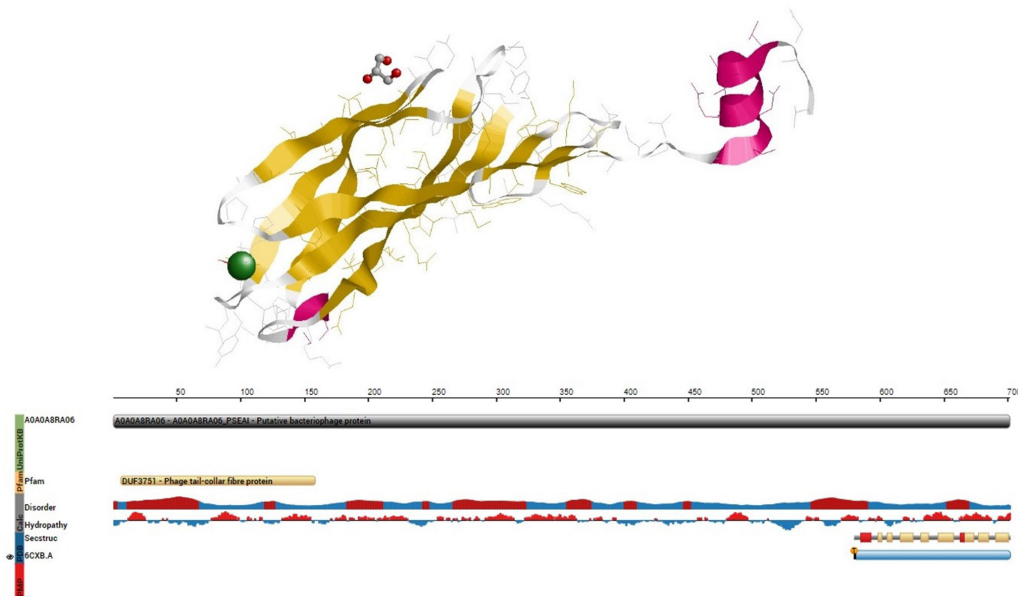


Figura 5. Estructura de la fibra de cola de piocina tipo R1 truncada en el N-terminal. Resolución de 1.7 Å de *P. aeruginosa*, con un PM de 15,53 kDa, se muestra 1 átomo Mg en verde y una molécula de glicerol unida a la bacteriocina. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 6CXB. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

positivas. Son péptidos sintetizados ribosómicamente de 30 a menos de 60 aminoácidos, con un espectro antibacteriano, tanto estrecho como amplio, contra bacterias Gram positivas; la actividad antibacteriana es estable al calor, y se ha identificado que las cepas productoras muestran un grado de autoprotección específica contra su propio péptido antibacteriano. En muchos aspectos, estas proteínas son bastante diferentes de las colicinas y otras bacteriocinas producidas por bacterias Gramnegativas, aunque habitualmente también se agrupan como bacteriocinas.

### Bacteriocinas de clase I

Las bacteriocinas de clase I también conocidas como lantibióticos, son pequeños péptidos inhibidores (Rea et al., 2011; Güllüce, 2015), estas bacteriocinas contienen entre 19-50 aminoácidos que son ampliamente modificados postraduccionalmente. Debido a esto, presentan aminoácidos inusuales, los cuales surgen de un proceso de deshi-

dratación y de ciclación de residuos de aminoácidos específicos, ejemplos de esto son los aminoácidos deshidratados de Lantionina y  $\beta$  metil-lantionina, los cuales forman múltiples estructuras de anillo, que le confieren a la bacteriocina estabilidad al calor, pH y proteólisis (ver fig. 7 en material complementario). La producción de este tipo de bacteriocinas está tanto asociada a un plásmido como al cromosoma que transporta estos elementos genéticos, que generalmente se ensamblan como grupos, es decir, genes estructurales, reguladores, de modificación, de transporte y de autoinmunidad (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase I se subclasifican en: La clase Ia, (nisina, epidermina, gallidermina, etc), estas consisten en un péptido catiónico e hidrofóbico, con una estructura flexible, de masa molecular variable, entre 2 a 4 kDa; Además, contienen aminoácidos de lantionina y/o  $\beta$  metil-lantionina. Su modo de acción se asocia a la formación de



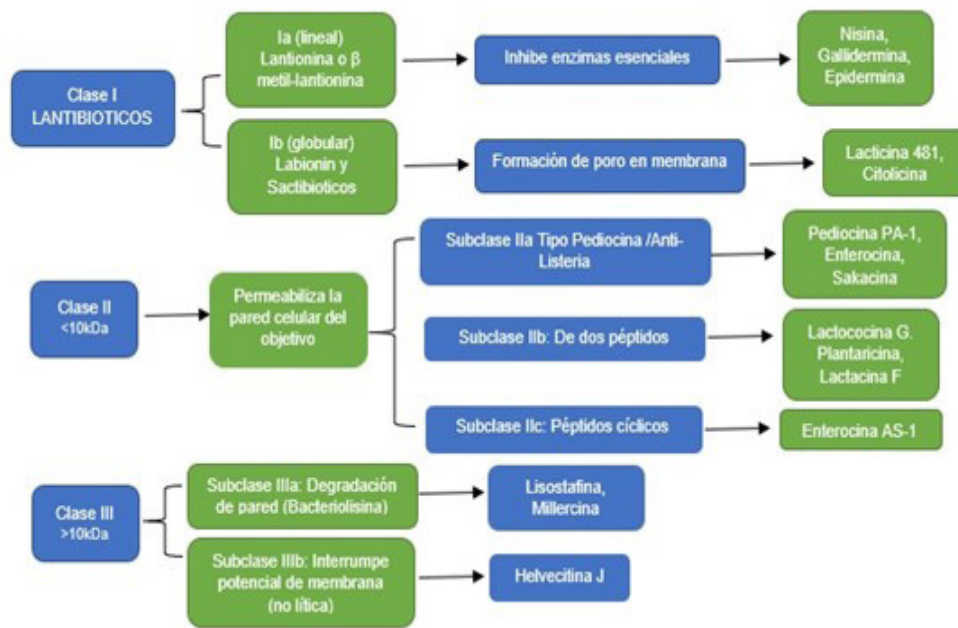


Figura 6. Esquema general sobre la clasificación de bacteriocinas de bacterias Gram positivas (Clase, subclase, modo de acción, ejemplos).

poro en la membrana bacteriana. (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase Ib (lacticina 481, citolisina, etc) son péptidos de forma globular e inflexible, de carga negativa, de su estructura hacen parte el aminoácido modificado, labionina, el cual es un triamino ácido. Su meca-

nismo de acción está relacionado con la inhibición de enzimas específicas que son esenciales para las bacterias objetivo (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020). Las bacteriocinas de clase Ic, como los Sactibioticos, son bacteriocinas que contiene el aminoácido azufrado, cisteína, en su composición (Radaic et al., 2020; Simons et al., 2020).

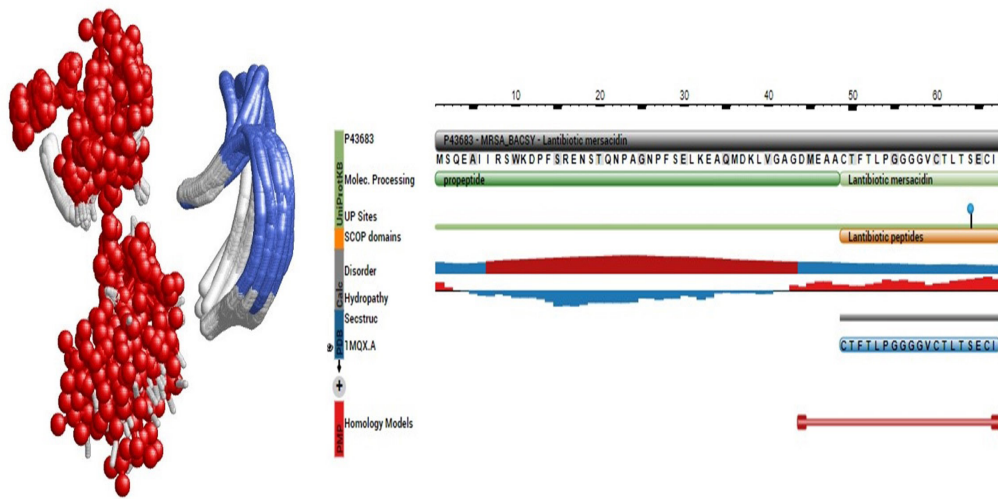


Figura 7. RMN de la estructura en solución del lantibiótico de tipo B de Bacillus sp, mersacidina, con un PM de 1,83 kDa, unida a lípido II, precursor en la síntesis de la pared bacteriana. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 1MQZ. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

## Bacteriocinas de clase II

Las bacteriocinas de clase II son proteínas pequeñas (<10 kDa) termoestables, esta clase se subdivide en cinco subclases. Las bacteriocinas de clase IIa (bacteriocinas similares a la pediocina) son el subgrupo más grande y contienen una secuencia consenso N-terminal-Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys. El C-terminal es responsable de la actividad específica de la especie, causando la salida del contenido celular al permeabilizar la pared de las bacterias afectadas. Las bacteriocinas de clase IIa tienen un gran potencial para su uso en la conservación de alimentos y en aplicaciones médicas debido a su fuerte actividad anti *Listeria* y su amplia gama de actividades, un ejemplo de bacteriocina de clase IIa es la pediocina PA-1, las cuales se producen como péptidos precursores que contienen secuencias líderes amino-terminales similares con un sitio de procesamiento conservado (Gly-Gly en las posiciones -1 y -2) (Heng et al., 2007). Las bacteriocinas de clase IIb (bacte-

riocinas de dos péptidos) requieren dos péptidos diferentes para su actividad, uno de estos ejemplos es la lactococina G, que permeabiliza las membranas celulares para los cationes monovalentes de sodio y potasio, pero no para los cationes divalentes. Casi todas estas bacteriocinas tienen motivos GxxxG. Este motivo también se encuentra en las proteínas transmembrana, donde están involucradas en las interacciones hélice-hélice. En consecuencia, los motivos de bacteriocina GxxxG pueden interactuar con los motivos en las membranas de las células bacterianas, matando las células (Nissen-Meyer et al., 2009). La clase IIc abarca péptidos cíclicos, en los que las regiones N-terminal y C-terminal están unidas covalentemente, la enterocina AS-48 es el prototipo de este grupo. La clase IId cubre bacteriocinas de un solo péptido, que no se modifican postraduccionalmente y no muestran el rasgo característico de tipo pediocina. El mejor ejemplo de este grupo es la aureocina A53 que es altamente estable. Esta bacteriocina es estable

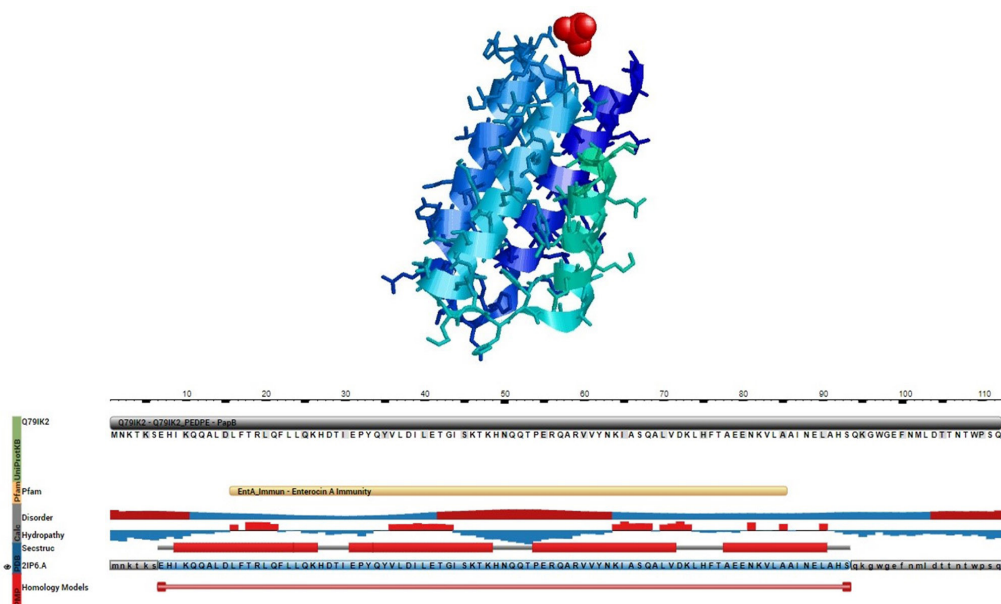


Figura 8. Estructura en 3D de Pediocina PedB de *Pedococcus pentosaceus* con un PM de 13.11 kDa. Se muestra una molécula de ion sulfato en rojo. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) ZIP6A. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

en condiciones altamente ácidas, altas temperaturas y no se ve afectada por las proteasas (Netz et al., 2002). La subclase propuesta más recientemente es la Clase IIe, que abarca aquellas bacteriocinas compuestas de tres o cuatro péptidos no similares a la pediocina. El mejor ejemplo es la aureocina A70, una bacteriocina de cuatro péptidos, altamente activa contra *Listeria monocytogenes*, con posibles aplicaciones biotecnológicas (Netz et al., 2001).

### Bacteriocinas de clase III

Las bacteriocinas de clase III son bacteriocinas grandes de tipo proteico, termolábiles, y con tamaños >10kDa. Esta clase se subdivide en dos subclases: subclase IIIa (bacteriolisinas) y subclase IIIb. La subclase IIIa comprende aquellos péptidos que lisan las células bacterianas por degradación

de la pared celular. La bacteriolisina mejor estudiada en este grupo es la listostafina (ver fig. 9 material complementario), un péptido de 27 kDa que hidroliza las paredes celulares de varias especies de *Staphylococcus*, principalmente *S. aureus* (Bastos et al., 2010). La subclase IIIb, en contraste, comprende aquellos péptidos que no causan lisis celular, por el contrario, las células diana sufren la interrupción del potencial de membrana plasmática.

### Bacteriocinas de clase IV

Las bacteriocinas de clase IV se definen como bacteriocinas complejas que contienen restos de lípidos o carbohidratos. La confirmación por datos experimentales se estableció con la caracterización de la subblancina y la glucocina F (GccF) por dos grupos independientes (Oman et al., 2011; Stepper et al., 2011).

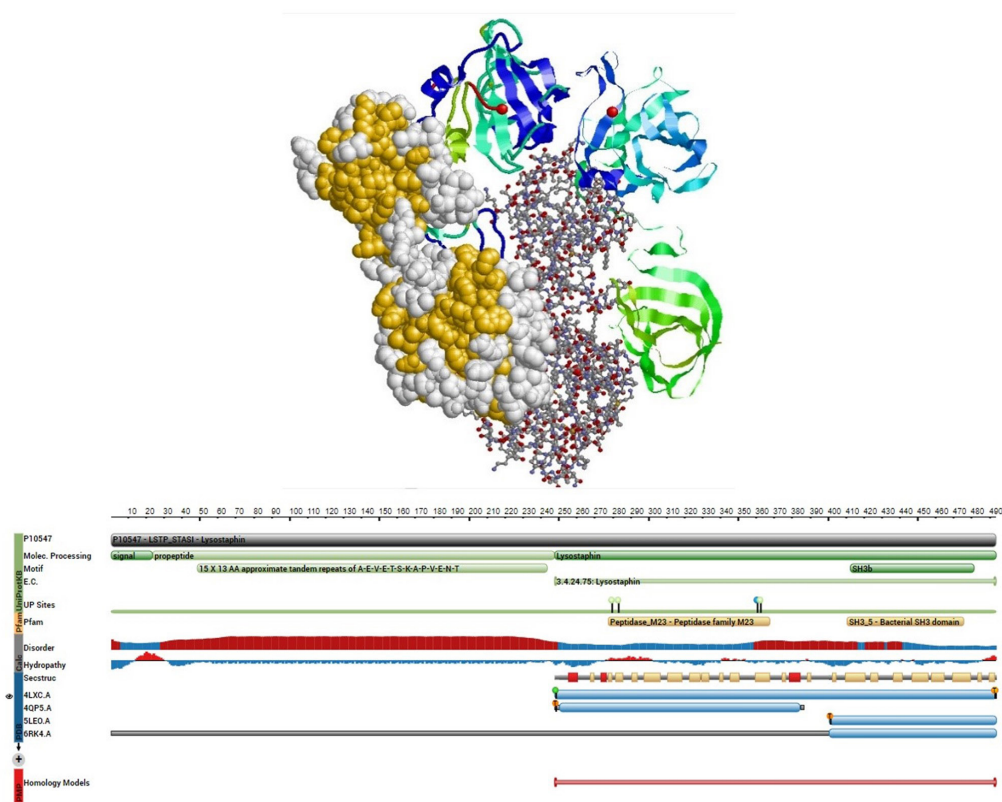


Figura 9. Estructura de la bacteriocina listostafina de *Staphylococcus simulans* con PM 26.94. Se muestran 4 cadenas de la molécula unidas entre sí. Cada cadena presenta dos átomos de Zn (esferas de color rojo). Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 4LXC. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.

### Ventajas de las bacteriocinas

Las bacteriocinas presentan varias características ventajosas como antimicrobianas, además de su baja toxicidad para las células eucariotas, tienen concentraciones inhibitorias mínimas contra varias cepas bacterianas, generalmente en el rango nanomolar (nM), y tienen estabilidad a altas temperaturas (Preciado et al., 2016; Prudêncio et al., 2015); en conjunto, estas cualidades han llamado la atención sobre las bacteriocinas como posibles agentes antibacterianos. Actualmente, la nisina, la pediocina y el Micocin® (que es producto de la combinación de carnociclina A (CclA), carnobacteriocina B1 (cbnB1) y la piscicolina 126 (PisA)) (Zou et al., 2018) son las únicas bacteriocinas aprobadas por la FDA para su uso como conservantes de alimentos y agentes anti-deterioro, las cuales están disponibles comercialmente en Estados Unidos y Canadá. Algunas

bacteriocinas también presentan una actividad antimicrobiana de amplio espectro, y son prometedoras para abordar la crisis de las bacterias resistentes a múltiples antibióticos (Preciado et al., 2016). Las bacteriocinas también se han destacado por sus aplicaciones biomédicas (Shin et al., 2016). La nisina por ejemplo, es una bacteriocina terapéutica eficaz para el cáncer oral, evitando las células y tejidos normales (Baindara et al., 2018; Shin et al., 2016). Se ha demostrado que la nisina a bajas concentraciones (2.5%) reduce la proliferación e induce la detención del ciclo celular y la apoptosis en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC); se identificó que este procesos se llevaba a cabo sin afectar significativamente los queratinocitos normales primarios, in vitro e in vivo (Joo et al., 2012). Los autores demostraron además que una vía dependiente e independiente

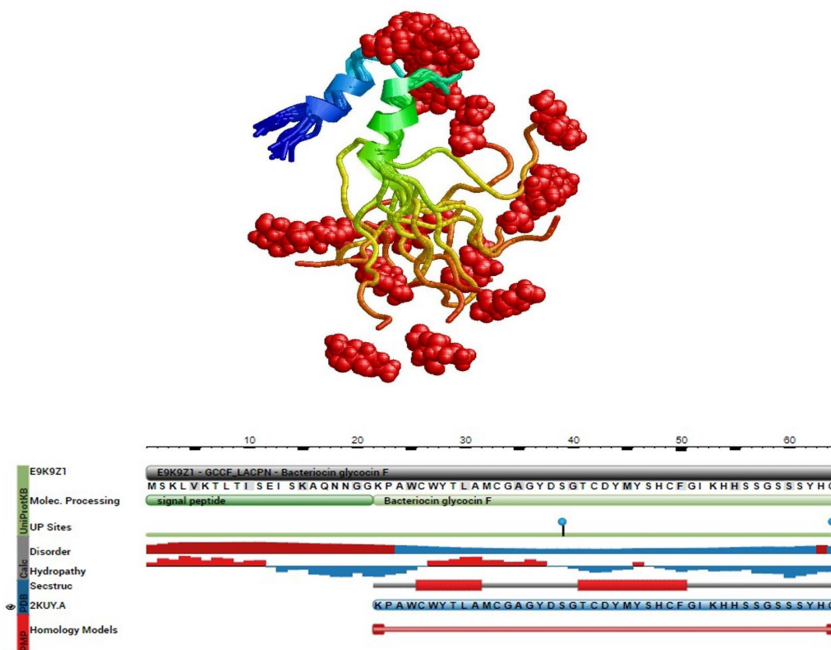


Figura. 10. Estructura de la glicocina F en *Lactobacillus plantarum* con PM de 5.25 kDa. Se observan moléculas de N acetil glucosamina en color rojo. Código del PDB (Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/>) 2KUY. En la parte de abajo, una mirada a las características de la molécula.



del regulador de transporte de cationes proapoptóticos (es decir, CHAC1) fue la responsable de la reducción de la tumorigénesis de HNSCC. También se ha demostrado que el alto contenido de nisina ZP (95%) induce apoptosis a través de una vía dependiente de la calpaína en HNSCC, pero no en los queratinocitos in vitro (Kamarajan et al., 2015). Los autores demostraron además que la nisina a altas concentraciones redujo la tumorigénesis de HNSCC y extendió la supervivencia in vivo, sin evidencia de inflamación, fibrosis o necrosis en el hígado, pulmón o riñones. Estos hallazgos demuestran la posible aplicación biomédica de bacteriocinas, especialmente en el tratamiento del cáncer.

#### **Desventajas de las bacteriocinas**

Las bacteriocinas también tienen inconvenientes, por ejemplo, el uso de bacteriocinas ha llevado al desarrollo de resistencia por parte de bacterias patógenas y encargadas de la descomposición de alimentos. Esto representa una problemática, especialmente con respecto a la seguridad alimentaria en la industria, ya que esta ha sido la aplicación primaria de las bacteriocinas (Zou et al., 2018). Por ejemplo, la resistencia natural a las bacteriocinas de Clase I ya se ha reportado en *Lactobacillus casei* (Breuer & Radler, 1996), *Streptococcus thermophilus* (Garde et al., 2004), *Streptococcus bovei* (Mantovani & Russell, 2001), *Streptococcus pneumoniae* (Kovács et al., 2006), *Pediococcus acidilactici* (Lacroix, 1998), *Listeria monocytogenes* (Collins et al., 2010), *Listeria innocua* (Maisnier-Patin & Richard, 1996), *Bacillus cereus* (Jarvis & Farr, 1971), *Bacillus subtilis* (Mascher et al., 2004), *Staphylococcus aureus* (Blake et al., 2011), *Clostridium botulinum*

(Mazzotta & Montville, 1999) y *Clostridium difficile* (McBride & Sonenshein, 2011). Además, la resistencia natural a las bacteriocinas de clase IIa, se ha reportado de igual manera en 1-8% de las cepas de tipo silvestre probadas (Preciado et al., 2016). Además, la resistencia natural a las bacteriocinas de clase IIa, se ha reportado en 1-8% de las cepas de tipo silvestre probadas (Preciado et al., 2016). Se ha identificado que existen cinco mecanismos de resistencia principales, descritos para las bacteriocinas en bacterias Grampositivas:

- Modificaciones de la pared celular, como la neutralización de carga negativa neta de la pared celular (McBride & Sonenshein, 2011; Vadyvaloo et al., 2004).
- Modificaciones de la composición de fosfolípidos de membrana, tal como una disminución en los fosfolípidos aniónicos en la membrana (Mazzotta & Montville, 1999)
- Inactivación enzimática de las bacteriocinas, tales como por la nisinasa (Jarvis, 1967) o la proteína de resistencia a la nisina (NRP) (Kramer et al., 2006)
- A través de transportadores de tipo ABC (Collins, Curtis, et al., 2010)
- A través de redes reguladoras de envoltente celular, como los sistemas de dos componentes VanRS y LiaRS (Blake et al., 2011; Collins, Curtis, et al., 2010; Mascher et al., 2004).

En contraste, las bacterias Gram negativas, como resultado de su membrana externa, son naturalmente más resistentes a las bacteriocinas que las bacterias Grampositivas (Prudêncio et al., 2015). Debido a esto, estrategias relevantes como: La adición de EDTA, se ha utilizado para



desestabilizar la membrana externa bacteriana, permitiendo así a las bacteriocinas poder entrar para llevar a cabo su acción (Gálvez et al., 2007; Martin-Visscher et al., 2011; Prudêncio et al., 2015). Sin embargo, varios factores pueden afectar la sensibilidad a este tratamiento, por ejemplo, la actividad de EDTA es sensible al pH, siendo más eficaz a un pH neutro, mientras que las bacteriocinas, como la nisina, son más eficaces a un pH ácido (Prudêncio et al., 2015). Debido a su naturaleza proteica, la mayoría de las bacteriocinas son sensibles a las proteasas, como la proteinasa K y la pepsina (Ansari et al., 2018), por lo tanto, uno de los evidentes mecanismos de resistencia a la bacteriocina es mediante la degradación proteolítica. Por ejemplo, enzimas específicas pueden degradar la nisina (nisinasa o NRP) (Jarvis & Farr, 1971; Kramer et al., 2006), lo que hace que la nisina sea más propensa a la degradación enzimática que otras bacteriocinas. Finalmente, aún existen grandes preocupaciones sobre la seguridad de las bacteriocinas para su uso en diferentes terapias de manera amplia en comparación, con la ya demostrada, para aquellas moléculas pequeñas que funcionan como drogas. Actualmente, hay estudios limitados sobre la farmacocinética, farmacodinámica, toxicidad e inmunogenicidad de las bacteriocinas (de Almeida Vaucher et al., 2011; Sahoo et al., 2017). La Farmacocinética y farmacodinámica de los medicamentos es un factor clave a considerar para cualquier uso terapéutica in vivo (Mathur et al., 2017). Generalmente, los péptidos cortos (<50 aminoácidos) tienen perfiles farmacocinéticos limitados debido a su incapacidad para cruzar las barreras biológicas (p. ej., membranas plasmáticas), esto debido a filtración renal

y/o pueden unirse/escindirse mediante proteínas séricas (Jallouk et al., 2015). Por ejemplo, se ha podido demostrar que el Lantibiótico MU1140 se une significativamente (92.7%) a los componentes del suero sanguíneo, disminuyendo la biodisponibilidad de esta bacteriocina, y por lo tanto, inhibiendo su actividad contra *Streptococcus pneumoniae* (Ghobrial et al., 2010). Este problema puede agravarse para ciertas bacteriocinas, que son inestables a pHs bajos a fisiológicos, reduciendo aún más su distribución y biodisponibilidad (Mathur et al., 2017). Sin embargo, la literatura sobre farmacocinética y farmacodinámica de bacteriocinas es muy limitada, por lo que estudios en estas líneas son necesarios.

Con respecto a la seguridad de las bacteriocinas, se sabe que los PAM en general, pueden actuar como sensibilizadores/alérgenos, y que pueden conducir a la sensibilización inmune del hospedero (inmunogenicidad), particularmente después de inyecciones repetidas (Bradshaw, 2003), en este sentido, las bacteriocinas podrían provocar una respuesta similar, principalmente porque son subproductos bacterianos. Reportes anteriores muestran que la bacteriocina TSU4 (Sahoo et al., 2017) y BLSP (de Almeida Vaucher et al., 2011; Kramer et al., 2006) administradas con el adyuvante completo de Freund resultaron en un aumento significativo de anticuerpos, en los días 21 y 42 para TSU4 y solo en el día 42, para BLSP (Field et al., 2019), en comparación con ratones de control, sin embargo, esto no fue observado cuando se usaron las bacteriocinas libres, por lo tanto, estos resultados indican una reacción inmune leve in vivo, aunque no probado por los autores. De esta manera, el uso de varias inyecciones de

bacteriocina podría provocar una mayor respuesta inmune, ya que el sistema se ha sensibilizado con la primera inyección. Otros reportes han demostrado que la nisina, tiene una dosis letal 50 (DL-50) en ratones de 6,950 mg/kg (de Almeida Vaucher et al., 2011; World Health Organization, 2014), por otro lado esta bacteriocina no tiene toxicidad en las células orales in vitro (Shin et al., 2015) ni en el intestino, riñón e hígado de ratones (de Almeida Vaucher et al., 2011; Kamarajan et al., 2015), y no tiene teratogenicidad in vivo (Gupta et al., 2008). Sin embargo, aún se necesitan más estudios para demostrar la seguridad de las bacteriocinas.

#### **Usos biotecnológicos de las bacteriocinas**

Existen beneficios potencialmente significativos al emplear bioingeniería moderna de vanguardia para avanzar en el descubrimiento, descripción y producción de péptidos tradicionalmente codificada por genes de bacterianos. Una de las mayores ventajas de la bioingeniería en el campo de los lantibióticos implica la creación de cepas que producen mayores cantidades de péptidos lantibióticos (Suda et al., 2010). Otra estrategia para mejorar las cepas productoras de lantibióticos es conjugar múltiples plásmidos codificadores de bacteriocinas grandes en una sola cepa (Collins et al., 2010), por lo que es capaz de tener tanto rango estrecho como amplio de acción siendo así más afectiva que el tipo silvestre (O'Sullivan, 2003). También es posible lograr este objetivo a través de la amplificación y clonación de genes codificadores de lantibióticos en vectores lanzadera y producción heteróloga en otras cepas, tal enfoque ha sido utilizado para mejorar la producción de lacticina 3147 por

*Enterococcus* (Ryan et al., 2001). La bioingeniería de los péptidos existentes también podría conducir a la creación de lantibióticos con potencia mejorada y/o adecuados para aplicaciones específicas (Collins et al., 2010). Varios estudios han permitido una mejor comprensión de las relaciones estructura/función de los lantibióticos específicos y han resaltado la importancia de la región de bisagra en la nisina y los péptidos relacionados, las alteraciones moderadas en esta región resultaron en mutantes sin actividad de mutacina II (Chen et al., 1998), o actividad mejorada de nisina Z, o incluso estabilidad mejorada a alta temperatura y/o en condiciones neutras o alcalinas (Yuan et al., 2004). Además, para mejorar la actividad o el espectro inhibitorio, se han desarrollado péptidos con características mejoradas. Por ejemplo, los estudios de nisina Z, han logrado que la solubilidad y la estabilidad mejoraran significativamente mediante la ingeniería de péptidos sin reducir de manera drástica la actividad específica (Rollema et al., 1995). También es posible transformar drásticamente los péptidos lantibióticos y no lantibióticos alterando las modificaciones existentes o introduciendo nuevas modificaciones postraduccionales mediante la aplicación de enzimas específicas. Para proporcionar algunos ejemplos, la ciclasa de nisina (NisC) se utilizó para ciclar y proteger péptidos no lantibióticos contra peptidasas y proteasas (Rink et al., 2007), una propiedad que es particularmente útil desde el punto de vista del diseño del fármaco, mientras que la deshidratasa de nisina (NisB) se ha usado para introducir residuos tipo cisteína que facilitan la formación de puentes de tioéter en varios péptidos (Kluszens et al., 2005). Según Mills y colaboradores

(2011) (Mills et al., 2011), la bioingeniería de bacteriocinas no se limita a los lantibióticos, por lo que han dedicado mucho esfuerzo al estudio de la subclase IIa de bacteriocinas para determinar las relaciones de estructura y función. Aunque las variantes generadas en este tipo de estudios son útiles desde un punto de vista académico, ninguna de ellas muestra una mayor actividad contra varios microorganismos (Kazacic et al., 2002).

• **Control de bacterias multidrogo resistentes:**

Los antibióticos fueron aprobados por primera vez por la US-FDA en 1951, y se utilizaron en la alimentación animal, lo que redujo significativamente el número de muertes debido a casos de infección bacteriana. Sin embargo, el problema con patógenos que presentan múltiples resistencia a los medicamentos se ha vuelto cada vez más grave, debido a las preocupaciones sobre el abuso de antibióticos (Joerger, 2001). El uso de bacteriocinas para reemplazar los antibióticos usados en la producción avícola y porcina debido a la resistencia a los antimicrobianos desarrollados por las bacterias patógenas. Por ejemplo, se han realizado diferentes investigaciones y ensayos para la implementación de bacteriocinas, como CBE V24 producida por *E. faecalis* para reducir el número de bacterias patógenas humanas en el estiércol (Lagha et al., 2017). De igual manera, se han realizado investigaciones debido a la aparición de infecciones urinarias que han presentado problemas de resistencia a los antibióticos, en estas se han usado bacteriocinas producidas por *Lactobacillus fermentum* contra infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* MRSA, *Proteus* spp, y otras bacterias (Mokoena, 2017).

• **Preservación alimentos:**

El uso de preservantes en alimentos surge por la necesidad de conservar los alimentos y retrasar su deterioro (Agencia Española de seguridad alimentaria, 2003). Para el uso de preservantes se debe tener en cuenta el tipo de alimento y si este permite su adición de este tipo de moléculas. La implementación de estos preservantes se usa regularmente en alimentos perecederos como leche, carne, entre otros; La dosis de uso es regulada por la norma de cada alimento en cuestión, y este debe tener un uso justificado, que brinde una ventaja y no sea un riesgo para el consumidor, además de que proporcione una mejor calidad nutricional y no cause cambios negativos en las propiedades organolépticas al alimento (Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura., 2018). Se ha documentado el uso de bacteriocinas en este campo, por ejemplo, la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas de clase IIa contra el patógeno de alimentos *Listeria monocytogenes* en alimentos refrigerados, la pediocina PA-1 se ha estudiado de igual manera para el Nham, una salchicha de cerdo tradicional tailandesa se ha identificado que la bacteriocina fue capaz de controlar efectivamente el crecimiento de *Listeria monocytogenes* sin comprometer la calidad del Nham. En otros casos, se conoce el uso de la enterocina producida por *Enterococcus faecalis* para la biopreservación de salchichas principalmente contra *Staphylococcus aureus*; Nisina producida por *Lactococcus lactis* para el control de *Brochothrix thermosphacta* en cerdo y de *Listeria monocytogenes* en leche fermentada (Balciunas et al., 2013). Adicionalmente, se ha evaluado la adición de bacteriocinas a películas

de empaques y envases para alimentos con el fin de proteger los alimentos y evitar su refrigeración, proceso que en algunos casos encarece de manera significativa el producto alimentario (Kingcha et al., 2012; Perez et al., 2014).

• **Enfermedades asociadas a patógenos:**

Se ha documentado que las bacteriocinas inhiben importantes patógenos animales y vegetales, como *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA), VRE, *Agrobacterium* y *Brenneria* spp. (Cotter et al., 2013; Grinter et al., 2012). El mecanismo bactericida de las bacteriocinas se encuentra principalmente en la unión al receptor de las superficies de las bacterias, y luego a través de la membrana, lo que causa la citotoxicidad de las bacterias.

• **Salud humana y animal:**

Teniendo en cuenta que las bacteriocinas se agregan de forma natural y legal en los alimentos, las bacteriocinas pueden ser adecuadas como posibles candidatos a fármacos antitumorales. Algunas bacteriocinas, como la colicina A y E1 formadoras de poros, inhibieron el crecimiento de una línea de fibroblastos estándar humana MRC5 y 11 líneas de células tumorales humanas (Smarda, 2003). Por el contrario, la colicina formadora de poros y la actividad de colicina E3 ARNasa no mostraron esta capacidad de inhibición del crecimiento. La colicina D, E2, E3 y la colicina A formadora de poros pueden inhibir la viabilidad de las células de leucemia murina P388, mientras que la colicina E1 y la colicina E3 formadoras de poros suprimieron los monoblastos de pollo transformados en v-myb (Fuska et al., 1978; Lancaster et al., 2007).

En un estudio se aisló *E. coli* de las heces de 77 pacientes con carcinoma colorrectal, en este estudio se encontró que 32 pacientes (41,6%) tenían *E. coli* productora de bacteriocinas (Bures et al., 1986). Otro reporte identificó que, en las heces de 160 personas sanas, 102 personas (63.8%) tenían *E. coli* productora de bacteriocinas, lo que también mostró que las colicinas de bacterias en el intestino pueden ser uno de los factores para reducir el carcinoma colorrectal humano. Las colicinas podrían actuar como un medicamento contra el cáncer de potencial moderado, de igual manera, los suplementos de probióticos productores de bacteriocina pueden ser otra forma de prevenir potencialmente la aparición de este.

El posible uso de las bacteriocinas contra enfermedades del tracto intestinal es una idea que viene en proceso de investigación, donde se plantea usar bacteriófagos como moduladores de diversidad y abundancia en la flora intestinal y a su vez las bacteriocinas inhibirían las cepas competidoras al influir en el nicho, permitiendo así la supervivencia de las comunidades específicas en el tracto gastrointestinal (Lopetuso et al., 2019). Estudios en el área descubrieron que 20 tipos de *E. coli* podían expresar colicina, la cual inhibía a su vez cinco tipos de *E. coli* productoras de toxina Shiga (O26, O111, O128, O145 y O157:H7), las cuales pueden causar diarrea y síndrome urémico hemolítico en humanos (Knapen & Lipman, 2001).

En un ambiente simulado del rumen de ganado, las colicinas E1, E4, E8-J, K y S4 producidas por *E. coli* pueden inhibir significativamente el crecimiento de STEC (Stahl et al., 2004). Para esta investigación, los autores utilizaron colicina E1 purificada y



colicina N con el fin de tener una actividad efectiva contra las E. coli enterotoxigénicas F4 (K88) y F18, las cuales causan diarrea después del destete en lechones, el tratamiento llevó a una notoria mejoría en el crecimiento de los lechones evaluados (Cutler et al., 2007). Józefiak y colaboradores (Józefiak et al., 2013) utilizaron la dieta de aves suplementada con nisina, para alimentar pollos de engorde, y encontraron un número reducido de Bacteroides y Enterobacteriaceae en la digestión ileal de pollos suplementados con nisina. La acción de la nisina fue similar a la de la salinomicina, después de un crecimiento de 35 días, el aumento de peso corporal promedio de los pollos suplementados con nisina (2.700 UI de nisina/g) fue de 1918 g/ave, que fue mayor que los 1.729 g con los suplementos sin nisina o los 1.763 g de suplementos de salinomicina. Stern y colaboradores (Stern et al., 2006) informaron que la bacteriocina de clase II de bajo peso molecular, OR-7, se purificó de la cepa NRRL B-30514 de *Lactobacillus salivarius*, identificándose que esta bacteriocina presenta actividad contra el patógeno de gastroenteritis humana *Campylobacter jejuni*. Se identificó, adicionalmente, que OR-7 presenta estabilidad cuando era tratada con lisozima, lipasa, temperatura 90°C, y con rangos de pH de 3,0 a 9,1. La bacteriocina OR-7 se encapsuló en polivinilpirrolidona para alimentación de pollos, mediante este tratamiento se identificó que las poblaciones de *C. jejuni* se redujo al menos un millón de veces en la materia fecal de pollos tratados. Estos resultados sugieren que la nisina, OR-7 y otras bacteriocinas, poseen un gran potencial cuando se aplica para reemplazar los antibióticos en aves y otros alimentos para animales.

### **Bases de datos de bioinformática para bacteriocinas**

En la actualidad existen diversas bases de datos de consulta para el tema de bacteriocinas, en ellas se pueden realizar diversos tipos de análisis para estas moléculas, por ejemplo, análisis filogenéticos, identificación moléculas, predicción de estructura, y evaluación a nivel genómico de la presencia de genes codificantes de este tipo de moléculas, entre estas tenemos:

- **NucleBact** <https://pubmlst.org/nuclebact/>: Esta base de datos permite el análisis filogenético de las bacteriocinas tipo nucleasas y secuencias de inmunidad junto con la predicción de la susceptibilidad de la bacteriocina entre las proteobacterias
- **BactiBase** <http://bactibase.hamamilab.org/main.php>: Esta base de datos contiene estadísticas sobre propiedades fisicoquímicas calculadas o predichas de 227 bacteriocinas producidas por bacterias Grampositivas (206) y Gramnegativas (19). Adicionalmente, esta base de datos permite una rápida predicción de la estructura/función respecto a la relación con el organismo objetivo y, por lo tanto, una mejor explotación de su actividad biológica en los sectores médico y alimentario.
- **LABiocin** <https://labiocin.univ-lille.fr/>: Es una base de datos gratuita desarrollada por la Universidad de Lille, la cual se centra en el tema de las bacterias del ácido láctico (LAB) y sus bacteriocinas. Esta base de datos contiene una gran cantidad de información extraída de bases de datos como pubmed y Uniprot, además, de proporcionar un enlace para BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) que permite al usuario consultar bases de datos de proteínas y recuperar



similitudes, construir árboles filogenéticos tanto para las bacterias productoras de bacteriocina como para las secuencias de bacteriocina peptídica.

- En el portal web <http://ocins.cftri.com/> Instituto Central de Investigación Tecnológica de los Alimentos desarrollado por el Ministerio de ciencia y tecnología del gobierno de India ofrece una herramienta de consulta y con enlace a BLAST para alineamientos de los QSTs (proteínas quinasas Serina/ Treonina) de algunas bacterias gram positivas como las LAB.
- El software **Bagel4** <http://bagel4.molgenrug.nl/> permite a partir de una secuencia de ADN bacteriano y RiPP obtener la bacteriocina, este software cuenta con una base de datos de más de 400 registros de bacteriocinas y una colección de genomas de más de 120 mil.
- El Instituto Mediterráneo de Infección <https://www.mediterranee-infection.com/acces-ressources/base-de-donnees/bur-bacteriocins-database-urmitte/> diseño un sistema que implementa el mismo algoritmo que usa BLAST, sin embargo este lo hace mediante alineamientos entre secuencias de bacteriocinas llamándolo así BLASTBACTERIOCINES <https://ifr48.timone.univ-mrs.fr/blast/blastbacteriocines.html> que compara con bases de datos incluidas las cuales cuentan con 1984 registros de secuencias de bacteriocinas pertenecientes a 79 géneros diferentes.

### **Mercado de bacteriocinas a nivel mundial.**

El mercado de la terapéutica de péptidos posee el 2-3% de la participación en el mercado farmacéutico global. El mercado mundial de los péptidos antimicrobianos está altamente fragmentado y valorado en 1.060 millones de dólares para el 2015 y se prevé que el

mercado mundial de péptidos antimicrobianos crecerá a una tasa compuesta anual del 7,5% durante el período 2017-2030. Europa y América del Norte son las regiones líderes en el mercado mundial de péptidos antimicrobianos debido a la gran inversión en I + D. Colectivamente, Europa y América del Norte tenían aproximadamente el 80% del mercado mundial de péptidos antimicrobianos en 2016. El mercado de péptidos antimicrobianos de América del Norte presento un valor de 0,44 mil millones de dólares para el 2016. El mercado de péptidos antimicrobianos de Asia Pacífico fue valorado en 0,18 mil millones de dólares para el 2016 y se espera que muestre un crecimiento potencial del mercado en un futuro próximo. Es probable que la creciente inversión en I+D para desarrollar nuevos péptidos antimicrobianos en países como Australia, Japón, Singapur y Corea del Sur contribuya al crecimiento del mercado de péptidos antimicrobianos en la región. Sin embargo, América Latina y el Ministerio de Asuntos Externos (MEA) en conjunto tienen solo una participación del 2-4% del mercado mundial de péptidos antimicrobianos debido a la falta de disponibilidad de servicios médicos en la región. Específicamente, el ecosistema para el mercado global de nisina consiste en proveedores clave, incluidos los fabricantes de conservantes naturales e ingredientes de alimentos naturales. Estos son participantes importantes en el ecosistema, ya que juegan un papel crucial en las industrias de aplicaciones. Varias empresas, como Danisco A/S (Europa), Royal DSM NV (Países Bajos), Siveele BV (Países Bajos), Galactic (Alemania), Shandong Freda Biotechnology Co., Ltd. (China), Zhejiang Silver-Elephant Bio-engineering Co. Ltd. (China) y.

Chihon Biotechnology Co., Ltd. (China) son los actores clave en este mercado. El mercado de nisina se valoró en USD 442.3 millones en 2015, y se proyecta que crezca a una tasa compuesta anual de 4.3% de 2015 a 2020, para alcanzar USD 545.5 millones en

2020. Hasta la fecha, solo las bacteriocinas producidas comercialmente son la Nisina (*Lactococcus lactis*) y la Pediocina (*Pediococcus acidilactici*) y otras aún están en proceso de obtener un estado comercial para ser utilizadas como conservantes de alimentos.

**Tabla 1.** Bacteriocinas producidas comercialmente

Bacteriocina	Nombre comercial	Productor cepa	Fabricación
Nisin	Nisaplin	<i>Lactococcus lactis</i>	Danisco, Copenhagen Denmark
Pediocin	PA1ALTA 2431	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Kerry Biosciences Carrigaline Ireland
Nisin	MAYNISIN	<i>Lactococcus sp.</i>	MAYSA GIDA San ve Tic. A.S Turkey
Nisin	Nisitrol	<i>Lactococcus sp.</i>	Bimal Pharma Pvt. Ltd. India
Nisin	SAFRESHTM	<i>Lactococcus sp.</i>	Wuhan Amth Biotechnology Co., Ltd. China
Nisin	YP-1000 Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	China (National) Abrasives Corp

## Conclusiones

Las bacteriocinas son uno de los muchos mecanismos de defensa naturales que las bacterias usan para competir contra los microorganismos en el mismo ambiente. Desde el descubrimiento de la nisina, se han descrito muchas bacteriocinas con estructuras únicas y diferentes modos de acción, y se han reportado los genes que codifican la producción, secreción e inmunidad de la mayoría de ellas. Durante la última década, muchos investigadores cambiaron su enfoque en las bacteriocinas para la conservación de alimentos al tratamiento de infecciones y de bacterias que causan enfermedades resistentes a los antibióticos. En esta nueva era de investigación en bacteriología la cual indudablemente, conducirá a nuevos inventos y nuevas aplicaciones.

Actualmente, la producción de todas las bacteriocinas, excepto las más pequeñas, solo es imaginable mediante el cultivo de organismos productores naturales o genéticamente modificados. Con la velocidad a la que las secuencias del genoma están disponibles, la extracción de genes se vuelve más fácil, y con las últimas técnicas en síntesis de genes y expresión de proteínas, podemos esperar nuevas bacteriocinas con aplicaciones muy especializadas. Se puede esperar que las inversiones en investigación y desarrollo sean altas, y el tamaño del mercado es difícil de predecir, pero el hecho de que la nisina haya encontrado usos comerciales indica que los aspectos económicos no son barreras insuperables para las aplicaciones de bacteriocinas.

## 6. Referencias bibliográficas

- Agencia Española de seguridad alimentaria. (2003). Seguridad Alimentaria.
- Ansari, A., Zohra, R. R., Tarar, O. M., Qader, S. A. U., & Aman, A. (2018). Screening, purification and characterization of thermostable, protease resistant Bacteriocin active against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *BMC Microbiology*, 18(1), 192. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1337-y>
- Baindara, P., Korpole, S., & Grover, V. (2018). Bacteriocins: perspective for the development of novel anticancer drugs. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(24), 10393–10408. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9420-8>
- Balciunas, E. M., Castillo Martinez, F. A., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. de M., Converti, A., & Oliveira, R. P. de S. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32(1), 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>
- Bastos, M. do C. de F., Coutinho, B. G., & Coelho, M. L. V. (2010). Lysostaphin: A Staphylococcal Bacteriolysin with Potential Clinical Applications. *Pharmaceuticals*, 3(4), 1139–1161. <https://doi.org/10.3390/ph3041139>
- Blake, K. L., Randall, C. P., & O'Neill, A. J. (2011). In Vitro Studies Indicate a High Resistance Potential for the Lantibiotic Nisin in *Staphylococcus aureus* and Define a Genetic Basis for Nisin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5), 2362–2368. <https://doi.org/10.1128/AAC.01077-10>
- Bradshaw, J. P. (2003). Cationic Antimicrobial Peptides. *BioDrugs*, 17(4), 233–240. <https://doi.org/10.2165/00063030-200317040-00002>
- Braun, V., Pilsel, H., & GroB, P. (1994). Colicins: structures, modes of action, transfer through membranes, and evolution. *Archives of Microbiology*, 161(3), 199–206. <https://doi.org/10.1007/BF00248693>
- Breuer, B., & Radler, F. (1996). Inducible resistance against nisin in *Lactobacillus casei*. *Archives of Microbiology*, 165(2), 114–118. <https://doi.org/10.1007/s002030050305>
- Bures, J., Horák, V., Fixa, B., Komárková, O., Zaydlar, K., Lonský, V., & Masurka, V. (1986). Colicinogeny in colorectal cancer. *Neoplasma*, 33(2), 233–237. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/3520352>
- Cascales, E., Buchanan, S. K., Duche, D., Kleanthous, C., Lloubes, R., Postle, K., ... Cavard, D. (2007). Colicin Biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158–229. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-06>
- Cascales, Eric, Buchanan, S. K., Duché, D., Kleanthous, C., Lloubès, R., Postle, K., ... Cavard, D. (2007). Colicin Biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158–229. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-06>
- Chen, P., Novak, J., Kirk, M., Barnes, S., Qi, F., & Caufield, P. W. (1998). Structure-activity study of the lantibiotic mutacin II from *Streptococcus mutans* T8 by a gene replacement strategy. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(7), 2335–2340. <https://doi.org/9647795>
- Chikindas, M., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V., & Dicks, L. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.011>
- Collin, F., & Maxwell, A. (2019). The Microbial Toxin Microcin B17: Prospects for the Development of New Antibacterial Agents. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3400–3426. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.050>
- Collins, B., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, P. (2010). Applications of Lactic Acid

- Bacteria-Produced Bacteriocins. In *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria* (pp. 89–109). <https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch5>
- Collins, B., Curtis, N., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2010). The ABC Transporter AnrAB Contributes to the Innate Resistance of *Listeria monocytogenes* to Nisin, Bacitracin, and Various  $\beta$ -Lactam Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(10), 4416–4423. <https://doi.org/10.1128/AAC.00503-10>
- Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10), 777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1273>
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95–105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>
- Cutler, S. A., Lonergan, S. M., Cornick, N., Johnson, A. K., & Stahl, C. H. (2007). Dietary Inclusion of Colicin E1 Is Effective in Preventing Postweaning Diarrhea Caused by F18-Positive *Escherichia coli* in Pigs. 51(11), 3830–3835. <https://doi.org/10.1128/AAC.00360-07>
- de Almeida Vaucher, R., de Campos Velho Gewehr, C., Folmer Correa, A. P., Sant'Anna, V., Ferreira, J., & Brandelli, A. (2011). Evaluation of the immunogenicity and in vivo toxicity of the antimicrobial peptide P34. *International Journal of Pharmaceutics*, 421(1), 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.09.020>
- Duquesne, S., Petit, V., Peduzzi, J., & Rebuffat, S. (2007). Structural and Functional Diversity of Peptides from Enterobacteria. 200–209. <https://doi.org/10.1159/000104748>
- Field, D., Blake, T., Mathur, H., Connor, P. M. O., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2019). Bioengineering nisin to overcome the nisin resistance protein. 111(February), 717–731. <https://doi.org/10.1111/mmi.14183>
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. Ben. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 51–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>
- Garde, S., Ávila, M., Medina, M., & Nuñez, M. (2004). Fast induction of nisin resistance in *Streptococcus thermophilus* INIA 463 during growth in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 96(2), 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.023>
- Ghequire, M. G. K., & De Mot, R. (2014). Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(4), 523–568. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12079>
- Ghobrial, O., Derendorf, H., & Hillman, J. D. (2010). Human serum binding and its effect on the pharmacodynamics of the lantibiotic MU1140. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(5), 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.005>
- Grinter, R., Milner, J., & Walker, D. (2012). Bacteriocins active against plant pathogenic bacteria. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1498–1502. <https://doi.org/10.1042/BST20120206>
- Guasch, J., Enfedaque, J., Fer, S., Gargallo, D., & Regué, M. (1995). Bacteriocin 28b, a chromosomally encoded bacteriocin produced by most *Serratia marcescens* biotypes. 477–483.
- Gupta, S. M., Aranha, C. C., & Reddy, K. V. R. (2008). Evaluation of developmental toxicity of microbicide Nisin in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 598–603. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.006>

- Heng, N. C., Wescombe, P. A., Burton, J. P., Jack, R. W., & Tagg, J. R. (2007). The Diversity of Bacteriocins in Gram-Positive Bacteria. In *Bacteriocins* (pp. 45–92). [https://doi.org/10.1007/978-3-540-36604-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-540-36604-1_4)
- J. Fuska, Alzbeta Fuskova, J. S. and J. M. (1978). Effect of colicin E3 on leukemia cells P 388 in vitro . (1), 406–407.
- Jallouk, A. P., Palekar, R. U., Pan, H., Schlesinger, P. H., & Wickline, S. A. (2015). Modifications of Natural Peptides for Nanoparticle and Drug Design. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.12.001>
- Jarvis, B. (1967). Resistance to Nisin and Production of Nisin-Inactivating Enzymes by Several Bacillus Species. *Journal of General Microbiology*, 47(1), 33–48. <https://doi.org/10.1099/00221287-47-1-33>
- Jarvis, B., & Farr, J. (1971). Partial purification, specificity and mechanism of action of the nisin-inactivating enzyme from Bacillus cereus. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology*, 227(2), 232–240. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(71\)90056-8](https://doi.org/10.1016/0005-2744(71)90056-8)
- Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R. E. W. (2006). Peptide Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 491–511. <https://doi.org/10.1128/CMR.00056-05>
- Joerger, R. D. (2001). Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages. *Poultry Science*, 82(4), 640–647. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.640>
- Joo, N. E., Ritchie, K., Kamarajan, P., Miao, D., & Kapila, Y. L. (2012). Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC1. *Cancer Medicine*, 1(3), 295–305. <https://doi.org/10.1002/cam4.35>
- Józefiak, D., Kierończyk, B., Juśkiewicz, J., Zduńczyk, Z., Rawski, M., Sip, A., & Højberg, O. (2013). Dietary Nisin Modulates the Gastrointestinal Microbial Ecology and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. 8(12), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085347>
- Kamarajan, P., Hayami, T., Matte, B., Liu, Y., Danciu, T., Ramamoorthy, A., ... Kapila, Y. (2015). Nisin ZP, a Bacteriocin and Food Preservative, Inhibits Head and Neck Cancer Tumorigenesis and Prolongs Survival. *PLOS ONE*, 10(7), e0131008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131008>
- Kazazic, M., Nissen-Meyer, J., & Fimland, G. (2002). Mutational analysis of the role of charged residues in target-cell binding, potency and specificity of the pediocin-like bacteriocin sakacin P. *Microbiology*, 148(7), 2019–2027. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-7-2019>
- Kingcha, Y., Tosukhowong, A., Zendo, T., Roytrakul, S., Luxananil, P., Charonpornsook, K., ... Visessanguan, W. (2012). Anti-listeria activity of *Pediococcus pentosaceus* BCC 3772 and application as starter culture for Nham, a traditional fermented pork sausage. *Food Control*, 25(1), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.005>
- Kleanthous, C. (2010). Swimming against the tide: progress and challenges in our understanding of colicin translocation. *Nature Reviews Microbiology*, 8(12), 843–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2454>
- Kluskens, L. D., Kuipers, A., Rink, R., de Boef, E., Fekken, S., Driessen, A. J. M., ... Moll, G. N. (2005). Post-translational modification of therapeutic peptides by NisB, the dehydratase of the lantibiotic nisin. *Biochemistry*, 44(38), 12827–12834. <https://doi.org/10.1021/bi050805p>
- Knapen, F. Van, & Lipman, L. J. A. (2001). Sensitivity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains



- for colicins under different experimental conditions. 204.
- Kovács, M., Halfmann, A., Fedtke, I., Heintz, M., Peschel, A., Vollmer, W., ... Brückner, R. (2006). A Functional dlt Operon, Encoding Proteins Required for Incorporation of d-Alanine in Teichoic Acids in Gram-Positive Bacteria, Confers Resistance to Cationic Antimicrobial Peptides in *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Bacteriology*, 188(16), 5797–5805. <https://doi.org/10.1128/JB.00336-06>
- Kramer, N. E., van Hijum, S. A. F. T., Knol, J., Kok, J., & Kuipers, O. P. (2006). Transcriptome Analysis Reveals Mechanisms by Which *Lactococcus lactis* Acquires Nisin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(5), 1753–1761. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1753-1761.2006>
- Lacroix, F. G. M. (1998). Characterization of nisin-resistant variants of *Pediococcus acidilactici* UL5, a producer of pediocin. *Journal of Applied Microbiology*.
- Lagha, A. Ben, Haas, B., Gottschalk, M., & Grenier, D. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. *Veterinary Research*, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0425-6>
- Lancaster, L. E., Wintermeyer, W., & Rodnina, M. V. (2007). Colicins and their potential in cancer treatment. 38, 15–18. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2006.10.006>
- Lopetuso, L. R., Giorgio, M. E., Saviano, A., Scaldaferri, F., Gasbarrini, A., & Cammarota, G. (2019). Bacteriocins and bacteriophages: Therapeutic weapons for gastrointestinal diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/ijms20010183>
- M.C. Rea, R.P. Ross, P.D. Cotter, C. H. (2011). Classification of bacteriocins from gram-positive bacteria. In *Prokaryotic Antimicrobial Peptides* (pp. 29–53). Maisnier-Patin, S., & Richard, J. (1996). Cell wall changes in nisin-resistant variants of *Listeria innocua* grown in the presence of high nisin concentrations. *FEMS Microbiology Letters*, 140(1), 29–35. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08310.x>
- Mantovani, H. C., & Russell, J. B. (2001). Nisin Resistance of *Streptococcus bovis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2), 808–813. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.808-813.2001>
- Martin-Visscher, L. A., Yoganathan, S., Sit, C. S., Lohans, C. T., & Vederas, J. C. (2011). The activity of bacteriocins from *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 against Gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. *FEMS Microbiology Letters*, 317(2), 152–159. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02223.x>
- Mascher, T., Zimmer, S. L., Smith, T.-A., & Helmann, J. D. (2004). Antibiotic-Inducible Promoter Regulated by the Cell Envelope Stress-Sensing Two-Component System LiaRS of *Bacillus subtilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 2888–2896. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.2888-2896.2004>
- Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Bacteriocin-Antimicrobial Synergy: A Medical and Food Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01205>
- Mazzotta, A. S., & Montville, T. J. (1999). Characterization of fatty acid composition, spore germination, and thermal resistance in a nisin-resistant mutant of *Clostridium botulinum* 169B and in the wild-type strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 659–664. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9925597>

- McBride, S. M., & Sonenshein, A. L. (2011). The dlt operon confers resistance to cationic antimicrobial peptides in *Clostridium difficile*. *Microbiology*, 157(5), 1457–1465. <https://doi.org/10.1099/mic.0.045997-0>
- Medine Güllüce, M. K. and Ö. B. (2015). Bacteriocins : Promising Natural Antimicrobials Bacteriocins : Promising Natural Antimicrobials. (January 2013). <https://doi.org/10.13140/2.1.5014.5606>
- Mills, S., Stanton, C., Hill, C., & Ross, R. P. (2011). New Developments and Applications of Bacteriocins and Peptides in Foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1), 299–329. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022510-133721>
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
- Netz, D. J. A., Pohl, R., Beck-Sickinger, A. G., Selmer, T., Pierik, A. J., Bastos, M. do C. de F., & Sahl, H.-G. (2002). Biochemical Characterisation and Genetic Analysis of Aureocin A53, a New, Atypical Bacteriocin from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Molecular Biology*, 319(3), 745–756. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)00368-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00368-6)
- Netz, D. J. A., Sahl, H.-G., Marcolino, R., dos Santos Nascimento, J., de Oliveira, S. S., Soares, M. B., & do Carmo de Freire Bastos, M. (2001). Molecular characterisation of aureocin A70, a multi-peptide bacteriocin isolated from *Staphylococcus aureus*11 Edited by M. Yaniv. *Journal of Molecular Biology*, 311(5), 939–949. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4885>
- Nissen-Meyer, J., Rogne, P. A., Oppegard, C., Haugen, H., & Kristiansen, P. E. (2009). Structure-Function Relationships of the Non-Lanthionine-Containing Peptide (class II) Bacteriocins Produced by Gram-Positive Bacteria. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(1), 19–37. <https://doi.org/10.2174/138920109787048661>
- O’Sullivan, L., Ryan, M. P., Ross, R. P., & Hill, C. (2003). Generation of Food-Grade Lactococcal Starters Which Produce the Lantibiotics Lacticin 3147 and Lacticin 481. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3681–3685. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3681-3685.2003>
- Oman, T. J., Boettcher, J. M., Wang, H., Okalibe, X. N., & van der Donk, W. A. (2011). Sublancin is not a lantibiotic but an S-linked glycopeptide. *Nature Chemical Biology*, 7(2), 78–80. <https://doi.org/10.1038/nchembio.509>
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. (2018). Norma general para los aditivos alimentarios.
- Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Preciado, G. M., Michel, M. M., Villareal-Morales, S. L., Flores-Gallegos, A. C., Aguirre-Joya, J., Morlett-Chávez, J., ... Rodríguez-Herrera, R. (2016). Bacteriocins and Its Use for Multidrug-Resistant Bacteria Control. In *Antibiotic Resistance* (pp. 329–349). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00016-2>
- Prudêncio, C. V., dos Santos, M. T., & Vanetti, M. C. D. (2015). Strategies for the use of bacteriocins in Gram-negative bacteria: relevance in food microbiology. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5408–5417. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1666-2>
- Radaic, A., de Jesus, M. B., & Kapila, Y. (2020). Bacterial anti-microbial peptides

- and nano-sized drug delivery systems: The state of the art toward improved bacteriocins. *Journal of Controlled Release*, 321, 100–118. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.02.001>
- Rea, M., Ross, P., Cotter, P., & Hill, C. (2011). Classification of Bacteriocins from Gram-Positive Bacteria. In *Prokaryotic Antimicrobial Peptides* (pp. 29–53). [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5_3)
- Rebuffat, S. (2012). Microcins in action: amazing defence strategies of Enterobacteria. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1456–1462. <https://doi.org/10.1042/BST20120183>
- Riley, M. A., & Wertz, J. E. (2002). Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 117–137. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024>
- Rink, R., Kluskens, L. D., Kuipers, A., Driessen, A. J. M., Kuipers, O. P., & Moll, G. N. (2007). NisC, the Cyclase of the Lantibiotic Nisin, Can Catalyze Cyclization of Designed Nonlantibiotic Peptides †. *Biochemistry*, 46(45), 13179–13189. <https://doi.org/10.1021/bi700106z>
- Rios, A. C., Moutinho, C. G., Pinto, F. C., Del Fiol, F. S., Jozala, A., Chaud, M. V., ... Balcão, V. M. (2016). Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. *Microbiological Research*, 191, 51–80. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.04.008>
- Rollema, H. S., Kuipers, O. P., Both, P., de Vos, W. M., & Siezen, R. J. (1995). Improvement of solubility and stability of the antimicrobial peptide nisin by protein engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 2873–2878. <https://doi.org/7487019>
- Ryan, M. P., McAuliffe, O., Ross, R. P., & Hill, C. (2001). Heterologous expression of lacticin 3147 in *Enterococcus faecalis*: comparison of biological activity with cytolysin. *Letters in Applied Microbiology*, 32(2), 71–77. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2001.00864.x>
- Sahoo, T. K., Jena, P. K., Prajapati, B., Gehlot, L., Patel, A. K., & Seshadri, S. (2017). In Vivo Assessment of Immunogenicity and Toxicity of the Bacteriocin TSU4 in BALB/c Mice. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3), 345–354. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9249-3>
- Shin, J.M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of Applied Microbiology*, 120(6), 1449–1465. <https://doi.org/10.1111/jam.13033>
- Shin, Jae M., Ateia, I., Paulus, J. R., Liu, H., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2015). Antimicrobial nisin acts against saliva derived multi-species biofilms without cytotoxicity to human oral cells. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00617>
- Simons, A., Alhanout, K., & Duval, R. (2020). Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. *Microorganisms*, 8(5), 639. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
- Smarda, J. C. J. (2003). Human Tumor Cells Are Selectively Inhibited by Colicins. 48(1), 111–115.
- Stahl, C. H., Callaway, T. R., Lincoln, L. M., Lonergan, S. M., & Genovese, K. J. (2004). Inhibitory Activities of Colicins against *Escherichia coli* Strains Responsible for Postweaning Diarrhea and Edema Disease in Swine. 48(8), 3119–3121. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.3119>
- Stepper, J., Shastri, S., Loo, T. S., Preston, J. C., Novak, P., Man, P., ... Norris, G. E.

- (2011). Cysteine S -glycosylation, a new post-translational modification found in glycopeptide bacteriocins. *FEBS Letters*, 585(4), 645–650. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.01.023>
- Stern, N. J., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Pereygin, V. V, Mitsevich, E. V, Mitsevich, I. P., ... Al, S. E. T. (2006). Isolation of a *Lactobacillus salivarius* Strain and Purification of Its Bacteriocin , Which Is Inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the Chicken Gastrointestinal System. *50*(9), 3111–3116. <https://doi.org/10.1128/AAC.00259-06>
- Suda, S., Westerbeek, A., O'Connor, P. M., Ross, R. P., Hill, C., & Cotter, P. D. (2010). Effect of Bioengineering Lacticin 3147 Lanthionine Bridges on Specific Activity and Resistance to Heat and Proteases. *Chemistry & Biology*, 17(10), 1151–1160. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.08.011>
- Vadyvaloo, V., Arous, S., Gravesen, A., Héchard, Y., Chauhan-Haubrock, R., Hastings, J. W., & Rautenbach, M. (2004). Cell-surface alterations in class IIa bacteriocin-resistant *Listeria monocytogenes* strains. *Microbiology*, 150(9), 3025–3033. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27059-0>
- World Health Organization. (2014). Safety evaluation of certain food additives and contaminants.
- Yuan, J., Zhang, Z.-Z., Chen, X.-Z., Yang, W., & Huan, L.-D. (2004). Site-directed mutagenesis of the hinge region of nisinZ and properties of nisinZ mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(6), 806–815. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1599-1>
- Zou, J., Jiang, H., Cheng, H., Fang, J., & Huang, G. (2018). Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 781–789. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.233>