

Revista de la Sociedad Mexicana de
Biotechnología
y Bioingeniería A.C.

Año 2021 Volumen 25, Número 1
ISSN 0188-4786



Sociedad Mexicana de
Biotechnología y Bioingeniería



MESA DIRECTIVA

2020 – 2022

Dr. Jaime Ortega López
Presidente

Dra. Romina Rodríguez Sanoja
Vicepresidenta

Dr. Álvaro R. Lara Rodríguez
Secretario

Dra. Angélica Meneses Acosta
Tesorero

Dra. Beatriz Ruiz Villafán
Subsecretaria

Dr. Gerardo Reséndiz Cardiel
Vocal Profesional

P. Biol. Teresa E. Martínez Oropeza
Vocal Estudiante

EDITORORA

Dra. María Soledad Córdova Aguilar
UNAM

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Silvia Armenta Jaime
Dr. Adelfo Escalante Lozada
Dr. Luis Bernardo Flores Cotera
Dr. Pablo Gortáres Moyoroqui
Dr. Jorge Gracida
Dr. Daniel Guillén Santos
Dra. Claudia Patricia Larralde Corona
Dra. Itzel López Rosas
Dra. Silvia Andrea Moreno Mendieta
Dr. Jaime Ortega López
Dra. Andrea Sabido Ramos
Dra. Georgina Sandoval
Dra. Elda Patricia Segura Cenicerros
Dra. Isadora Martínez Arellano
Dra. María Eugenia de la Torre
Dra. Virginia Villacruz
Dra. Beatriz Ruiz Villafán

ISSN 0188-4786, revista cuatrimestral publicada por la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C. incluida en PERIÓDICA, índice de Revista Latinoamericanas en Ciencias (CICH-UNAM), en LATINDEX (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), los artículos se encuentran en Google Académico. Certificado de Licitud de Título en trámite y Certificado de Licitud de Contenido en trámite. Reserva de derechos de Título 04-1999-082516265000-101. Los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores. Se prohíbe la reproducción total o parcial de su contenido sin previa autorización por escrito del Comité editorial. Toda correspondencia deberá enviarse a Km. 23.5 Carretera Federal México-Cuernavaca, Av. Cipreses s/n, Col. San Andrés Totoltepec, C.P. 14400, Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México o a la siguiente dirección electrónica: revista_biotecnologia@smbb.mx.

Índice

Instrucciones para los autores 4

EDITORIAL

María Soledad Córdova Aguilar 8

ARTÍCULOS

Actividad de los fructooligosacáridos como prebiótico y efectos sobre el tracto intestinal

Nicolás Di Primio, Gladys Duca y Cristina Rubio 10

Agentes de control biológico de la roya del café

¿Cómo funcionan y qué tan efectivos son?

Christian Hernández, Luis López y Leonardo Sánchez 21

Bioadhesivos: La transición hacia los compuestos bio-basados

Gustavo Zamudio, Guillermo Gosset y Andrea Sabido-Ramos 31

Determinación de la flotabilidad del coronavirus SARS-CoV-2

Eduardo A. Mantineo 44

Use of Broadly Neutralizing Antibodies as an Alternative Treatment for HIV-1, what the Clinical Trials Show: A review

Uso de anticuerpos neutralizantes de amplio espectro como tratamiento alternativo para VIH-1, lo que los ensayos clínicos muestran: Una revisión

Anapaula González, Andrea Güémez, Ana Elena Hernández y Emma Herrera 49

Instrucciones para los autores

Guía de Autores

La revista puede recibir trabajos de investigación original, así como de revisión en los campos de la Biotecnología y Bioingeniería. Todos los manuscritos serán sujetos a revisión por al menos dos miembros del Comité Editorial y deberán contar con una recomendación de aceptación para ser publicados.

Los idiomas en los que se puede publicar en la revista son el español y el inglés.

Los trabajos se escribirán en hoja tamaño carta (21.6 cm x 27.6 cm). Los márgenes aplicados a todo el manuscrito serán de 2.5 cm para los extremos superior e inferior, así como 3 cm de cada lado. Las páginas deberán estar numeradas en la parte inferior y central de cada hoja.

Para evitar errores innecesarios se recomienda usar el corrector de gramática y ortografía del procesador de palabras. Se recomienda que los trabajos completos tengan un máximo de 25 páginas, escritas con un interlineado de 1.5 renglones, incluyendo las tablas y figuras. Las publicaciones en la revista Biotecnología están exentas de costo para los autores.

Cuando corresponda, se recomienda el uso de abreviaturas para referirse a unidades de tiempo (h, min, s), de volumen (l, ml, μ l), de peso (kg, g, mg, μ g), ADN, ARN y otras comúnmente aceptadas en la literatura científica.

Los trabajos de investigación original pueden tocar cualquiera de los diversos campos que cultivan la biotecnología y la bioingeniería, desde aspectos fundamentales hasta sus aplicaciones, incluyendo: Enzimas y Biocatálisis, Microbiología, Biotecnología Agrícola y Vegetal, Biotecnología Marina, Alimentos y bebidas, Biotecnología farmacéutica, Biotecnología Ambiental, Bioingeniería y fermentaciones, Bioenergía y biocombustibles, Biología de sistemas y bioinformática, Biología sintética, Nanobiotecnología y biomateriales, Ingeniería metabólica, Omicas, Bioseguridad y Bioética.

Tanto los trabajos de investigación original como las revisiones deberán apearse al siguiente formato:

Instrucciones para los autores

1. El título del manuscrito se escribirá en negritas con letra Arial o equivalente tamaño 14. El título deberá estar centrado y ser conciso e informativo. Evite el uso de abreviaciones y fórmulas.
2. El nombre de los autores ocupará los siguientes renglones escribiendo el nombre y primer apellido de cada participante. Se usará letra Arial o equivalente tamaño 12. Los nombres de los participantes deberán estar centrados, señalando con un asterisco el autor responsable de la publicación. En el siguiente renglón con letra *italica* Arial del mismo tamaño, se incluirá la dirección postal de la institución de adscripción de los autores, así como la dirección de correo del autor corresponsal. Si el responsable fuera un estudiante, deberá incluir una carta del tutor o director del trabajo autorizándolo.
3. Se deberá añadir un Resumen de no más de 250 palabras en español y el correspondiente Abstract en inglés.
4. Se incluirán entre 3 a 6 Palabras clave: que permitan clasificar el artículo en una base de datos. Estas palabras deberán de incluirse en español y en inglés (Key words).
5. Si el texto inicia con el nombre de algún subtema, éste se pondrá como primera línea en cursivas con letra Arial o equivalente tamaño 10. Después en el siguiente renglón se iniciará el texto descriptivo usando letra Arial o equivalente tamaño 10. El texto deberá ser escrito con un interlineado de 1.5 renglones. Se deberá dejar un espacio de un renglón al inicio de una sección o subtema nuevo. Los géneros y especies deberán escribirse en letras *italicas*.
6. Las figuras deberán numerarse con arábigos, correlativamente en orden de aparición en el texto. No se integrarán al texto, sino al final del manuscrito. No obstante, para facilitar el trabajo de edición, se recomienda indicar la ubicación de las mismas en el momento en que son mencionadas por primera vez en el texto. Las figuras deben incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la misma. Si es necesario incluir fotos, éstas se deberán designar como figuras.
7. Las tablas también se numerarán con arábigos ubicados en la parte superior de las mismas e incluirán un breve título explicativo. Las notas en las tablas deberán ser indicadas con letras minúsculas en superíndice. La ubicación de las tablas será señalada en el texto, pero se anexarán en hojas separadas y al igual que las figuras, al final del manuscrito.
8. La información dada como referencias bibliográficas deberá permitir a los lectores llegar con facilidad a la fuente de información original. En el texto del trabajo, las referencias

Instrucciones para los autores

se citan por autor y año entre paréntesis redondos. Por ejemplo: “Martínez & García (1999) han demostrado que...”, o bien, “Datos recientes (Martínez & García, 1999) han demostrado que...”. Si la cita posee varios autores se escribirá como sigue: “Gutiérrez et al. (2003), han demostrado...” O bien: “Datos recientes (Gutiérrez et al., 2003) han mostrado...” Si la cita es una página de Internet, la dirección URL deberá escribirse completa y entre paréntesis directamente en el texto.

9. La lista de Referencias se deberá escribir con el mismo tipo de letra del texto principal (Arial tamaño 10) y con sangría francesa de acuerdo con el siguiente formato:

Artículos:

Bayegan AH, Clote P (2020) RNAmountAlign: Efficient software for local, global, semiglobal pairwise and multiple RNA sequence/structure alignment. PLoS ONE 15(1): e0227177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227177>.

Libros:

Ullrich M (2009) Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends. Horizon Scientific Press, Norwich.

Capítulos de libros:

Sánchez S & Demain AL (2009) Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. In: Encyclopedia of Industrial Biotechnology. Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology (EIB). Flickinger MC (ed). John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. pp. 396-458.

Patentes:

Fenical WH, Jensen PR & Kwon HC (2009) Polyol macrolide antitumor-antibiotics from the marine actinomycete strain CNQ140. US patent 7,521,414.

Congresos y reuniones:

Reyes N, Domínguez RM, Islas I & Solís S (2007) Inducción diferencial por pH y temperatura del complejo pectinolítico producido por células inmovilizadas de *Aspergillus HL*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia Mich. México. OIII-12.

Instrucciones para los autores

Sitios en internet:

CAZY, Carbohydrate-Active Enzymes Database. (<http://www.cazy.org/>)

Tesis de pre y posgrado:

Cárdenas C (2009) Evaluación del uso biotecnológico de la semilla de *Ditaxis heterantha* para la producción de safranal. Tesis Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. pp. 1-78.

Cada autor es responsable de la precisión de las citas que emplea.

Una vez que ha sido revisado y aceptado su trabajo, los autores deberán enviar una carta de cesión de los Derechos de Autor, de manera que la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería pueda hacer uso del artículo aceptado, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica y tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectan la propiedad intelectual que es propia de los autores, para usar la totalidad o parte de ese artículo con fines no lucrativos.

Los trabajos se someten en línea en la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Biotecnología, en la dirección <https://smbb.mx/publicaciones/publicacion-de-articulo/>. Al momento de recibirlo, se enviará un acuse de recibo al autor corresponsal. La dirección para mantener comunicación con el editor es: revista_biotecnologia@smbb.mx y marisol.cordova@icat.unam.mx.

Una vez aceptados, los trabajos son editados y enviados a los autores para su corrección. En esta condición no se permitirán cambios sustanciales en el contenido de los mismos sin la aprobación del editor en jefe. Una vez aprobada la prueba, el trabajo se publicará en línea y podrá ser consultado en la página de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería AC <http://www.smbb.com.mx/>.

Editorial

La emergencia de salud pública internacional derivada de la enfermedad causada por el coronavirus SARS-CoV-2 transformó nuestra vida por completo. Desde inicios del 2020, la vida de miles de millones de personas de todo el mundo se alteró, desafiándonos a un cambio repentino y rápido en la forma en que vivimos. Las medidas de confinamiento y distanciamiento social obligaron a establecer nuevas formas de interactuar, pasar mucho más tiempo en familia, tener la educación en el hogar, trabajar de forma remota o no trabajar en absoluto. La salud se convirtió en la prioridad para todos pero se acompañó de la incertidumbre y miedo al contagio.

La nueva realidad contribuyó a una crisis económica, donde muchas empresas fueron a la quiebra; no obstante, las nuevas tendencias y hábitos en los consumidores se convirtieron en alternativas excelentes para emprender e innovar. De esta manera, ámbitos como los servicios digitales, logística, farmacias, la tecnología, el e-learning o aprendizaje digital y el comercio electrónico o e-commerce resultaron sectores ampliamente beneficiados.

En el 2021, ya aprendimos a vivir en la nueva normalidad y muchos de los comportamientos que se transformaron no regresarán a lo de antes. El distanciamiento social continuará por más tiempo. El trabajo remoto y el aprendizaje digital así como la innovación, la tecnología y lo natural seguirán siendo la base de nuestra nueva normalidad. Los humanos deseamos volver a socializar pero los cambios repentinos y rápidos resultaron abrumadores, obligándonos a replantear las metas personales, de trabajo, de salud, económicas y espirituales.

The Economist, en su estudio *Hacia una nueva normalidad 2021-2030*, resalta que lo de hoy es lo natural y saludable: Comida, experiencias y forma de interactuar. Si bien, esta emergencia de salud, nos separó pero al mismo tiempo, nos conectó, la transformación digital llegó para quedarse en nuestras vidas. Hoy más que nunca, tener presencia digital es fundamental para continuar vigentes. Seguiremos

Editorial

trabajando en línea desde nuestras casas cada vez más adaptadas y con reuniones remotas, con videollamadas y juntas internacionales en línea. Muy pocos quieren volver a vivir en el tráfico y en la vorágine de los tiempos de traslado otra vez.

Los expertos señalan que se crearán múltiples espacios para grandes juntas digitales con todas las soluciones resueltas. Los viajes, congresos o reuniones de trabajo no regresan como eran. Los grandes congresos se transforman en sistemas tecnológicos y se harán en línea. En este contexto, nuestra SMBB se adapta a la situación y convoca a participar en su décima novena edición del Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, en una plataforma completamente virtual. El evento se llevará a cabo del 27 de septiembre al 1º de octubre de 2021 y como cada dos años, los invitamos a que convirtamos este foro en el más importante para el intercambio de experiencias y debate crítico de las nuevas tendencias y avances de la biotecnología alimentaria, vegetal y agrícola, farmacéutica, industrial, energética y ambiental además de promover la creación de redes entre colegas y fundamentalmente, involucrar a las nuevas generaciones en este campo del conocimiento a nivel internacional.

Por último, pero no menos importante, agradezco a la MDN y en especial a la Dra. Romina Rodríguez Sanoja, actual Vicepresidenta de la SMBB por la confianza de llevar la edición de la Revista Biotecnología. Ahora la estafeta queda en mí persona esperando aportar lo mejor a la edición.

Dra. María Soledad Córdova Aguilar
Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología-UNAM
marisol.cordova@icat.unam.mx

Actividad de los fructooligosacáridos como prebiótico y efectos sobre el tracto intestinal

A. Nicolás Di Primio², Gladys Duca^{1*}, Cristina Rubio²

¹Departamento Biomédico (Orientación Bioquímica)
de la Facultad de medicina. Avda. Roca 1800.

²Instituto de Biotecnología de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia.
Universidad Nacional de Tucumán. Ayacucho 471. 4000. Tucumán. Argentina.

gladuc1@hotmail.com

Resumen

Actualmente los prebióticos se investigan como una forma efectiva, saludable y relativamente económica para potenciar las defensas a nivel del tracto intestinal. Dentro de ellos, los fructooligosacáridos (FOS) siguen siendo estudiados para encontrar respuestas sobre los efectos benéficos que poseen al estimular una microbiota específica del intestino, bifidobacterias y lactobacilos, para defender a las células intestinales de la colonización de organismos patógenos. En este órgano se realizan otras funciones muy importantes, entre ellas la absorción de iones, como calcio, fósforo y magnesio, que son requeridos a fin de obtener una adecuada mineralización del tejido óseo. El objetivo del trabajo es la revisión bibliográfica de trabajos que demuestran los efectos positivos de los prebióticos, entre ellos la estimulación del crecimiento de las células de la mucosa colon-rectal; el retardo de la atrofia de la mucosa, la disminución del riesgo de cáncer de colon y el efecto de estos compuestos en la absorción de cationes sobre el tejido óseo. Se revisaron las referencias bibliográficas de mayor impacto en el tema de los fructooligosacáridos y su efecto sobre diferentes funciones que se realizan en el tracto intestinal.

Palabras clave: Fructooligosacáridos; prebióticos; probiótico; tracto intestinal; absorción minerales.

Abstract

Prebiotics are currently being investigated as an effective, healthy and relatively inexpensive way to enhance defenses at the intestinal tract level. Within them, fructooligosaccharides (FOS) are still studied to find answers on the beneficial effects that possess by stimulating a specific gut microbiota, bifidobacteria and lactobacils, to defend intestinal cells from colonization of pathogenic organisms. Other important functions are performed in this organ, including the absorption of ions, such as calcium, phosphorus and magnesium, which are required in order to obtain adequate mineralization of bone tissue. The objective of the work is the bibliographic review of works that demonstrate the positive effects of prebiotics, including the stimulation of the growth of colon-rectal mucosa cells; delay of mucosal atrophy, decreased risk of colon cancer and the effect of these compounds on the absorption of cations on bone tissue. The most important bibliographic references on the fructooligosaccharides topic and their effect on different functions performed in the intestinal tract were reviewed.

Key words: Fructooligosaccharides; prebiotics; probiotic; intestinal tract; mineral absorption

Introducción

Actualmente se han incorporado a la dieta humana y animal compuestos orgánicos que tienen propiedades beneficiosas para la salud física y mental. Estos compuestos son naturales obtenidos de vegetales (inulina), o bien hidrolizados por acción de enzimas como inulinasa (β -D-(2.1)-fructano fructohidrolasa (E.C. 3.2.1.7) e invertasa (β -fructofuranosidasa E.C. 3.2.1.26) para obtener fructooligosacáridos (FOS) (Duca et al., 2009; Rubio et al., 2012). Ambos compuestos se incluyen dentro de los llamados prebióticos, que se definen como ingredientes de alimentos no digeribles o sustancia que específicamente soportan el crecimiento y/o la actividad de bacterias que promueven la salud, que colonizan el tracto intestinal (Bindels et al., 2015). La definición inicial de probióticos fue propuesta en 1965 y se refería a sustancias secretadas por los microorganismos que estimulan el crecimiento de otros (en oposición a los “antibióticos”). Actualmente el término probiótico hace referencia a un preparado o a un producto que contiene cepas de microorganismos viables en cantidad suficiente como para alterar la microbiota, sea por implantación o colonización en el intestino del huésped y que produce efectos beneficiosos en dicho organismo. La definición incluye tanto a productos que contienen microorganismos (por ejemplo, leches fermentadas) como a preparados de microorganismos (por ejemplo, comprimidos o polvos). La OMS propone una definición más simple y se refiere a microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidad adecuada confieren un efecto beneficioso sobre la salud del huésped. Mientras que, el término simbióticos se refiere a aquellos productos que contienen probióticos y prebióticos. En el sentido estricto se reserva a productos en los que el componente prebiótico selectivamente favorece al componente probiótico. Tanto los prebióticos como los probióticos pueden integrar un alimento funcional ya sea en forma individual o de manera conjunta. Se define como alimento funcional “aquellos que contienen ingredientes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades crónicas, que promueve un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo

tradicional y que, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedades, o ambas cosas” (Oliveira Fuster & González Morelo, 2007).

Entre los prebióticos, los más empleados son los fructanos que son carbohidratos con unidades de fructosa, formando polisacáridos como inulina u oligosacáridos como los fructooligosacáridos (FOS). Los FOS, como prebióticos, resisten la digestión en el estómago y el intestino delgado y están disponibles en el colon donde son fermentados selectivamente por un grupo de bacterias específicas, que incluyen el género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, a los cuales se asocian efectos beneficiosos para la salud (Hidaka et al., 1986).

Los prebióticos que son específicamente bifidogénicos son los fructanos con unión β (2-1) que comprenden inulina, oligofructosa y fructooligosacáridos (FOS). Los FOS son oligosacáridos que se obtienen por hidrólisis de la inulina, que están presentes en productos vegetales (vía química); mediante endo-inulinasas (vía enzimática), o por transfructosilación enzimática (β -fructosiltransferasa), usando sacarosa como sustrato (Rubio et al., 2012).

La naturaleza bifidogénica de estos compuestos, se debe a que la mayoría de las cepas de las bifidobacterias tienen ventajas nutricionales sobre otros grupos de microorganismos del tracto intestinal. Los fructanos de la dieta que llegan al colon pueden, por tanto, beneficiar el crecimiento y la actividad de la población de las bifidobacterias autóctonas, ya que poseen una hidrolasa intracelular D-fructano-fructano que hidroliza las moléculas de fructano en un sustrato asimilable (Roberfroid, 2001). Varios estudios han demostrado que la mayoría de las especies de *Bifidobacterium* son capaces de utilizar inulina y FOS de cadena corta (Biedrzycka & Bielecka, 2004; Rossi et al., 2005). En simbiosis, las bacterias lácticas crecen a expensas de estos sustratos favoreciendo la acción inmunomoduladora del organismo. Diferentes ensayos de fermentación in vitro utilizando cultivos puros de microorganismos o cultivos de heces humanas, así como ensayos in vivo, en humanos, han puesto de manifiesto que la inulina y los FOS favorecen

el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos disminuyendo el de bacteroides y clostridios (Macfarlane et al., 2008).

El reconocimiento de la inulina y los FOS como ingredientes GRAS (Generally Recognized as Safe) en USA y como FOSHU (Foods of Specified Health Use) en Japón ha permitido que actualmente estos compuestos se utilicen sin restricciones en numerosos alimentos como yogures, bebidas, barritas de cereales, galletas, cereales y productos de bollería o que sean ingeridos a partir de los siguientes vegetales: achicoria (*Cichorium intybus*), cebolla (*Allium cepa*), ajo (*Allium sativum*), alcachofa (*Cynara scolymus*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*), puerro (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) espárragos (*Asparagus officinalis*), entre otros productos comerciales (Hernández Hernández et al., 2015).

De las numerosas actividades beneficiosas de los prebióticos podemos destacar algunas, como su capacidad de facilitar el desarrollo de bacterias benéficas, las cuales dificultan la colonización de patógenos; estimulan el sistema inmunológico del huésped y originan productos de fermentación beneficiosos que proporcionan energía a las células del intestino, los colonocitos (Clausen & Mortensen, 1995; Castañeda Guillot, 2018), e inducen la apoptosis de las células cancerosas (Zamora et al., 2005).

FOS y microbiota del tracto gastrointestinal

El tracto intestinal del adulto está colonizado por una microbiota variada (Ose et al., 2018) que ofrece beneficios para el huésped, (Fabbrocini et al., 2016; Marchesi et al., 2016; Ose et al., 2018) a través de diversas funciones fisiológicas como la supresión de las respuestas de quimiocinas proinflamatorias de las células epiteliales, la descomposición de componentes alimentarios que de otro modo no serían digeribles, la degradación de sustancias potencialmente tóxicas, la síntesis de vitaminas y aminoácidos, (den Besten et al., 2013; Boonma et al., 2014), la protección contra patógenos (Bäumler & Sperandio, 2016), la regulación de la inmunidad del huésped (Gensollen et al., 2016), y el aumento de la

tolerancia a inmunodeterminantes microbianos. Sin embargo, algunos mecanismos se interrumpen como consecuencia de la alteración de la composición microbiana, conocida como disbiosis intestinal (Thursby & Juge, 2017). Varios factores se relacionan con las variaciones de la microbiota, incluidos los hábitos alimentarios, la ingesta de antibióticos, el estrés y el envejecimiento, entre otros. De todos estos factores, los hábitos dietéticos sería uno de los factores más importantes, porque los tipos de carbohidratos en la dieta son la base para la composición, modulación y actividad de la microbiota. El colon humano constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que componen una microbiota mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada de cantidades menores de microbiota facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos de fermentación con los que éstas dispongan (Chacón Villalobos, 2006).

Los prebióticos previenen la colonización en el intestino humano por microorganismos patógenos ya que estimulan el crecimiento de bacterias beneficiosas que pueden clasificarse como comensales intestinales beneficiosos. Como las enzimas del intestino delgado no pueden digerir los fructanos tipo inulina, debido a la configuración β del C2 anomérico, en los monómeros de fructosa, éstos se fermentan en el intestino grueso para estimular selectivamente el crecimiento de bacterias de tipo probiótico que forman parte de la microbiota intestinal comensal (Macfarlane et al., 2008).

Bifidobacterium y *Lactobacillus* spp pueden utilizar una amplia variedad de oligosacáridos, especialmente los FOS. Sin embargo, estas capacidades metabólicas dependen del grado de polimerización (GP) de los fructooligosacáridos reportado por Ose et al., (2018), después del empleo de FOS en 35 adultos (14g/día). Liu et al., (2017) observaron un aumento en el nivel de *Bifidobacterium* y una disminución de *Phascolarctobacterium*, *Enterobacter*, *Turicibacter*, *Coprococcus* y *Salmonella*, a nivel intestinal, cuando fue suministrado este prebiótico.

Se ha estimado que una ingesta diaria de 15g permite que las bacterias lácticas y *Bifidobacterium* se transformen en la microbiota dominante del colon. No obstante, no es del todo conocido cuales son las cepas de bacterias lácticas y *Bifidobacterium* que son responsables de la metabolización de fructanos en sus diferentes etapas (Gibson et al., 1995; Kaplan & Hutkins, 2000; Molina, 2019) aunque se reportó que *Lactobacillus salivarius-65*, fue capaz de usar inulina como fuente energética y de mayor eficiencia (Yamelys García et al., 2007). También, se comprobó que el suplemento de inulina (8 mg/mL) enriquecida con oligofruktosa en una fórmula infantil durante los primeros 4 meses de vida, promovió el aumento de bifidobacterias en el intestino, similar al mecanismo fisiológico que se efectúa con la leche materna, sin que se observen efectos perjudiciales (Closa-Monasterolo et al., 2013).

En los probióticos, la presencia de una enzima β -fructofuranosidasa inducible y los sistemas de transporte específicos para fructooligosacáridos (grado de polimerización, $GP < 8$) permiten, en especial en bifidobacterias, que fermenten eficientemente los FOS, lo cual les provee ventajas respecto a la competencia por nutrientes y nichos ecológicos, suprimiendo el crecimiento y la adhesión de los patógenos a las células epiteliales intestinales. También se pudo demostrar que, principalmente bacterias lácticas, pueden liberar bacteriocinas que son eficaces para eliminar algunos microorganismos patógenos (Butel et al., 2002).

Lakshminarayanan et al., (2013) reportaron que, algunos productos de fermentación como el ácido láctico y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que reducen el pH luminal del intestino, inhibiendo o eliminando el crecimiento de especies menos resistentes a los ácidos, entre ellos, los microorganismos patógenos. No obstante una sobreacidificación debida a altas concentraciones de ácidos orgánicos podría verse vinculada con la generación de lesiones en la mucosa intestinal comprometiendo la función de una barrera. De acuerdo a Bruggencate (2004), los microorganismos se unen a dominios de reconocimiento de carbohidratos en el enterocito, resultando un paso crucial para una exitosa colonización e infección. Por lo tanto, la dieta diaria

complementada con fructooligosacáridos puede disminuir la colonización, la virulencia y la adhesión de patógenos intestinales al mejorar la inmunidad de la mucosa, por el desarrollo de las bifidobacterias y lactobacilos (Chen et al., 2016).

Los productos de la fermentación realizada en el colon, comprenden un 55% de ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico), 10% de gases (CO_2 , CH_4 , H_2) y un 35% de biomasa bacteriana para un valor energético total de 1,0 a 1,5 kcal/g (Kaplan & Hutkins, 2000; Murphy, 2001). La mayor parte de los ácidos grasos producidos son absorbidos en la sangre desde dónde son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos induciendo cambios en el metabolismo de las grasas y de la glucosa. Los AGCC son un producto de desecho necesario para equilibrar la producción de equivalentes redox en el entorno anaeróbico del intestino (Roberfroid, 2001; Giacco et al., 2004; van Hoek & Merks, 2012). Estudios recientes indican que algunas de estas moléculas también cumplen papeles importantes como moduladores de vías metabólicas primordiales. El butirato producido en la fermentación está asociado, por ejemplo, con la producción de mucinas, que son complejos de glicoproteínas que componen el gel que recubre el epitelio gastrointestinal. Por lo tanto, los prebióticos como los FOS y como resultado del proceso fermentativo, pueden favorecer al epitelio intestinal con el desarrollo de la mucosa y el aumento de la resistencia a las enfermedades intestinales por un mecanismo de barrera. Por esta misma razón, el consumo de fructooligosacáridos impide la aparición de lesiones intestinales ulcerativas (Butel et al., 2002).

De acuerdo a lo reportado por Bhatt et al., (2017) la microbiota puede alterar la susceptibilidad y la progresión del cáncer mediante diversos mecanismos como la modulación de la inflamación, la inducción de daños en el ADN y la producción de metabolitos involucrados en la oncogénesis o la supresión de tumores. La modulación de la microbiota intestinal por probióticos y prebióticos, en forma individual o en combinación, podrían influir, en forma positiva, en la interferencia entre el sistema inmunitario y la microbiota, lo cual, sería beneficioso para prevenir la inflamación y el

cáncer colorectal. Muchas de las bacterias nocivas cuyos metabolitos aceleran la aparición de lesiones ulcerosas pro-carcinogénicas se encuentran inhibidas por la acción simbiótica de los fructooligosacáridos y bifidobacterias. Ensayos realizados en 30 animales han demostrado que cuando se incluye FOS en la alimentación, las bacterias disminuyen la producción de los metabolitos asociados al cáncer de colon (Catala et al., 1999; Roberfroid, 2001; Taper & Roberfroid, 2002; Ambalam et al., 2016).

Viñes et al., (2003) demostraron mediante estudios epidemiológicos que en poblaciones urbanas con mayor incidencia en cáncer de colon, se logró una reducción importante de este tipo de cáncer cuando se implantaron dietas suplementadas con fructooligosacáridos. Los estudios realizados en la población detectaron la predominancia de bacteroides en la microbiota intestinal en esta enfermedad, los cuales disminuyeron con la suplementación de FOS o fructanos en la dieta, debido al incremento de la microbiota benéfica (Henryk & Roberfroid, 2001). Otro compuesto de la fermentación, el butirato, favoreció la proliferación de células normales y suprimió el crecimiento de células diferenciadas y potencialmente cancerígenas. A pesar que el cáncer de colon es una causa relevante de muerte a nivel mundial, no existen estudios concretos en humanos que evidencien la disminución del riesgo de padecer cáncer de colon, aunque hay estudios realizados con prebióticos y probióticos en la prevención de cáncer de colon, pero es un tema importante a continuar investigando (Burns & Rowland, 2003).

Manrique et al., (2005) demostraron que el consumo de fructanos en la dieta humana, incrementó la frecuencia de las deposiciones y el volumen de la masa fecal (debido al aumento de la masa bacteriana y a la retención de agua), disminuyendo el estreñimiento y generando un efecto laxante. Aunque el consumo en exceso puede generar efectos indeseables como flatulencias, presión abdominal y diarreas, que van desapareciendo con el tiempo, ya que el organismo se va acostumbrando al consumo de FOS. Se ha reportado, que el

consumo diario de 3 a 10 g de fructanos en un período de una semana, genera un efecto anticonstipante, esto se atribuye al incremento de la producción de ácidos grasos de cadena corta, y al aumento de movimientos peristálticos producido por la alta población de bifidobacterias. Las deposiciones se vuelven más frecuentes y de mayor consistencia (Ninnes, 1999). Dosis mayores entre 20-40g/día de inulina potencian un efecto laxante (American Association of Cereal Chemists, 2001). En procesos diarreicos producidos por infecciones gastrointestinales, se ha observado una disminución debido al efecto inhibidor de las bifidobacterias sobre los agentes infecciosos (Catala et al., 1999; Kaplan & Hutkins, 2000; Roberfroid, 2001; Szajewska & Mrukowicz, 2002; Oliveira Fuster & González Morelo, 2007).

Power et al., (2014), detalla la importancia del consumo de FOS en pacientes con hipolactasia, ya que disminuiría la sintomatología asociada a la intolerancia a la lactosa; esta intolerancia, tiene origen genético o insuficiencia de las células de yeyuno (intestino delgado) o baja concentración de bacterias intestinales productoras de la enzima. Esta enzima, lactasa (β galacto-hidrolasa; EC 3.2.1.23) degrada la lactosa, (O- β -D-galactopiranosil-[1,4]- β -D-piranosido), disacárido constituido por los monosacáridos galactosa y glucosa unidos por un enlace β 1,4, este proceso es necesario para que puedan ser absorbidos en el intestino delgado los monosacáridos.

Cabe recordar que la lactosa se encuentra en la leche de los mamíferos y su concentración está inversamente relacionada con el contenido graso y proteico de la misma. La leche humana es la de mayor concentración en este azúcar, con aproximadamente 7g/100 mL. Una forma de disminuir la hipolactasia, es la suplementación de microorganismos que se emplean con más frecuencia como cultivos iniciadores pertenecientes al grupo de bacterias ácido-lácticas. En este sentido, el renovado interés sobre las propiedades de las leches fermentadas ha llevado a la inclusión de las bacterias intestinales *Bifidobacterium* en los cultivos iniciadores. Lo anterior es muy importante ya que, estos pacientes abandonan el consumo de lácteos,

alimentos ricos en vitamina D y Ca^{2+} que tienen un papel muy importante en la prevención de la osteoporosis (Molina, 2019).

El uso de simbióticos, donde se complementa, la metabolización de los prebióticos para favorecer el desarrollo/actividad de los probióticos, potenciando así sus propiedades saludables y generando un efecto sinérgico, proporciona a las cepas administradas mayores oportunidades para la colonización y supervivencia, al aumentar y prolongar sus efectos beneficiosos. Un caso importante fue estudiado por Valdovinos Díaz et al., (2017), quienes utilizaron un simbiótico, *Bifidobacterium longum* AW11 (5×10^9 UFC) y fructooligosacáridos de cadena corta (FOS cc. Actilight 2.5 g) como atenuante del estreñimiento y otros síntomas digestivos. En ese estudio se incluyen pacientes con síntomas digestivos de más de seis meses de evolución y sin enfermedad de base que explique esos síntomas. A todos estos pacientes se les administró un sobre diario del simbiótico durante 8 semanas. Los resultados mostraron que el número de evacuaciones semanales se incrementó casi al doble de veces, mejorando los síntomas producidos por el estreñimiento y la sensación global de bienestar en pacientes con síndrome de intestino irritable y estreñimiento funcional. Lindsay et al., (2006) reportaron un estudio de 10 pacientes con enfermedad de Crohn (enfermedad intestinal inflamatoria), quienes al suministrar FOS durante 3 semanas, obtuvieron una disminución significativa de los índices de severidad de la enfermedad y modificación de la función de las células dendríticas de la mucosa.

Kanauchi et al., (2002) realizaron ensayos suplementando 24g/día de inulina durante 3 semanas a 20 pacientes que cursaban con pouchitis crónica (inflamación no específica del reservorio ileal). Los resultados mostraron una disminución significativa de los datos endoscópicos e histológicos de inflamación de la mucosa, se observó un aumento de los niveles fecales de butirato y se redujo el número de *Bacteroides fragilis*. Furrie et al., (2005) estudiaron el empleo de simbióticos (*Bifidobacterium longum* + inulina enriquecida con FOS) y concluyeron que producen un efecto benéfico en las colitis ulcerosa leve-moderada.

Si bien, los datos clínicos y experimentales apoyarían la hipótesis de que los prebióticos como la inulina y los FOS pueden prevenir o mejorar la inflamación intestinal (Oliveira Fuster & González Morelo, 2007), aún son necesarios más estudios para comprobar totalmente los estudios.

Implicancia de los FOS en la absorción intestinal de minerales

La absorción de minerales se produce en el intestino delgado, mientras en el intestino grueso se generan ácidos grasos de cadena corta, derivados del proceso de fermentación, que influyen positivamente en la absorción de Ca^{2+} y Mg^{2+} (Tokunaga, 2004). Se especula que la microbiota del colon, al disminuir el pH del lumen, promueve la reducción química de los minerales, facilitando así su absorción; esto estimula a su vez la proliferación de células epiteliales con mayor expresión de proteínas asociadas al transporte de minerales, produciendo un aumento de las superficies de absorción y la eficiencia de las mismas (Yeung, et al., 2005). El consumo de fructooligosacáridos fue reportado que mejora la absorción de minerales tales como calcio, magnesio, hierro y zinc. El efecto fue notorio para ingestas entre 8-15g/día de fructanos, generándose, en el caso del calcio, aumentos en la absorción entre un 19-26%, pudiendo llegar a un 55% cuando la ingesta fue de 40g/día (Deis, 2001). Esto es importante, debido que el calcio es trascendental en la salud ósea, un evidente incremento del contenido de este mineral en el hueso, marca una prevención de enfermedades como la osteoporosis. (Scholz-Ahrens & Scherezzenmeir, 2002; Taper & Roberfroid, 2002; Coudray et al., 2002; Yap et al., 2005; Lavanda et al., 2011). Se asume que la presencia de cantidades elevadas de ácidos grasos de cadena corta provenientes de la fermentación, facilita la absorción de los minerales mencionados a través de su cotransporte activo/pasivo en presencia de agua y sodio a través del epitelio intestinal y gracias al bajo pH predominante (Scholz-Ahrens & Scherezzenmeir, 2002; Ducros et al., 2005). Los prebióticos, además, al atraer agua al lumen mejoran la solubilidad y grado de ionización de estos minerales, especialmente en condiciones de acidificación, favoreciendo su disponibilidad y

posterior absorción por el epitelio intestinal (Flint, 2006).

Uno de los AGCC, el ácido butírico, presenta un efecto trófico sobre los colonocitos aumentando la profundidad y densidad de las criptas colónicas, favoreciendo así la absorción paracelular/transcelular de minerales (Cummings & Macfarlane, 2002; Pérez-Conesa et al., 2006).

Martínez de Victoria (2016) reporta, que existen diversos estudios que relacionan la ingesta de Ca^{2+} en la dieta y presencia de enfermedades, como osteoporosis, cáncer, enfermedades cardiovasculares y obesidad. El incremento en la absorción aumentaría la disponibilidad del mineral que podría ser depositado en el hueso y junto al P, mejoraría la adquisición de masa ósea en los niños y se evitaría la pérdida en la edad adulta (Abrams et al., 2005; Macfarlane & Macfarlane, 2011). De manera que el consumo de fructanos, generan AGCC, los que disminuyen el pH, acidificando el contenido luminal y en consecuencia disolviendo los compuestos insolubles de Ca^{2+} y aumentando la concentración de Ca^{2+} soluble en el lumen (Calcio ionizado), elevando también su absorción por difusión pasiva (Manning & Gibson, 2004; Lobo et al., 2006).

Pérez-Conesa et al., (2007) indican que la reducción de las concentraciones de Ca^{2+} en la dieta exacerba la acidez del lumen intestinal, pudiendo perjudicar la mucosa. Este actúa como tampón sobre la acidificación causada por la fermentación bacteriana en el intestino grueso. De modo que, para que los efectos positivos de los fructanos en la absorción de Ca^{2+} , tengan lugar, se debe considerar la concentración del mismo en la dieta.

Sobre estas bases se estudió el efecto de una mezcla de GOS/FOS (oligosacáridos de galactosa/ fructooligosacáridos), actualmente utilizada en fórmulas lácteas, sobre la absorción intestinal y la retención ósea de Ca^{2+} , fósforo (P) y Mg^{2+} en un modelo experimental de ratas macho Wistar en crecimiento (~21 días de edad). Al comienzo de la experiencia, todos los grupos presentaron similar desarrollo de lactobacilos. Sin embargo, a partir de la primera semana y hasta finalizar la experiencia, los grupos que

consumieron la mezcla GOS/FOS aumentaron en forma significativa la cantidad de colonias de lactobacilos en comparación con los que recibieron dietas libres de prebióticos. El grupo alimentado con la mezcla GOS/FOS presentó un valor significativamente inferior en la excreción de Ca^{2+} , Mg^{2+} y P y valores significativamente superiores tanto de absorción aparente de Ca^{2+} , Mg^{2+} y P con respecto al control.

Bryk et al., (2013), reportaron que los grupos de animales que se alimentaron con la mezcla GOS/FOS presentaron valores significativamente altos de Ca^{2+} y P en fémur respecto de los grupos controles. Se sabe que la mayor absorción de Ca^{2+} , P y Mg^{2+} se produce en el intestino delgado pero, si estos minerales son mantenidos en solución, también pueden ser absorbidos a nivel de colon y ciego. Lavanda et al., (2011) demostraron un aumento en la absorción de Ca^{2+} , P y Mg^{2+} por el consumo de prebióticos en la dieta. El Mg^{2+} es un mineral fundamentalmente intracelular que actúa en distintas vías de señalización o como cofactor enzimático en la síntesis de proteínas y de nucleótidos. En hueso, su función radica en inhibir el crecimiento cristalino para mantener el tamaño adecuado de los cristales de hidroxiapatita que asegure el cumplimiento de las funciones biomecánicas. Es decir, que a pesar de haber mayor absorción intestinal de Mg^{2+} , el contenido del mineral a nivel óseo no aumentó significativamente. Sin embargo, se observó un aumento en las funciones biomecánicas del fémur, lo que indirectamente sugiere que su presencia contribuyó a que se produjera una adecuada mineralización del tejido (Bryk et al., 2013).

En la búsqueda de medidas de prevención de enfermedades agudas o crónicas en el tracto intestinal, se piensa en los prebióticos como una forma efectiva, saludable y relativamente económica para potenciar las defensas a nivel del tracto intestinal.

Referencias

Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM (2005) A combination of prebiotic short- and longchain inulin-type fructans enhances

Artículos

- calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr* 82:471-6.
- Ambalam P, Raman M, Purama RK, Doble M (2016) Probiotics, Prebiotics and Colorectal Cancer Prevention. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 30:119- 31.
- American Association of Cereal Chemists (2001) The definition of dietary fiber. *Cereals Food World* 46: 112-129.
- Bhatt AP, Redinbo MR, Bultman SJ (2017) The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA: A Cancer J. Clin.* 67:326-44.
- Bäumler AJ, Sperandio V (2016) Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature* 535:85-9.
- Biedrzycka E, Bielecka M (2004) Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. *Tren. Food Sc. & Technol.* 15: 170 - 175.
- Bindels LB, Delzeene NM, Cani PD, Walter J (2015) Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature rev. Gastroent. hepatol.* 12: 303-310.
- Boonma P, Spinler JK, Venable SF, Versalovic J, Tumwasorn S (2014) *Lactobacillus rhamnosus* L34 and *Lactobacillus casei* L39 suppress *Clostridium difficile*-induced IL-8 production by colonic epithelial cells. *BMC Microbiol.* 14:177.
- Bruggencate S (2004) Dietary non-digestible carbohydrates and the resistance to intestinal infections. Thesis. Wageningen University. The Netherlands
- Bryk G, Zeni Coronel M, Medina D, Pellegrini G, Pita Martín de Portela ML, Zeni SN (2013) Efecto de una mezcla de galactooligosacaridos (GOS) / fructooligosacaridos (FOS) sobre la absorción intestinal y retención ósea de calcio, fosforo y magnesio: Modelo experimental en ratas durante crecimiento normal. *Actual. Osteol.* 9: 245-256.
- Burns AJ, Rowland IR (2003) Prebioticos y probioticos en la prevención de cáncer de colon: mecanismos de acción y sus aplicaciones clínicas. *Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 26: 73-84.
- Butel MJ, Waligora Dupriet, AJ, Szylit O (2002) Oligofructose and experimental model of neonatal necrotizing enterocolitis. *British J. Nutr.* 87: S213-S219.
- Catala I, Butel MJ, Bensaada M, Popot F, Tessedre A C, Rimbault A, Szylit O (1999) Oligofructose contributes to the protective role of bifidobacteria in experimental necrotising enterocolitis in quails. *J. Medical Microbiol.* 48: 89-94.
- Castañeda Guilot C (2018) Actualización en prebióticos. *Rev. Cub. Pediat.* 90:648-663.
- Chacon-Villalobos A (2006) Revisión Bibliográfica: Perspectivas Agroindustriales Actuales de los Oligofructosacáridos (FOS)1 *Agr. Mesoam.* 17: 265-286. ISSN: 1021-7444.
- Chen G, Li C, Chen K (2016) Fructooligosaccharides a review on their mechanisms of action and effects. *Studies Nat. Products Chem.* 48:209-229.
- Clausen, MR y Mortensen, PB (1995) Kinetic studies on colonocyte metabolism of short chain fatty acids and glucose in ulcerative colitis. *British Soc. Gastroent.* 37: 684 - 689.
- Closa-Monasterolo R, Gispert-Llaurado M, Luque V, Ferre N, Rubio-Torrents C, ZaragozaJordana M (2013) Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial. *Clin. Nutr.* 32:918-27.
- Coudray C, Tresso J C, Gueux E, Rayssiguier Y (2002) Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *Eur. J. Nutr.* 42: 91-98.
- Cummings JH, Macfarlane GT (2002) Gastrointestinal effects of prebiotics. *British J. Nutr.* 87:145-51.
- Deis R (2001) Dietary Fiber: a new beginning? (<http://www.foodproductdesing.com/archive/2001/1201ap.html>)

Artículos

- Den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J.f Lipid Res.* 54:2325-40.
- Duca G, Nuñez C, Rubio MC (2009) Producción de inulinasa extracelular para la obtención de fructosa. *Acta Cient. Venezol.* 60: 36-40.
- Ducros V, Arnaud J, Tahiri M, Coudray C, Bornet F, Bouteloup C, Brouns F, Rayssiguier Y, Roussel A M (2005) Influence of short-chain fructo-oligosaccharides (scFOS) on absorption of Cu, Zn, and Se in healthy postmenopausal women. *J. Am. Coll. Nutr.* 24: 30-37.
- Fabbrocini G, Bertona M, Picazo Ó, Pareja-Galeano H, Monfrecola G, Emanuele E (2016) Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* SP1 normalises skin expression of genes implicated in insulin signalling and improves adult acne. *Benef. Microbes* 7:625-30.
- Flint HJ (2006) Prokaryote diversity in the human GI tract. In: Logan N, Lappin-Scott H, Oyston P (eds.). *Prokaryotic Diversity: Mechanisms and Significance.* Soc. Gen. Microbiol. Symp. 66, Warwick pp. 65-90 Cambridge: Cambridge University Press.
- Furrie E, Macfarlane S, Kennedy A, Cummings JH, Walsh S V, O'neil D A, Macfarlane G T (2005) Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum* /Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomized controlled pilot trial. *J. British Soc. Gastroent.* 54: 242-249.
- Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS (2016) How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 352:539-44
- Giacco R, Clemente G, Luongo D, Lasorella G, Fiume I, Brouns F, Bornet F, Patti L, Cipriano P, Rivellese A, Riccardi G (2004) Effects of short-chain fructo-oligosaccharides on glucose and lipid metabolism in mild hypercholesterolaemic individuals. *Clin. Nutr.* 23: 331-340.
- Gibson G R, Beaty E R, Wang X, Cummings J H (1995) Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroent.* 108: 975-982.
- Henryk S; Roberfroid M (2001) Nontoxic potentiation of cancer chemotherapy by dietary oligofructose or inulin. *Nutr. Cancer* 38:1-5.
- Hernández Hernández A, Coronel Rodríguez C, Monge Zamorano M, Quintana Herrera C (2015) Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Pediatr. Integral* 19:337-54.
- Hidaka H, Eida T, Tarizawa T (1986) Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and health. *Bifidobacteria. Microflora* 5:37-50.
- Kaplan H, Hutkins, R W (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Env. Microbiol.* 66: 2682-2684.
- Kanauchi O, Suga T, Tochihara M (2002) Treatment of ulcerative colitis by feeding with germinated barley foodstuff: first report of a multicenter open control trial. *J. Gastroent.* 37: 67-72.
- Lakshminarayanan B, Guinane CM, O'Connor PM, Coakley M, Hill C, Stanton C (2013) Isolation and characterization of bacteriocin-producing bacteria from the intestinal microbiota of elderly Irish subjects. *J. Appl. Microbiol.* 114:886-98.
- Lavanda I, Isay Saad SM, Lobo A, Colli C (2011) Prebióticos y su efecto en la biodisponibilidad del calcio Rev. Nutr.-brazilian J. Nutr. 24:333-4.
- Lindsay JO, Whelan K, Stagg AJ (2006) Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *J. Gastroent.* 55: 348.
- Liu F, Li P, Chen M, Luo Y, Prabhakar M, Zheng H (2017) Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase *Bifidobacterium* but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in healthy young population. *Sc. Rep.* 7:11789.

Artículos

- Lobo AR, Colli C, Filisetti TMCC (2006) Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr. Res.* 26:413-20.
- Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S (2008) Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J Appl. Microbiol.* 104:305-44.
- Macfarlane GT, Macfarlane S (2011) Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J. Clin. Gastroent.* 45: S120-7.
- Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GD, Hirschfield GM, Hold G (2016) The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *J. British Soc. Gastroent.* 65:330-9.
- Manning TS, Gibson GR. (2004) Prebiotic. *Best Practice & Res.: Clin. Gastroent.* 18:287-98.
- Manrique I, Párraga Y, Hermann M (2005) Jarabe de yacón: Principios y Procesamiento. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No. 8A. Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Fundación Erbacher, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú. 31 p. ISBN: 92-9060-249x.
- Martínez de Victoria E (2016) El calcio, esencial para la salud. *Nutr. Hosp.* 33: 26-31.
- Molina A (2019) Probióticos y su mecanismo de acción en alimentación animal. *Agronomía Mesoamericana*, 30 (2) (redalyc.org/orcid.org).
- Murphy O (2001) Non polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British J. Nutr.* 85: S47-S53.
- Ninnes K (1999) Inulin and oligofructose. What are they? *J. Nutr.* 129:402-406.
- Olveira Fuster G., Gonzalez-Molero I (2007) Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutr. Hosp.* 22:26-34.
- Ose R, Hirano K, Maeno S, Nakagawa J, Salminen S, Tochio T (2018) The ability of human intestinal anaerobes to metabolize different oligosaccharides: Novel means for microbiota modulation? *Anaerobe* 51:110-9.
- Pérez-Conesa D, López G, Abellán P, Ros G. (2006) Bioavailability of calcium, magnesium and phosphorus in rats fed probiotic, prebiotic and synbiotic powder follow-up infant formulas and their effect on physiological and nutritional parameters. *J.Sc. Food Agric.* 86:2327-36.
- Pérez-Conesa D, López G, Ros G (2007) Effects of probiotic, prebiotic and symbiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralization in rats. *J. Sc. Food Agric.* 87:1059-68.
- Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF (2014) Intestinal microbiota, diet and health. *British J. Nutr.* 111:387-402.
- Roberfroid M (2001) Prebiotics: preferential substrates for specific germs. *Am. J. Clinical Nutr.* 65:405-408.
- Rossi M, Corradini C, Amaretti A, Nicolini M, Pompei A, Zanoni S, Matteuzzi D (2005) Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Appl. Env. Microbiol.* 71: 6150 - 6158.
- Rubio Mc, Latina CF, Navarro AR (2012) Producción de fructooligosacáridos por invertasa de *Aspergillus niger* IB56: un prebiótico de importancia para la salud humana y animal. *Bol. Micol.* 27:18-23.
- Scholz-Ahrens KE, Scherezzenmeir J (2002) Inulin, oligofructose and mineral

Artículos

- metabolism experimental data and mechanism. *British J. Nutr.* 87: 179-1863.
- Szajewska H, Mrukowicz JZ (2002) Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double blind, placebo controlled trials. *J. Paediatric Gastroent. Nutr.* 33: S17-S25.
- Taper H S, Roberfroid MB (2002) Inulin/oligofructose and anticancer therapy. *British J. Nutr.* 87: S283-S286.
- Tokunaga T (2004) Novel physiological function of fructooligosaccharides. *Bio Factors* 21(1/4): 89-94.
- Thursby E, Juge N (2017) Introduction to the human gut microbiota. *Biochem. J.* 474:1823-36.
- Van Hoek M J, Merks RM (2012) Redox balance is key to explaining full vs. partial switching to low-yield metabolism. *BMC Systems Biol.* 6: 22
- Valdovinos-Díaz MA, Abreu, Abreu AT, Frati-Munari AC (2017) Experiencia clínica con un simbiótico (*Bifidobacterium longum* AW11- Fos cc. Actilight) en el alivio del estreñimiento y otros síntomas digestivos. *Medicina Int. México* 33:476-486.
- Viñes JJ, Ardanaz E, Arrazola A, Gaminde I (2003) Epidemiología poblacional de cáncer colorectal: revisión de la casualidad. *Sal. Pública y Ad. Sanitaria.* 26:79-97.
- Yap KW, Mohamed S, Yazid AM, Maznah I, Meyer DM (2005) Dose-response effects of inulin on the faecal short-chain fatty acids content and mineral absorption of formula-fed infants. *Nutr. Food Sc.* 35: 208-219.
- Yamelys García R, Boucourt NA, Nuñez O (2007) Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas con características probióticas. *Rev. Cubana de Cs Agríc.* 41: 263-266.
- Yeung C K, Glahn R P, Welch R M, Miller DD (2005) Prebiotics and iron bioavailability is there a connection? *J. Food Sc.* 70: 88-92.
- Zamora JD, Otárola IC, Brenes O (2005) La apoptosis y su relación con diversos nutrientes. *Rev. Chil. Nutr.* 23: 178-190.

Agentes de control biológico de la roya del café ¿Cómo funcionan y qué tan efectivos son?

Christian Hernández¹, Luis López^{3*}, Leonardo Sánchez²

¹Centro de Investigación en Sustentabilidad y Biotecnología Ambiental Montecristo (CISBAM), Mesa del barro sn. Jalcomulco, Veracruz, México.

²Centro de Investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

³Universidad Politécnica de Huatusco, Huatusco de Chicuellar, Veracruz, México.

mtro.luis.lopez244@uphuatusco.edu.mx

Resumen

La roya del café (*Hemileia vastatrix*) es el patógeno con mayor importancia económica en la producción de café arábigo. Diversos fungicidas químicos contribuyen a su control, sin embargo, plantaciones orgánicas y con prácticas agroecológicas requieren alternativas diferentes a las soluciones convencionales. Una de estas soluciones son los agentes de control biológico. Esta revisión, sintetiza el conocimiento disponible sobre la efectividad y modo de acción de biofungicidas a partir de bacterias, hongos y metabolitos naturales contra la roya del café. Se encontró que los agentes de control biológico poseen los siguientes modos de acción para proteger a los cafetos de *H. vastatrix*: i) inducción de resistencia local o sistémica, ii) competencia por nutrientes y/o espacio en tejidos foliares, iii) hiperparasitismo, iv) actividad antifúngica. Las efectividades de las cuatro categorías de biofungicidas pueden llegar a ser superiores al 80% en cuanto a la inhibición de germinación de esporas de *H. vastatrix* o la reducción de daño foliar. Sin embargo, a pesar de los resultados promisorios, la mayoría de los estudios se han realizado a escala laboratorio o piloto, por lo que se requiere incrementar esfuerzos para la realización de pruebas en campo.

Palabras clave: *Hemileia vastatrix*, biocontrol, biofungicidas, *Coffea arabica*, café orgánico, prácticas agroecológicas.

Abstract

Coffee rust (*Hemileia vastatrix*) is the most economically important pathogen in Arabica coffee production. Several chemical fungicides contribute to its control, however, organic plantations and agroecological practices require different alternatives to conventional solutions. One of these solutions is the use of biological control agents. This review synthesizes the available knowledge on the effectiveness and action mode of biofungicides from bacteria, fungi and natural metabolites against coffee rust. It was found that biological control agents have the following action modes to protect coffee trees from *H. vastatrix*: i) induction of local or systemic resistance, ii) competition for nutrients and/or space in leaf tissues, iii) hyperparasitism, iv) antifungal activity. The effectiveness of the four categories of biofungicides can be higher than 80% in terms of inhibiting *H. vastatrix* spore germination or reducing foliar damage. However, despite the promising results, most of the studies have been carried out at lab or pilot scale, which requires increased efforts to carry out field tests.

Key words: *Hemileia vastatrix*, biocontrol, biofungicides, *Coffea arabica*, organic coffee, agroecological practices.

Introducción

La roya del café es una enfermedad causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, considerada la más destructiva y la que ocasiona mayores pérdidas productivas y económicas para los cafeticultores (Carrión & Rico-Gray, 2002; Gómez-De La Cruz et al., 2018). Este hongo es endófito, infecta las hojas por los estomas y posteriormente se desarrolla dentro del tejido de la hoja; su efecto provoca la defoliación de los cafetos y la aparición de círculos anaranjados en las hojas (esporangios del hongo, Figura 1), lo que conlleva a bajas producciones de café e incluso la muerte de las plantas (Hernández-Martínez y Velázquez-Premio, 2016). Se estima que entre 2012 y 2016, la roya del café provocó la disminución de la producción nacional de café en México en hasta 50% (Escamilla, 2016).



Figura 1. Daño foliar ocasionado por la roya de café.

La crisis socioeconómica que ocasionó la roya del café en la última década entre los cafeticultores ha provocado la implementación de distintas estrategias para controlarla, donde destacan el desarrollo de nuevas variedades (e.g. Catimores y Sarchimores), el control con fungicidas químicos, manejo de variables agroecológicas y recientemente el control biológico (Hernández-Martínez & Velázquez-Premio, 2016). Si bien el desarrollo de variedades tolerantes a la roya es un paso importante para el establecimiento de parcelas con alta producción, algunos cafeticultores aun prefieren las variedades susceptibles a la roya por su alta calidad de taza, como la variedad Typica y la Bourbon (Escamilla, 2016), lo que causa la necesidad del control de esta

enfermedad en dichas variedades. Además, el crecimiento de mercados emergentes, como el orgánico, requiere de soluciones de control de plagas diferentes al control químico (Harman, 2000).

El control químico por medio de fungicidas preventivos como el sulfato de cobre, oxiclورو de cobre o el hidróxido de sodio, o sistémicos como los derivados de azoles han mostrado ser efectivos para el control de la roya. Sin embargo, su uso excesivo puede ocasionar efectos adversos, como toxicidad al suelo o a la vegetación por acumulación de cobre (Leep et al., 1984; Loland & Singh, 2004), afección a especies no objetivo o desarrollo de resistencia por parte del patógeno (Daivasikamani & Rajanaika, 2009).

Esta situación ha llevado a la investigación y desarrollo de productos con base biotecnológica, los cuales son inocuos para el ser humano y no presentan efectos ambientales severos (Retinassababady & Jeyalakshmi, 2014). Su modo de acción involucra el uso de microorganismos, como lo son bacterias y hongos, o metabolitos como enzimas y extractos vegetales que inhiben, suprimen o depredan al hongo causante de la roya del café (Herrera-Estrella & Chet, 2004).

Sin embargo, el uso de biofungicidas para el control de la roya del café en campo no se encuentra muy popularizado, dado el desconocimiento de sus diferentes modos de uso y efectividades. Además, el éxito del uso de biofungicidas está condicionado a *buenas prácticas* de aplicación y diseño del agente biofungicida, ya que además del efecto supresor, el biofungicida debe diseñarse de forma que pueda ser almacenado y transportado de manera viable, además de poseer la capacidad de sobrevivir en el ambiente donde se aplica (Herrera-Estrella & Chet, 2004).

Por lo tanto, el objetivo de la presente revisión es sintetizar el conocimiento adquirido a la fecha, sobre el modo de acción y efectividad de los biofungicidas probados contra la roya del café.

Biofungicidas basados en bacterias

Existen diversos grupos bacterianos que forman asociaciones benéficas con plantas, estas asociaciones pueden

coadyuvar a la fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes como el fósforo y a la protección contra patógenos (Babalola, 2010). Existen tres mecanismos generales por medio de los cuales las bacterias benéficas pueden brindar protección a las plantas contra patógenos, el primero es por medio de competencia por espacio o nutrientes, ya que muchas bacterias viven tanto dentro (endofíticas) como sobre (epifíticas) los tejidos de las plantas, y su presencia evita que los patógenos puedan germinar y/o desarrollarse. El segundo es por medio de la producción de metabolitos antimicrobianos, como enzimas hidrolíticas que pueden atacar las paredes celulares de hongos competidores. Y el tercero es induciendo resistencia sistémica a la planta (Figura 2; Herrera-Estrella & Chet, 2004; Ongena & Jacques, 2008).

Las bacterias que han sido seleccionadas para la formulación de biofungicidas con acción contra *H. vastatrix* pueden poseer alguno o todos los mencionados mecanismos de acción (Tabla 1); en general, las bacterias de los géneros *Bacillus* son las que presentan los mejores resultados para disminuir el daño por roya del café. Estas bacterias, producen enzimas

hidrolíticas que degradan los polisacáridos (e.g. quitina) que componen las paredes celulares de los hongos (Shiomi et al., 2006) y sintetizan lipopeptidos (e.g. iturina A, surfactinas) que son antagonistas contra virus, micoplasmas, otras bacterias, levaduras, hongos y nemátodos (Zerrouh et al., 2011). Además, potencializan el sistema inmune de la planta, aumentando con esto su resistencia a la colonización de sus tejidos por *H. vastatrix* (Daivasikamani & Rajanaika, 2009). Un ejemplo de este mecanismo es la inducción de la Resistencia Sistémica Inducida (ISR por sus siglas en inglés) ocasionada por las fengicinas y surfactinas producidas por diversas cepas de *Bacillus* (Nagórska et al., 2007; Ongena and Jacques, 2008; Kim et al., 2017).

Aunado a lo anterior, se ha determinado que diversos géneros bacterianos que son endófitos de las plantas de café son capaces de penetrar en diferentes tejidos de la planta y diseminarse sistemáticamente, colonizando de forma activa el apoplasto, conductos vasales y ocasionalmente los espacios intracelulares (Hallmann et al., 1997). La supresión de la enfermedad se da por antibiosis y

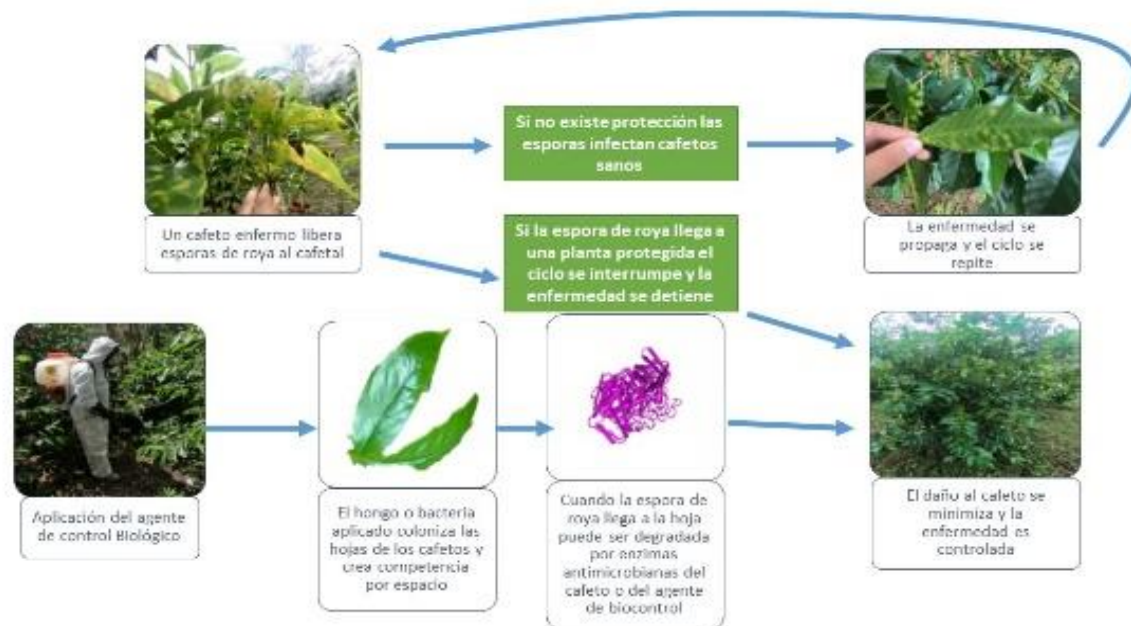


Figura 2. Proceso de protección de un agente de control biológico contra la roya del café. En el ciclo de arriba no existe aplicación de un agente de control biológico, la enfermedad ocasionada por *H. vastatrix* se propaga entre cafétos sanos. En el ciclo de abajo los cafétos están protegidos por un agente de control biológico, cuando esporas de *H. vastatrix* entran en contacto con hojas protegidas no las logran infectar y la enfermedad se interrumpe.

Artículos

Tabla 1. Principales bacterias usadas con efecto fungicida como control biológico en roya del café

Especie	Concentración de inóculo utilizado en pruebas (UFC)	Efectividad		Mecanismo de Biocontrol	Referencia
		Reducción de lesiones en hojas de Cafeto (%)	Reducción en germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i> (%)		
<i>Bacillus thuringiensis</i>	SD	76-90	SD	Induce resistencia sistémica en los cafetos y la producción de enzimas hidrolíticas (β -1,3- glucanasa y quitinasa) en los tejidos de las hojas.	Roveratti <i>et al.</i> , 1989; Guzzo y Martins, 1996
<i>Bacillus lentimorbus</i>	1×10^8	SD	50	Producción de enzimas hidrolíticas (β -1,3- glucanasa y quitinasa) y metabolitos fungicidas.	Shiomi <i>et al.</i> , 2006
<i>Bacillus cereus</i>	1×10^8	SD	50		Shiomi <i>et al.</i> , 2006
<i>Bacillus subtilis</i>	$1 - 4.3 \times 10^8$	87	100	Actividad antagonista, Induce resistencia sistémica en los cafetos, producción de metabolitos fungicidas	Bettiol y Varzea, 1992; Daivasikamani y Rajanaika, 2009
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		36	64		Tran <i>et al.</i> , 2007; Daivasikamani y Rajanaika, 2009
<i>Bacillus megaterium</i>	1×10^8	SD	28 a 13	Inducción de resistencia sistémica, colonización de sitios de infección.	Silva <i>et al.</i> , 2012
<i>Salmonella enterica</i>		74 *	SD		
<i>Pectobacterium carotovorum</i>		55 *	SD		
<i>Brevibacillus choshinensis</i>		SD	28 a 9		
<i>Microbacterium testaceum</i>		SD	28 a 10		
<i>Cedecea davisae</i>		43 *	SD		

SD Sin datos; * En Número de pústulas; UFC=Unidades Formadoras de Colonias

competencia por los nutrientes, además de que se induce una respuesta de resistencia por parte de la planta (M'Piga et al., 1997). Algunas de estas bacterias son *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus cereus*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pandorae pnomenusa*, *Kocuria kristinae*, *Cedecea sp* y *Acinetobacter calcoaceticus* (Shiomi et al., 2006).

La efectividad de los biofungicidas basados en bacterias, va del 50% al 90% (en control de la germinación de esporas patógenas y lesiones en tejido foliar) mientras sean aplicados previamente a la exposición a esporas de *H. vastatrix* (12-72 horas antes), si su aplicación es posterior, su efecto disminuye considerablemente (Tabla 1).

Para que se presenten los efectos benéficos, las bacterias necesitan colonizar el tejido de las hojas de los cafetos, lo que provoca un aumento en el sistema inmune de la planta, genera un ambiente competitivo por espacio y restricción de nutrientes (Silva et al., 2012). Todo esto inhibe posteriormente la germinación y desarrollo de esporas de *H. vastatrix*. Además, si la bacteria tiene la capacidad de producción de enzimas hidrolíticas o metabolitos fungicidas, erradicará las esporas de *H. vastatrix* que intenten colonizar los tejidos del cafeto (Silva et al., 2012).

La concentración del inóculo del biofungicida también es un factor importante para promover el buen desarrollo de las bacterias benéficas y proteger a los cafetos de

la infección por *H. vastatrix* (Haddad et al., 2009). En el caso de biofungicidas basados en bacterias, se han reportado como efectivos inóculos con una concentración de bacterias en el rango de $1-4 \times 10^8$ UFC (Tabla 1).

Las aplicaciones en campo son realizadas por medio de aspersiones foliares. De esta manera, el inóculo bacteriano entra en contacto con toda la superficie de la hoja. Es recomendable considerar las condiciones climatológicas antes de aplicar el inóculo bacteriano, evitando las horas de elevada radiación solar (debido a que puede ser nocivo para las bacterias; Muela et al., 2000) y eventos de lluvia intensa que pudiesen lavar el inóculo de las hojas antes de que las bacterias puedan colonizar los tejidos vegetales (Fajardo-Franco et al., 2020).

Kim y colaboradores (2002) reportaron que la bacteria *Bacillus lentimorbis* produce compuestos antifúngicos α y β glucósidas, los cuales tienen actividad inhibitoria contra *Botrytis cinérea*, además de que produce compuestos volátiles que inhiben el desarrollo de *Fusarium sambucinum* (Sadfi et al., 2001). Otros autores han demostrado que *Bacillus cerius* promueve el desarrollo de diferentes especies vegetales además de brindar protección contra *Fusarium sambucinum*, ya que produce diversas quitinasas que impiden el desarrollo de los hongos (Shiomi et al., 2006).

Biofungicidas basados en hongos

Los hongos tienen modos de acción similares a las bacterias, induciendo resistencia sistémica a las plantas y coadyuvando al vigor general de la planta (Herrera-Estrella & Chet, 2004). Pero también pueden actuar como micoparásitos o hiperparásitos, proceso mediante el cual, el micelio del agente de control biológico penetra diferentes estructuras del hongo patógeno y degrada parcialmente sus células, mediante la acción de enzimas líticas como quitinasas, glucanasas y proteasas (Herrera-Estrella & Chet, 2004; Viterbo et al., 2002).

El género de hongos más estudiado como agente de biocontrol es *Trichoderma*, el cual puede utilizarse tanto de manera foliar (e.g. para el control de la roya del café), así como para suprimir patógenos de la rizósfera. Esto se debe a que este género fúngico produce gran cantidad de metabolitos que pueden ser utilizados como agentes de biocontrol, como lo son trichodermamidas, viridinas, antraquinonas, pironas, estatinas, derivados de ergosterol, harziolactonas, por mencionar algunos (Reino et al., 2007). Sin embargo, al menos ocho géneros más han mostrado antagonismo contra *H. vastatrix*. Las efectividades de los hongos mostradas en la Tabla 2 son superiores al 80%, disminuyendo la afección por *H. vastatrix* en tejidos foliares de cafetos, así como en la producción de urediniosporas. No obstante, a pesar de los promisorios resultados reportados en estudios en laboratorio, pocos estudios han probado la efectividad de hongos como agentes de control de la roya de café en campo, y los que lo han hecho han encontrado resultados contradictorios (Jackson et al., 2012).

Lo anterior debido a que estos hongos son más sensibles que las bacterias para sobrevivir en ambientes adversos (Haddad et al., 2014) y presentan altas inhibiciones o muerte cuando son expuestos a radiaciones de luz UV-B (Galvão y Bettiol, 2014). Esto dificulta su aplicación en plantaciones con baja sombra, o sin ella.

Sin embargo, los hongos poseen características interesantes que les confieren importancia como agentes de biocontrol por medio de interacciones ecológicas. Por ejemplo, existe evidencia de que esporas de *Lecanicillium lecanii*, un hiperparásito de *H. vastatrix*, pueden permanecer latentes por periodos de un año en suelo, y ser transportadas hasta las hojas de los cafetos por hospederos como *Coccus viridis* (escama verde de café) y la hormiga *Azteca instabilis* (Jackson et al., 2012). Este tipo de interacciones se han reportado en agroecosistemas cafetaleros complejos, lo que asegura la sobrevivencia y el establecimiento de relaciones ecosistémicas entre diversas especies, que permiten el control natural de *H. vastatrix* (Vandermeer et al., 2009).

Artículos

Tabla 2. Principales Hongos usados con efecto fungicida como control biológico en roya del café.

Especie	Concentración de inóculo utilizado en pruebas (#esporas)	Efectividad		Mecanismo de Biocontrol	Referencia
		Reducción de lesiones en hojas de Cafeto (%)	Reducción en hojas de urediosporas de <i>H. vastatrix</i>		
<i>Lecanicillium</i> spp.	5 x 10 ⁶	SD	68% después de 120 h de inoculación	Hiperparasitismo	Galvão y Bettiol, 2014; Gómez-De la Cruz <i>et al.</i> , 2018.
<i>Simplicillium</i> spp.	5 x 10 ⁶	SD	89% hiperparasitadas después de 24 h de inoculación		
<i>Calcarisporium</i> sp.	5 x 10 ⁶	SD	51% hiperparasitadas después de 120 h de inoculación		
<i>Trichoderma</i> spp.	SD	SD	SD	Hiperparasitismo, producción de enzimas líticas (quitinasas y glucanasas), inducción de resistencia sistémica, aumenta el vigor de la planta.	Viterbo <i>et al.</i> , 2002; Harman, 2000.
<i>Fusarium</i> spp.		83-89	95-99% después de 40 días.	No especificado	Haddad <i>et al.</i> , 2014.
<i>Penicillium</i> spp.		80-92	90-98% después de 40 días.		
<i>Acremonium</i> sp.	1 x 10 ⁶	84	91% después de 40 días.		
<i>Cladosporium</i> sp.		89	96% después de 40 días.		
<i>Aspergillus</i> sp.		97	E liminación después de 40 días		

SD Sin dato

Biofungicidas basados en metabolitos naturales

A diferencia de los biofungicidas que utilizan como agente de control células bacterianas o fúngicas vivas, los biofungicidas basados en metabolitos naturales únicamente utilizan productos o componentes de dichas células, los cuales también pueden ser sintetizados artificialmente para su producción y aplicación. Además, la obtención de estos biofungicidas no se restringe a fuentes bacterianas o fúngicas, ellos pueden obtenerse de plantas, algas y animales (Moon *et al.*, 1992; Guzzo *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 2014), ya que el agente de control es un componente que no pierde su actividad biológica al ser extraído de su organismo productor. Esto facilita su almacenaje, transporte y aplicación, pero no genera el establecimiento de interacciones benéficas entre agente de control biológico y planta de café, que pudiesen ofrecer protección contra *H. vastatrix* durante mayor tiempo (Vandermeer *et al.*, 2009).

Actualmente, se han realizados estudios en los cuales se ha evaluado la efectividad de biofungicidas elaborados con *Azadirachta indica* (neem), *Melaleuca alternifolia* (árbol de té) y la combinación de *Bacillus subtilis* con *Azadirachta indica* y *Syzygium aromaticum* (clavo) en el control de la roya causada por *H. vastatrix* en dos variedades de cafeto, observando que, aunque no se logró erradicar la roya del cafeto, si hubo una disminución en el progreso de la enfermedad y la tasa de infección aparente (Fajardo-Franco *et al.*, 2020).

Los biofungicidas basado en metabolitos naturales probados contra *H. vastatrix* poseen dos modos generales de acción: la inducción de resistencia local o sistémica y la actividad antifúngica (Guzzo *et al.*, 1993; Silva-Castro *et al.*, 2018). El primero se refiere a la exposición de las plantas de café a ciertas moléculas que generan la activación de su sistema inmune, este efecto puede lograrse mediante la exposición a

polisacáridos de membrana y/o proteínas del agente patógeno, o de otras bacterias y hongos. Cuando el patógeno real ataca a la planta de café, ésta ya se ha protegido y la infección será menor, de manera similar a como actúa una vacuna en los seres humanos. Por ejemplo, se ha identificado que la enzima polifenoloxidasas está relacionada con mecanismos de defensa por parte de la planta, permitiéndole a las plantas de café desarrollar resistencia ante los ataques de *Hemileia vastatrix*, ya que se presenta un incremento en el potencial oxidativo en los tejidos vegetales que impide el desarrollo del hongo (Melo et al., 2006).

Por otro lado, los metabolitos con acción fungicida (e.g. terpenos, guaiacol) atacan físicamente al organismo patógeno, destruyendo alguno de sus componentes y con esto, disminuyen su capacidad de colonización o lo eliminan (Pereira et al., 2012). Los metabolitos fungicidas probados contra *H. vastatrix* se han obtenido de diversas fuentes, la mayoría vegetales (Tabla 3).

Sin embargo, existen muchos metabolitos naturales con actividad antifúngica que aún no han sido probados contra este hongo.

Además, los estudios que evalúan la efectividad fungicida de este tipo de productos se restringen en su mayoría a escala de laboratorio, aunque con efectividades muy promisorias en el control de la germinación de urediniosporas de *H. vastatrix* (Tabla 3).

Uno de los compuestos que se han probado en campo es el hidróxido de cobre, el cual tiene actividad antifúngica y funciona como un método novedoso en el control biológico de la roya del café (Arroyo-Esquivel et al., 2019).

Además, se ha identificado que la enzima polifenoloxidasas está relacionada con mecanismos de defensa por parte de la planta, permitiéndole a las plantas de café desarrollar resistencia ante los ataques de *Hemileia vastatrix*, ya que se presenta un incremento en el potencial oxidativo en los tejidos vegetales que impide el desarrollo del hongo (Melo et al., 2006).

Tabla 3. Metabolitos naturales con actividad fungicida contra la roya del café

Metabolito	Efectividad		Mecanismo de Biocontrol	Referencia
	Disminución en lesiones foliares (%)	Inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i>		
• Expolisacáridos de <i>Xanthomonas campestris</i> , e.g. β -mananos	80	SD	Inducción de resistencia sistémica, provocando una disminución de lesiones foliares cuando se aplica 72 h antes de la inoculación con <i>H. vastatrix</i> .	Guzzo et al., 1993
• Goma xantana	90	SD		
• Oligómeros de quitosano	75-100	99%	Actividad antifúngica, mediante de inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i> , así como reducción de daño foliar en cafetos si es aplicado 24 h antes de la exposición.	Silva-Castro et al., 2018
• Extractos etanólicos de propóleo	SD	54%	Actividad antifúngica, mediante de inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i>	Silva-Castro et al., 2018
• Extracto de <i>Allium sativum</i> .	SD	100%	Inhibición de la germinación de urediniosporas	Silva et al., 2014
• Extracto de <i>Vernonia polysphaera</i> .	SD	92%		
• Extracto o aceite esencial de <i>Cymbopogon nardus</i>	SD	98-100%	Inhibición de la germinación de urediniosporas, agentes antimicrobianos monoterpénicos, con dosis = 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$	Pereira et al., 2012; Silva et al., 2014
• Extracto o aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	SD	97-100%		
• Aceite esencial de <i>Cinnamomum verum</i>	SD	100 %		
• Aceite esencial de <i>Thymus</i> sp.	SD	100 %		
• Aceite esencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	SD	100 %	Inhibición de la germinación de urediniosporas, agentes antimicrobianos del grupo de los terpenos y guaiacol, con dosis = 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$	Pereira et al., 2012
• Ácidos carboxílicos (étil-formato, propiónico, octadecenoico, metil-acetato) de <i>Pichia membranifaciens</i>	SD	~10-50% menos severidad vs control	Desaceleración del proceso de infección en plantaciones de café.	Andrade et al., 2018

Conclusiones

Existe una amplia gama de microorganismos y metabolitos que presentan actividad antifúngica contra *H. vastatrix*, o que promueven resistencia sistémica a las plantas de café. La efectividad probada en laboratorio para el control o eliminación de este patógeno va del 50 al 100%; sin embargo, pocos son los estudios que han llevado a estos agentes de control biológico a pruebas en campo, aunque con buenos resultados.

Se requiere incrementar esfuerzos para generar evidencia científica del desempeño de estos agentes biológicos en plantaciones comerciales, para el control de *H. vastatrix*, mediante el diseño e implementación de prácticas agroecológicas de manejo, que fomenten la generación de interacciones ecológicas benéficas y que contribuyan a la protección de los cafetos en el mediano y largo plazo, por ejemplo, estudios de correlación y modelado de factores como lluvia, humedad, sombra, temperatura y viento con la presencia de la roya del café.

Finalmente, en términos económicos, estas estrategias de control de patógenos, además de poder resolver el bajo rendimiento en una producción en cafetal, también permitiría a los productores acceder a mercados orgánicos, altamente demandados en Europa y Estados Unidos, repercutiendo en las utilidades del productor.

Referencias

- Andrade RL, Rosales VG, García MG, Fernández SP, Álvarez GO, Narváez JM (2018) Effectiveness of carboxylic acids from *Pichia membranifaciens* against coffee rust. *Ciência e Agrotecnologia* 42(1):42-50.
- Arroyo-Esquivel J, Sanchez F, & Barboza LA (2019). Infection model for analyzing biological control of coffee rust using bacterial anti-fungal compounds. *Mathematical Biosciences*. doi:10.1016/j.mbs.2018.10.009
- Babaloba OO (2010) Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters* 32: 1559-1570.
- Bettiol W, Varzea VMP (1992) Controle biológico da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeiro com *Bacillus subtilis* em condições controladas. *Fitopatol. Bras.* 17(1): 91-95.
- Daivasikamani S and Rajanaika (2009) Biological control of coffee leaf rust pathogen, *Hemileia vastatrix* Berkeley and Broome using *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Biopesticides*. 2(1): 94-98.
- Escamilla E (2016) Las variedades de café en México ante el desafío de la roya del café. *Breves de Políticas Públicas* 4. Disponible en línea: http://pmcarbono.org/pmc/descargas/proyectos/redd/Breves_de_Políticas_Públicas_No.4-Variedades_de_cafe_en_Mexico.pdf
- Fajardo-Franco ML, Aguilar-Tlatelpa M (2020) Biofungicides evaluation in two coffee cultivars for *Hemileia vastatrix* control. *Evaluación de biofungicidas en dos variedades de café para el control de Hemileia vastatrix*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 38(2): DOI: <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2001-1>
- Galvão JAH, Bettiol W (2014) Effects of UV-B radiation on *Lecanicillium* spp., biological control agents of the coffee leaf rust pathogen. *Tropical Plant Pathology* 39(5): 392-400.
- Gómez-De La Cruz I, Pérez-Portilla E, Escamilla-Prado E (2018) Selection *in vitro* of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*). *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 172-183.
- Guzzo SD, Bach EE, Martins EMF, Moraes WBC (1993) Crude exopolysaccharides (EPS) from *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. *J. Phytopathology* 139: 119-128.
- Guzzo SD, Martins EMF (1996) Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. *J. Phytopathology* 144: 449-454.

- Haddad F, Maffia LA, Mizubuti ESG, Teixeira H (2009) Biological control of coffee rust by antagonistic bacteria under field conditions in Brazil. *Biological Control* 49:114-119. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.02.004>
- Haddad F, Saraiva RM, Mizubuti ESG, Romeiro RS, Maffia LA (2014) Isolation and selection of *Hemileia vastatrix* antagonist. *Eur J Plant Pathol* 139: 763-772.
- Harman GE (2000) Myths and dogmas of biocontrol, changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84(4): 373-393.
- Hernández-Martínez G, Velázquez-Premio T (2016) Análisis integral sobre la roya del café y su control. *RINDERESU* 1(1): 92-99.
- Herrera-Estrella A, Chet I (2004) The biological control agent *Trichoderma*—from fundamentals to applications. En: Arora DK, editor. *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications*. New York: Marcel Dekker pp. 147–156.
- Jackson D, Skillman J, Vandermeer J (2012) Indirect biological control of the coffee leaf rust, *Hemileia vastatrix*, by the entomogenous fungus *Lecanicillium lecanii* in a complex coffee agroecosystem. *Biological Control* 61: 89-97.
- Kim KJA, Yang YJ, Kim J (2002) Production of alpha-glucosidase inhibitor by beta-glucosidase inhibitor producing *Bacillus lentimorbus* B-6. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. v.12, p.895-900.
- Lepp NW, Dickinson NM, Ormand KL (1984) Distribution of fungicide-derived copper in soils, litter and vegetation of different aged stands of coffee (*Coffea arabica* L.) in Kenya. *Plant and Soil* 77(2-3): 263-270.
- Melo G, Massao M, Mazzafera P (2006) and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust, *Phytochemistry*. 67 (3) 277-285,
- Moon SS, Chen JL, Moore RE, Patterson GML (1992) Calphycin, a fungicidal cyclic decapeptide from the terrestrial blue-green alga *Calothrix fusca*. *J. Org. Chem.* 57(4): 1097-1103.
- Muela A, García-Bringas JM, Arana I, Barcina I (2000) The effect of simulated solar radiation on *Escherichia coli*: The relative roles of UV-B, UV-A, and photosynthetically active radiation. *Microbial Ecology* 39, 65-71.
- Nagórska K, Bikowski M, Obuchowski M (2007). Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochem. Pol.*54, 495–508.
- Loland JO, Singh BR (2004) Cooper contamination of soil and vegetation in coffee orchards after long-term use of Cu fungicides. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69(3): 203-211.
- Ongena M, Jacques P (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.*16, 115–125. doi: 10.1016/j.tim.2007.12.009.
- Pereira RB, Lucas GC, Perina FJ, Alves E (2012) Essential oils for rust control on coffee plants. *Ciênc. agrotec. Lavras* 36(1): 16-24.
- Reino JL, Guerrero RF, Hernández-Galán R. et al. (2018) Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem Rev* 7, 89–123 <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9032-2>.
- Rettinassababady C, Jeyalakshmi C (2014) Bio-fungicides: the best alternative for sustainable food security and ecosystem. En: Kharwar R., Upadhyay R., Dubey N., Raghuvanshi R. (eds) *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. Springer, New Delhi.
- Sadfi N, Cherif M, Fliss I, Boudabbous A, Antoun H (2001) Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers. *Journal of Plant Pathology*. 83, p.101-118.
- Shiomi HF, Alves Silva HS, Soares de Melo I, Nunes FV, Bettiol W (2006) Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 63(1): 32-39.

Artículos

- Silva JL, Souza PE, Monteiro FP, Freitas MLO, Silva Júnior MB, Belan LL (2014) Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. *Rev. Bras. Plantas med.* 16(3): 539-544.
- Silva-Castro I, Barreto RW, Rodríguez MCH, Matei PM, Martín-Gil J (2018) Control of coffee leaf rust by chitosan oligomers and propolis. *Agriculture for life, life for agriculture, Conference Proceedings* 1(1): 311-315.
- Silva HSA, Tozzi JPL, Terrasan CRF, Bettiol W (2012) Endophytic microorganisms from coffee tissues as plant growth promoters and biocontrol agents of coffee leaf rust. *Biological Control* 63: 62-67.
- Tran H, Ficke A, Asiimwe T, Hofte M, Raijmakers J (2007) Role of the Cyclic Lipopeptide Massetolidea in Biological Control of *Phytophthora infestans* and in Colonization of Tomato Plants by *Pseudomonas fluorescens*. *New Phytologist*. 175(4):731-42
- Vandermeer , Perfecto I, Liere H (2009) Evidence of hyperparasitism of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) by the entomogenous fungus, *Lecanicillium lecanii*, through a complex ecological web. *Plant Pathology* 58: 636-641.
- Viterbo A, Rmou O, Chernin L, Chet I (2002) Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* sp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 549-556.

Bioadhesivos: La transición hacia los compuestos bio-basados

Gustavo Zamudio^{1*}, Guillermo Gosset², Andrea Sabido-Ramos³,

¹Licenciatura en Ingeniería Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Av. Vasco de Quiroga 4871, Santa Fe Cuajimalpa, 05348 Ciudad de México, CDMX

²Instituto de Biotecnología. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos

³Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Departamento de Procesos y Tecnología. Av. Vasco de Quiroga 4871, Santa Fe Cuajimalpa, 05348 Ciudad de México, CDMX

asabido@correo.cua.uam.mx

Resumen.

El desarrollo y descubrimiento de nuevas biomoléculas con propiedades funcionales como reemplazo para aquellas producidas a partir de compuestos fósiles ha causado un gran interés en los últimos años. Esto debido a las implicaciones y regulaciones ambientales que día a día son más estrictas y al cambio de paradigma que se busca hacia un desarrollo más sustentable para las generaciones subsecuentes. En la industria de los bioadhesivos se ha tenido un crecimiento importante gracias al descubrimiento de nuevas moléculas biológicas con propiedades adhesivas que pueden ser utilizadas en sistemas biológicos gracias a las propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad que éstas presentan. También se ha logrado funcionalizar materiales considerados como residuos provenientes de distintas industrias para desarrollar su uso como potenciales bioadhesivos. Por su parte, el uso de herramientas moleculares y técnicas de ingeniería genética han permitido producir algunas proteínas con propiedades adhesivas de manera heteróloga en microorganismos como *Escherichia coli* con el objetivo de estudiar, caracterizar, y potencialmente producir bioadhesivos basados en proteínas adhesivas provenientes de animales como los percebes y moluscos.

Palabras clave: Bioadhesivos, Proteínas recombinantes, Ingeniería genética, Moluscos, Percebes.

Abstract

The development and discovery of new functional biomolecules as a replacement for those produced from fossil compounds has gained interest over the last few years. This is related to the increase on strict environmental regulations and to the new paradigm related to more sustainable developments for the new generations. The bioadhesives industry has become larger with the discovery of new natural adhesive molecules that can be applied in biological systems as result of their biocompatibility and biodegradability properties. Also, some materials considered as non-desired byproducts in many industries have been functionalized to improve their potential as bioadhesives. Otherwise, the use of molecular tools and genetic engineering techniques has allowed scientist to produce adhesive proteins from animals like mussels and barnacles in genetically modified microorganisms such as *Escherichia coli*, with the objective of characterizing, studying and applying them as potential bioadhesives.

Key words: Bioadhesives, Recombinant proteins, Genetic engineering, Mussels, Barnacles.

Introducción

Los adhesivos y sus implicaciones ambientales.

Producción y propiedades

Los adhesivos convencionales como el acetato de polivinilo, poliuretano, resinas de fenol-formaldehído (PF), urea-formaldehído (UF), melamina-formaldehído (MF) entre otros, son sintetizados por procesos químicos que están basados en compuestos tóxicos como el di-isocianato de difenilmetano (MDI), di-isocianato de tolueno (TDI), formaldehído, fenol, urea, melamina y algunos compuestos orgánicos volátiles (VOCs) que ofrecen un alto costo-beneficio para la industria debido a las propiedades mecánicas, estabilidad térmica, rendimientos de enlace y resistencia al agua, comparadas con otros tipos de adhesivos (Jivkov, 2013). Estas propiedades son de suma importancia a la hora de desarrollar y evaluar la viabilidad que tiene un adhesivo bajo distintas circunstancias y depende del objetivo final del mismo, es decir, el sitio en el cual será aplicado.

Problemática y regulaciones.

Las formulaciones convencionales de adhesivos basados en compuestos como el formaldehído son un claro ejemplo de estos compuestos tóxicos considerados como carcinogénicos (Ferdosian et al., 2017), pues existe evidencia del desarrollo de cáncer de nasofaringe, nasal y leucemia debido a largas exposiciones a este aldehído (IARC, 2006).

Esta evidencia ha causado una gran preocupación relacionada con el uso de estos compuestos en espacios cerrados, particularmente por vapores desprendidos de los adhesivos cuyo mercado es el uso doméstico.

Durante los últimos años, las regulaciones ambientales han sido cada vez más estrictas con respecto a la producción de compuestos basados en fuentes fósiles y a las emisiones que generan estas industrias. Es por esto que ha surgido un gran interés en los adhesivos de origen biológico (bioadhesivos) como reemplazo a los provenientes de fuentes fósiles.

Mercado.

El mercado de los adhesivos se ha mantenido en crecimiento durante las últimas décadas debido a sus distintas aplicaciones. Por ejemplo, la producción europea de madera contrachapada (plywood), utilizada para la construcción de viviendas y edificaciones, la cual utiliza adhesivos basados en compuestos tóxicos durante la producción de las láminas finales, tuvo un crecimiento del 5.3 % tan solo en el año 2016, produciendo poco menos de 4.9 millones de m³ (Antov et al., 2020). Se espera que para el año 2025 el mercado global de adhesivos alcance los 82.4 billones de dólares, teniendo aplicaciones en múltiples industrias como son la construcción, la producción de automóviles, empaquetado y ensamblado, entre otros. Durante los últimos años se ha observado un incremento importante en la investigación y desarrollo de bioadhesivos relacionada con las nuevas políticas ambientales que prometen un crecimiento en la demanda de este tipo de adhesivos en un futuro cercano (Grandviewresearch, 2019).

Los bioadhesivos

¿Qué son los bioadhesivos?

Los bioadhesivos son aquellos polímeros de origen biológico que presentan propiedades de adhesión y cohesión bajo ciertas condiciones de temperatura, humedad, y superficies. Según la European Biomass Industry Association, un producto "bio-basado" es aquel que está compuesto en su totalidad o parcialmente por materiales de origen biológico, excluyendo aquellos embebidos en formaciones geológicas o fosilizados.

Durante los últimos años, el desarrollo de bioadhesivos o adhesivos bio-basados se ha incrementado de manera considerable de tal modo que se han explorado distintos materiales como la lignina, almidón, proteínas de origen vegetal, taninos, aceites vegetales, proteínas de moluscos (Hwang et al., 2004) y percebes (Urushida et al., 2007), entre otros (Ferdosian et al., 2017), con la finalidad de obtener sustancias capaces de igualar las propiedades mecánicas de estabilidad

térmica, rendimientos de enlace (resistencia y tipos de enlaces químicos entre el adhesivo y la superficie) y resistencia al agua, que ofrecen los adhesivos tradicionales. Ahora bien, existen productos cuya formulación está basada principalmente en compuestos químicos y son considerados como “bioadhesivos” debido a su implementación en el área médica y farmacéutica, sin embargo, de acuerdo a lo mencionado arriba, no se trata de materiales con un origen biológico.

Los adhesivos utilizados en el ámbito médico pueden dividirse en dos categorías; internos y externos, los cuales deben cumplir con ciertas características para poder ser aplicados tanto en la superficie de la piel, como en el interior del cuerpo humano.

Bioadhesivos internos.

Este tipo de bioadhesivos deben cumplir con al menos dos características indispensables: deben ser solubles y capaces de polimerizar en condiciones acuosas, esto debido a las condiciones internas del cuerpo humano (Zhu et al., 2018). Sin embargo, el rendimiento de adhesión, el cual se define como la suma de las fuerzas de adhesión y cohesión, es uno de los parámetros más importantes a la hora de diseñar un adhesivo. Existen estudios que buscan encontrar compuestos químicos que, dependiendo de sus grupos funcionales, se pueda encontrar un balance entre estas dos fuerzas (Liu et al., 2017).

Otro aspecto importante a considerar es el grado de penetración del bioadhesivo en la superficie del tejido, ya que, a mayor área de contacto entre estos dos componentes, mejor será la adhesión (Florence et al., 2014).

Además de esto, existen otros factores a considerar como la toxicidad, que se define como el grado en el cual una sustancia puede causar daño en un organismo en sus distintos niveles celulares de organización (citotoxicidad y hepatotoxicidad) (Strang et al., 2018), biodegradabilidad, en la cual el material debe ser degradado vía hidrólisis enzimática a partir de la tercer semana después de la operación, con esto se busca evitar cirugías

adicionales para retirar puntos y suturas (Zhang et al., 2013), y propiedades mecánicas y físicas como buena fluidez, que facilita la aplicación y aumenta el contacto entre las superficies (Mehdizadeh et al., 2013), flexibilidad similar a los tejidos en los cuales se va a aplicar (elasticidad), entre otros (Zhu et al., 2017).

Bioadhesivos externos.

Los bioadhesivos externos son utilizados para tratamiento de heridas, trasplantes de piel y cirugías cosméticas (Zhu et al., 2018). Existen compuestos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) basados en cianoacrilatos que aún presentan ciertas desventajas como el nivel de toxicidad relacionado con el formaldehído que es producido al hidrolizar estas moléculas. Además de la toxicidad, se ha demostrado que algunos de los productos de esta hidrólisis pueden ser carcinogénicos, causar necrosis tisular, entre otros (Lee et al., 2013, Lee et al., 2015).

Adhesivos actuales en el mercado

Actualmente, se encuentran a la venta bioadhesivos aprobados por la FDA principalmente en Estados Unidos que pueden ser adquiridos en establecimientos especializados. Como se comentó previamente, algunos de estos bioadhesivos presentan ciertas desventajas ya que pueden causar daños a la salud a largo plazo. En la tabla 1 se encuentra una recopilación de los bioadhesivos presentes en el mercado, aplicados principalmente en la industria médica, los cuales muestran ventajas como una rápida polimerización, facilidad de uso y precios relativamente bajos.

Aún habiendo sido aprobados para su comercialización, estos bioadhesivos exhiben muchas desventajas, entre las cuales destaca la polimerización exotérmica; que puede causar daños en el tejido que se aplica por el calor generado, procesos de degradación prolongados que están acompañados de la liberación de compuestos potencialmente tóxicos, reacciones alérgicas, entre otras (Mehdizadeh et al., 2013).

Artículos

Tabla 1. Bioadhesivos disponibles en el mercado.

Bioadhesivos	Compuesto químico	Nombre comercial	Aplicaciones	Farmacéutica	Referencia
Cianoacrilato	2-octil cianoacrilato	Dermabond	-Bordes de incisiones quirúrgicas	Ethicon Inc. (Johnson & Johnson Co).	Mizrahi et al., 2011 Shalaby et al., 2003 Ryan et al., 2004
			-Complemento para suturas		Leggat et al., 2004
			-Cierre de incisiones cutáneas simples	Covidien Inc.	
	n-butil-2-cianoacrilato	Indermil	-Barrera microbiana	B. Braun	
		Histoacryl			
Albúmina y glutaraldehído	Albúmina de suero bovino (BSA) y 10 % de glutaraldehído	BioGlue	-Complemento para suturas y grapas	CryoLife Inc.	Otani et al., 1998 Nakayama et al., 1995
Fibrina	Fibrinógeno y trombina	Tisseel	-Complemento de cirugías complejas	Baxter Inc.	Quinn et al., 2005 Brennan, 1991 Sierra, 1993 Laitakari et al., 1989
			-Complemento para el cierre de colostomía	Ethicon Inc. (Johnson & Johnson Co).	Gauthier et al., 1989 Albes et al., 1993
		Cryoseal system	-Complemento de curación en superficie del hígado	Thermogénesis Corp.	

Fuentes naturales de bioadhesivos.

La gran mayoría de los bioadhesivos comerciales podrían ser mejorados, e incluso reemplazados por nuevos productos biotecnológicos bio-basados aprovechando distintos materiales que provengan de fuentes renovables y adhesivos naturales como aquellos excretados por ciertos animales. Es por esto que diferentes grupos de investigación han comenzado a probar nuevas propuestas biotecnológicas con la finalidad de mejorar y potencialmente reemplazar los productos adhesivos que actualmente se comercializan en el mercado.

Lignina.

La lignina representa uno de los polímeros naturales más abundantes en el planeta, pues forma parte de la estructura celular de plantas, algunos insectos y algas, estando presente en la pared de las células que constituyen a dichos organismos. Por su parte, la gran mayoría de los residuos agroindustriales contiene una cantidad importante de lignina, de la

cual, aproximadamente solo el 10 % es aprovechada (Gosselink et al., 2002). Particularmente, existe un gran interés en mejorar los procesos de fermentación de estos residuos lignocelulósicos para poder aprovecharlos como fuente de energía en distintos bioprocesos para la producción de bioetanol, y otros compuestos generados en las biorrefinerías (Ponnusamy et al., 2019, Anwar et al., 2014).

Este polímero ha sido considerado como un potencial reemplazo de ciertos compuestos que constituyen los adhesivos tradicionales (particularmente aquellos diseñados para uso en madera) por sus propiedades físico químicas, pues presenta una alta hidrofobicidad la cual está relacionada con su estructura fenólica, y su baja polidispersidad (Antov et al., 2020).

Algunos de los estudios realizados en este campo se enfocan en reemplazar el uso del fenol por lignina, además de combinar este polímero con ciertas resinas para incrementar sus propiedades adhesivas (Pizzi, 2016). Los resultados de estos experimentos han arrojado resultados interesantes, pues en uno de ellos se

obtuvo un adhesivo comparable al comercial, pero sustituyendo hasta el 50 % de fenol, lo cual representa un beneficio económico y ambiental considerable (Akhtar, 2011). Por su parte, Navarrete et al. (2012) lograron obtener un bioadhesivo derivado de la mezcla entre lignina y taninos sin la necesidad de incorporar compuestos tóxicos, este bioadhesivo fue diseñado con la finalidad de ser aplicado en paneles fabricados con madera y la composición final del mismo alcanzó un 94 % de materiales naturales.

Almidón.

Al igual que la lignina, el almidón es uno de los polímeros naturales más prometedores para ser utilizado como reemplazo de ciertos polímeros sintéticos debido a su abundancia, renovabilidad, y bajo precio. Este polímero actúa como una fuente de reserva en una cantidad importante de vegetales, estando presente en el trigo, maíz, papa, cebada, avena, centeno, sorgo, entre otros.

El almidón está compuesto por una mezcla de dos polímeros; amilosa y amilopectina, los cuales a su vez están formados por moléculas de glucosa unidas

entre sí, por enlaces tipo glucosídico α -1,4 en el caso de la amilosa y α -1,4 y α -1,6 en la amilopectina. La proporción de estos dos polímeros varía dependiendo de su origen, y la propiedad adhesiva del almidón se basa en los enlaces tipo puente de hidrógeno que puede establecer con otras moléculas. Esto último representa un reto en el desarrollo de bioadhesivos basados en almidón, pues su gran afinidad por formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua provoca una baja resistencia del bioadhesivo en ambientes húmedos (Qiao et al., 2016).

En este aspecto, muchas investigaciones se han enfocado en modificar los radicales del almidón con distintos compuestos para incrementar la resistencia a la humedad. En el año 2016, un grupo de investigadores modificaron los grupos hidroxilo del almidón proveniente de maíz por medio de una reacción de esterificación para así incrementar la hidrofobicidad del polímero, obteniéndose un adhesivo más estable para uso en maderas y resinas (Qiao et al., 2016).

En la tabla 2 se muestra una recopilación e investigaciones relacionadas con el desarrollo de bioadhesivos a partir de este tipo de compuestos.

Tabla 2. Producción de bioadhesivos a partir de distintas fuentes naturales.

Fuente	Objetivo	Innovación/Tecnología	Referencia
Lignina	Reducción de costos en la producción de fibropanel de densidad media (MDF)	Reemplazo de fenol por lignosulfonatos	Akhtar et al., 2011
	Producción de resina fenol-formaldehído	Hidrólisis enzimática	Qiao et al., 2015 Jin et al., 2010
	Adhesivo para madera libre de formaldehído	Lignina y polietilenimina como reemplazo a formaldehído	Geng et al., 2006
	Evaluación de propiedades físicas y mecánicas en bioadhesivo para fibropanel de densidad media (MDF)	Mezcla de lignosulfonato de amonio y polietilenimina	Yuan et al., 2013
	Adhesivo bio-basado sin resinas sintéticas	Lignina de bajo peso molecular y taninos	Navarrete et al., 2012
Almidón	Esterificación de grupos hidroxilo para incrementar las propiedades hidrofóbicas	Almidón de maíz en adición con anhídrido maleico	Qiao et al., 2016
		Mezcla de almidón, isocianato y agentes auxiliares	Zhibang et al., 2015
	Resina epóxica bio-basada	Acetato de polivinilo y almidón	Nie et al., 2013
	Adhesivos para madera sin formaldehído	Proteínas, taninos y almidón	Anderson et al., 2013 Vilas et al., 2017 Moubarik et al., 2009

Moluscos.

Los moluscos, al igual que otras especies marinas, tienen la capacidad de adherirse a distintas superficies como el vidrio, teflón, metal y plástico, y presentan características de interés biotecnológico como son alta biodegradabilidad, enlaces flexibles y resistentes al agua, además de no causar respuesta inmune en el cuerpo humano (Hwang et al., 2004). Estas características representan las propiedades ideales para la formulación de un bioadhesivo de uso médico.

El mecanismo de adhesión de los moluscos consta de una serie de "hilos", también llamados "biso" los cuales unen al molusco con la superficie (figura 1). Estos hilos a su vez se componen de entre 25 y 30 proteínas, de entre las cuales solo 8 de ellas interactúan directamente con la superficie (Lee et al., 2011). Estas proteínas son conocidas como "mussel foot proteins" (mfps) y están estrechamente ligadas a la molécula dihidroxifenilalanina (DOPA), la

cual está implicada en la ruta metabólica de moléculas como la dopamina, siendo el precursor directo de esta última.

Existen diversos estudios relacionados con la caracterización y expresión de mfps de manera recombinante con la finalidad de comprender mejor el mecanismo por el cual este tipo de moléculas le confieren la propiedad de adhesión a los moluscos y para la producción de un potencial bioadhesivo de uso comercial (Qin et al., 2014, Hwang et al., 2004). Sin embargo, muchas de las limitaciones que se han encontrado se relacionan con las modificaciones post-traduccionales que requieren algunas de las mfps y la hidroxilación de L-Tirosina para la formación de DOPA (figura 2), ambas necesarias para la "activación" de este mecanismo de adhesión, pues esta molécula constituye un porcentaje importante de las mfps (Deming, 1999). Este valor depende de la proteína, y va desde valores de aproximadamente 13 % mol para la mfp-1 y hasta 30 % mol en las mfp-5 (Waite et al., 2001, Jo et al., 2018).

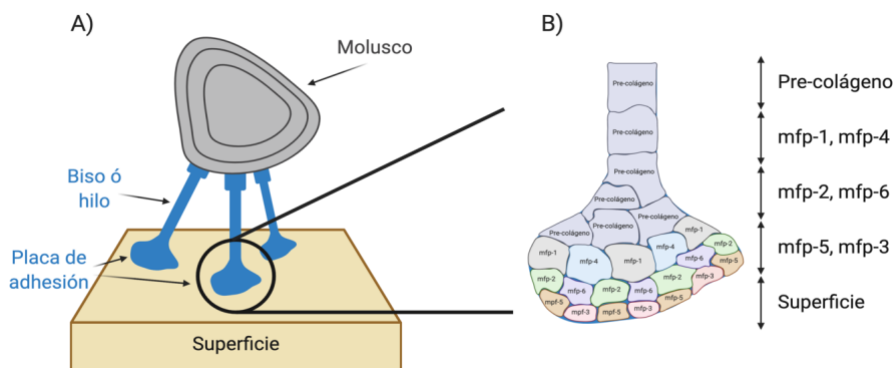


Figura 1. Ilustración esquemática de la adhesión en moluscos. A) Representación de un molusco adherido a una superficie por medio de hilos o biso, B) Distribución de las "mussel foot proteins" (mfp) a través del hilo y la placa de adhesión que se encuentra adherida a la superficie.

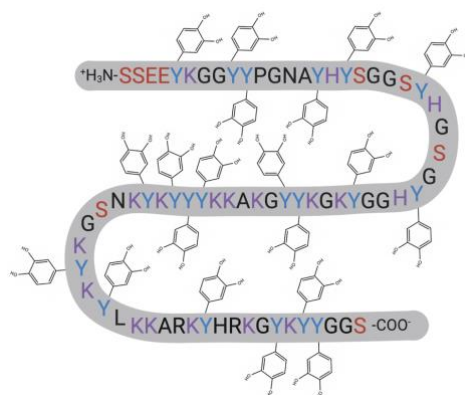


Figura 2. Secuencia de la mfp-5 del molusco *Mytilus edulis*, en donde se muestran los residuos de DOPA (Y-metil catecol), Lis (K), Ser (S) y Gly (G).

Percebes.

Los percebes son crustáceos que habitan en el fondo marino y son considerados como una plaga ya que crecen en todo tipo de superficies como barcos, rocas, basura y hasta en seres vivos como tortugas y ballenas. Durante su etapa de larva o mejor conocido como “cypris larva”, deben elegir un sitio en el cual permanecerán unidos el resto de su vida. Durante la etapa “cypris larva” se excreta un conjunto de proteínas denominadas “Cemento temporal” las cuales les permiten explorar el medio y adherirse de manera temporal a éste. Durante esta exploración se dejan “huellas” de adhesivo temporal en las superficies que el percebe va explorando (Khandeparker et al., 2007). Una vez elegido un sitio para permanecer el resto de su vida, se excretan las proteínas adhesivas permanentes (cemento permanente). Estas proteínas permiten la adherencia a una gran variedad de materiales tanto orgánicos como inorgánicos. Los percebes utilizan como criterio la textura (Kamino et al., 2000), el color de la superficie (Zhang et al., 2013), la presencia de otros percebes, entre otros factores para elegir el lugar al cual se unirán permanentemente.

Las glándulas productoras de “cemento” se reposicionan en el perímetro de la base del percebe adulto, ya que durante la fase “cypris larva” se encuentran detrás de los ojos (Naves et al., 2008).

La composición del “cemento” se basa principalmente en dos proteínas hidrofóbicas e insolubles que tienen tamaños de 52 y 100 kDa (Kamino et al., 2000). Sin embargo, existen distintas proteínas en menor cantidad que muestran una mayor solubilidad y se cree que están relacionadas directamente con la interacción adhesiva entre el percebe y la superficie (figura 3). Estas proteínas son relevantes para el diseño de nuevos bioadhesivos ya que muy pocos adhesivos tienen la capacidad de actuar eficientemente sobre superficies húmedas, limitando su utilidad a ciertas aplicaciones. Dichas proteínas muestran tamaños de 19, 20, 36, 38 y 68 kDa (Khandeparker et al., 2002). A cada una de estas proteínas se les ha relacionado con una función en específico dentro del conjunto de proteínas denominadas “cemento proteico”.

Proteínas adhesivas recombinantes.

El caso de los organismos genéticamente modificados (OGMs) para su uso potencial como productores de adhesivos naturales.

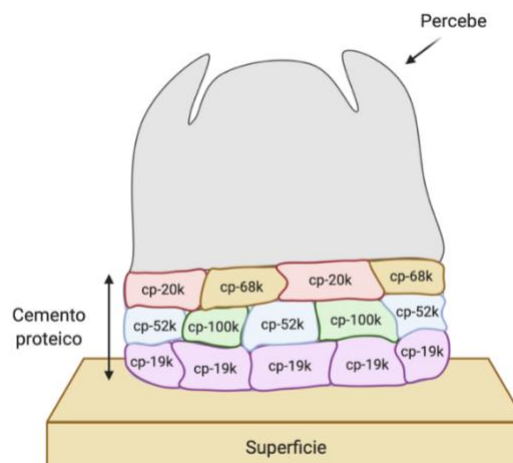


Figura 3. Representación de percebe adherido a una superficie por medio del cemento proteico, y su distribución a través del mismo.

La producción de proteínas recombinantes utilizando microorganismos genéticamente modificados (OGMs) como biofábricas celulares ha sido una solución exitosa para la síntesis de compuestos como hormonas, interferones, interleucinas, factores de crecimiento, factores de coagulación, enzimas para tratamiento de enfermedades, entre otros (Barh et al., 2017). Siguiendo las mismas estrategias de ingeniería genética que se aplicaron para generar los fármacos mencionados arriba, se ha buscado producir algunas de las proteínas involucradas en la adhesión de organismos marinos como moluscos y percebes de manera recombinante en distintas cepas de *E. coli* que han sido modificadas con este mismo objetivo (tabla 3). Esto se ha realizado con la finalidad de producir proteínas recombinantes que presenten características de adhesión similares a las que tienen sus organismos nativos, para su utilización en la formulación de nuevos bioadhesivos (Hwang et al., 2004, Urushida et al., 2007).

Artículos

Estrategias de ingeniería genética utilizadas para la generación de proteínas adhesivas recombinantes.

Durante la última década, son muy pocas las investigaciones que se han realizado con respecto a proteínas adhesivas provenientes de moluscos y percebes, expresadas de manera recombinante en microorganismos como *E. coli*.

especie. Para ello se utilizó la técnica de resonancia de plasmones superficiales (SPR) en superficies hidrofóbicas (placa de poliestireno) e hidrofílicas (placa de vidrio), sin embargo, los resultados de dicho estudio no permitieron comprobar que esta proteína tuviese actividad adhesiva, contrario a lo reportado por otros investigadores (Tilbury et al., 2019).

Fuente	Especie	Objetivo	Innovación/Tecnología	Referencia
Molusco	<i>Perna viridis</i>	Elucidar el rol de DOPA en la adhesión de la proteína PVFP-5	Cepas de <i>E. coli</i> JW2581 recombinantes con el gen de la proteína PVFP-5	Bilotto et al., 2019
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Pvfp-5β	Cepas de <i>E. coli</i> BL21-Gold(DE3) recombinantes con el gen de la proteína Pvfp-5β	Santonocito et al., 2019
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Mgfp-5	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen de la proteína Mgfp-5	Hwang et al., 2004
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Mgfp-3A	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen de la proteína Mgfp-3A	Hwang et al., 2005
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante fp-5 para recubrimiento de superficies	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen de la proteína fp-5	Choi et al., 2011
		Modificación de los residuos de tirosina en proteína adhesiva recombinante <i>in vivo</i>	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen de la proteína fp-151 y el de la enzima tirosinasa	Choi et al., 2012
	<i>No especificado</i>	Producción de bioadhesivo para madera a partir de proteína adhesiva de molusco	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes productoras de la proteína adhesiva en forma de cuerpos de inclusión	Song et al., 2016
Percebe	<i>Pollicipes pollicipes</i>	Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante CP-19k	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen rPpolcp-19k	Tilbury et al., 2019
	<i>Megabalanus rosa</i>		Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen Mrcp-19k	Urushida et al., 2007

Cada uno de estos trabajos se ha enfocado en distintas aplicaciones para estas proteínas y las metodologías empleadas pueden variar dependiendo de los objetivos de cada investigación. En la figura 4 se muestra el procedimiento general que es seguido para poder expresar de manera recombinante una proteína adhesiva en bacterias.

Recientemente, en el año 2019 se expresó la proteína adhesiva cp-19k del percebe *Pollicipes pollicipes*, con el fin de evaluar las características y la actividad que ésta tiene en el cemento proteico de esta

Otros trabajos se han enfocado en utilizar las proteínas adhesivas de moluscos como recubrimiento de algunas superficies, con la finalidad de funcionalizarlas para distintos objetivos como lo sería la inmovilización de biomoléculas, tales como anticuerpos, ácidos nucleicos, y para la formación de microambientes. Esto se ha logrado modificando la estructura de las mfp, añadiendo péptidos funcionales a su estructura. Sin embargo, aún queda mucho trabajo por hacer en este campo, ya que es necesario evaluar estas propiedades en más tipos de superficies para lograr diseñar de manera racional mfps recombinantes para

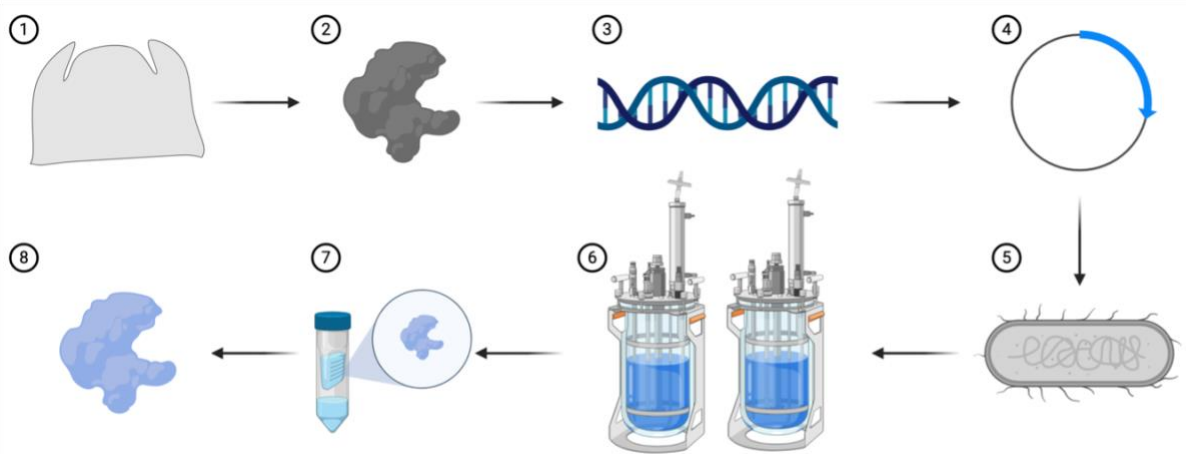


Figura 4. Estrategia utilizada para la producción de proteínas adhesivas recombinantes. 1) Obtención de las proteínas adhesivas del organismo nativo. 2) Purificación e identificación de las proteínas adhesivas. 3) Obtención del gen codificante para la proteína adhesiva de interés. 4) Clonación del gen en un vector comercial. 5) Transformación de las células de *E. coli* con el vector. 6) Cultivo de las células modificadas en biorreactor. 7) Purificación de la proteína adhesiva recombinante. 8) Evaluación de las propiedades adhesivas de la proteína recombinante.

aplicaciones específicas en este campo de biomateriales (Jo et al., 2018).

Del mismo modo, el grupo de Santonocito et al. (2019) expresaron de manera recombinante la proteína adhesiva Pvfp-5 β del molusco *Perna viridis* en *E. coli* para evaluar su estructura y propiedades adhesivas. Se obtuvo como resultado la producción exitosa en forma de cuerpos de inclusión que una vez purificados, mostraron propiedades intrínsecas de adhesión en placas de vidrio y plástico, aún sin la presencia de DOPA, prometiendo ser un material con aplicaciones en recubrimiento de superficies, aplicaciones biomédicas, entre otras. Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que estas proteínas poseen propiedades adhesivas aún y en ausencia de DOPA. Esta característica también fue observada por Bilotto et al. (2019), quienes compararon por microscopía de fuerza atómica (AFM) y Surface Force Apparatus (SFA), dos variantes de la proteína Pvfp-5, observando que la proteína recombinante (Tyr-Pvfp-5) sin residuos tipo DOPA muestra características adhesivas.

En el Departamento de Procesos y Tecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, se trabaja con cepas de *E. coli* modificadas genéticamente que expresan la proteína adhesiva Mrcp-19k del percebe *Megabalanus rosa* en la superficie de la membrana externa de estas bacterias.

Actualmente se lleva a cabo la caracterización fisiológica de estas cepas para conocer las propiedades que las células bacterianas de *E. coli* podrían adquirir al expresar la proteína adhesiva (datos no mostrados). Hasta el momento no existen artículos publicados en los que se genere y estudie un fenotipo adhesivo en las propias células productoras. Los resultados que se obtengan en este estudio podrán formar la base de nuevas tecnologías que consistan en poder controlar la adhesividad de células de *E. coli* a diversas superficies.

El desarrollo de cepas con propiedades adhesivas podría ser de gran interés para la biotecnología, pues éstas podrían ser de utilidad en el desarrollo de biopelículas en los procesos que así lo requieran, reducir de manera importante la etapa de centrifugación y recuperación de células, entre muchas otras aplicaciones.

Perspectivas y conclusiones

El desarrollo de nuevos productos bio-basados es fundamental para promover un cambio positivo en los procesos de producción y en los productos que consumimos diariamente. Esto fomentará cada vez más el uso de aquellos productos provenientes de procesos comprometidos con el medio ambiente, que resulten menos dañinos para el

ser humano debido a su origen natural y que presentan las mismas o mejores propiedades que las de aquellos sintetizados en la industria química tradicional.

Para lograr este objetivo, se requiere de una mayor cantidad de investigadores y empresarios interesados en buscar y desarrollar nuevos productos, no solo en el campo de los bioadhesivos, sino en todas aquellas industrias que dependen del uso de fuentes fósiles.

Actualmente existe un incremento en la cantidad de investigaciones relacionadas con el tema, sin embargo, aún falta enfocar la investigación y promover la cooperación interdisciplinaria en los campos de la biotecnología, la ciencia de materiales y medicina relacionada con este tema, pues aún quedan preguntas por responder que podrían potenciar el desarrollo y uso de estos nuevos bioadhesivos en un futuro cercano.

Los avances tecnológicos en las herramientas de ingeniería genética y biología molecular han vuelto a los microorganismos genéticamente modificados, en opciones viables para producir este tipo de productos a gran escala. Además de muchas de las ventajas que ofrecen este tipo de bioprocesos, si se plantea extraer directamente las proteínas adhesivas de animales como moluscos o percebes, se requerirían de aproximadamente 10,000 moluscos de la especie *M. edulis* para obtener 1 gramo de la proteína mfp-1 (Wang et al., 2018), lo cual lo convertiría en un proceso sumamente ineficiente, tardado y costoso.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo de CONACyT a Guillermo Gosset Lagarda mediante el proyecto A1-S-8646, y el apoyo PRODEP a Andrea Sabido mediante el proyecto 47410680.

Referencias

Akhtar, T., Lutfullah, G., & Zahoorullah. (2011). Lignonsulfonate-phenolformaldehyde Adhesive: A Potential Binder for Wood Panel Industries. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. 33. 535-538.

Albes, J. M., Krettek, C., Hausen, B., Rohde, R., Haverich, A., & Borst, H. G. (1993). Biophysical properties of the gelatin-resorcin-formaldehyde/glutaraldehyde adhesive. *The Annals of thoracic surgery*, 56(4), 910–915.

Anderson, K.R., Porter, M.A., & Satyavolu, J.V. (2011) Protein and Starch Compositions, Methods for Making and Uses Thereof. EP 2307494 A1, 13 April 2011.

Antov, P., Savov, V., & Neykov, N. (2020). Sustainable bio-based adhesives for eco-friendly wood composites a review. *Wood research*. 65. 51-62.

Anwar, Z., Gulfranz, M., & Irshad, M. (2014). Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 7. 163–173. 10.1016/j.jrras.2014.02.003.

Barh, D., & Azevedo, V. (2017). Omics technologies and bio-engineering: towards improving quality of life.

Bilotto, P., Labate, C., De Santo, M. P., Deepankumar, K., Miserez, A., & Zappone, B. (2019). Adhesive Properties of Adsorbed Layers of Two Recombinant Mussel Foot Proteins with Different Levels of DOPA and Tyrosine. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 35(48), 15481–15490.

Brennan M. (1991). Fibrin glue. *Blood reviews*, 5(4), 240–244.

Choi, Y. S., Kang, D. G., Lim, S., Yang, Y. J., Kim, C. S., & Cha, H. J. (2011). Recombinant mussel adhesive protein fp-5 (MAP fp-5) as a bulk bioadhesive and surface coating material. *Biofouling*, 27(7), 729-737.

Choi, Y. S., Yang, Y. J., Yang, B., & Cha, H. J. (2012). In vivo modification of tyrosine residues in recombinant mussel adhesive protein by tyrosinase co-expression in *Escherichia coli*. *Microbial cell factories*, 11(1), 1-8.

Deming, T.J. (1999). Mussel byssus and biomolecular materials. *Current opinion in chemical biology*, 3 1, 100-5.

Ferdosian, F., Pan, Z., Gao, G., & Zhao, B. (2017). Bio-Based Adhesives and Evaluation for

- Wood Composites Application. *Polymers*, 9(2), 70.
- Gauthier, L., & Lagoutte, F. (1989). Utilisation d'une colle de fibrine (Tissucol) pour traiter les ulcères de cornée perforés et préperforés. *Journal français d'ophtalmologie*, 12(6-7), 469–476.
- Geng, X., & Li, K. (2006). Investigation of wood adhesives from kraft lignin and polyethylenimine. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 20, 847-858. 10.1163/156856106777638699.
- Gosselink, R. J. A., de Jong, E., Guran, B., & Abächerli, A. (2004). Co-ordination network for lignin: standardisation, production and applications adapted to market requirements. *Industrial Crops and Products*, 20(2), 121-129.
- Grandviewresearch. (2019). Adhesives and Sealants Market Size, Share & Trends Analysis Report By Technology, By Product, By Application, By Region (North America, Europe, Asia Pacific, CSA, MEA), And Segment Forecasts, 2019 – 2025. Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/adhesives-and-sealants-market>
- Hwang, D. S., Gim, Y., & Cha, H. J. (2005). Expression of functional recombinant mussel adhesive protein type 3A in *Escherichia coli*. *Biotechnology progress*, 21(3), 965-970.
- Hwang, D. S., Yoo, H. J., Jun, J. H., Moon, W. K., & Cha, H. J. (2004). Expression of functional recombinant mussel adhesive protein Mgfp-5 in *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 70(6), 3352–3359.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2006). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 88, 1–478.
- Jin, Y., Cheng, X., & Zheng, Z. (2010). Preparation and characterization of phenol-formaldehyde adhesives modified with enzymatic hydrolysis lignin. *Bioresource technology*, 101(6), 2046–2048.
- Jivkov, V. (2013). Study of gluing abilities of solid surface composites with different woodbased materials and foamed PVC. 10.13140/RG.2.1.4671.1846.
- Jo, Y. K., Kim, H. J., Jeong, Y., Joo, Kye-Il., & Cha, H. J. (2018). Biomimetic Surface Engineering of Biomaterials by Using Recombinant Mussel Adhesive Proteins. *Advanced Materials Interfaces*. 5. 1800068. 10.1002/admi.201800068.
- Kamino, K., Inoue, K., Maruyama, T., Takamatsu, N., Harayama, S., & Shizuri, Y. (2000). Barnacle cement proteins. Importance of disulfide bonds in their insolubility. *The Journal of biological chemistry*, 275(35), 27360–27365.
- Khandeparker, L., Anil, A., & Raghukumar, S. (2002). Exploration and metamorphosis in *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica) cyprids: Significance of sugars and adult extract. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 281. 77-88. 10.1016/S0022-0981(02)00414-8.
- Khandeparker, L., & Anil, A. (2007). Underwater adhesion: The barnacle way. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 27. 165-172. 10.1016/j.ijadhadh.2006.03.004.
- Laitakari, K., & Luotonen, J. (1989). Autologous and homologous fibrinogen sealants: adhesive strength. *The Laryngoscope*, 99(9), 974–976.
- Lee, B. P., Messersmith, P. B., Israelachvili, J. N., & Waite, J. H. (2011). Mussel-Inspired Adhesives and Coatings. *Annual review of materials research*, 41, 99–132.
- Lee, Y. J., Son, H. S., Jung, G. B., Kim, J. H., Choi, S., Lee, G. J., & Park, H. K. (2015). Enhanced biocompatibility and wound healing properties of biodegradable polymer-modified allyl 2-cyanoacrylate tissue adhesive. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 51, 43–50.
- Lee, Y. J., Jung, G. B., Choi, S., Lee, G., Kim, J. H., Son, H. S., Bae, H., & Park, H. K. (2013). Biocompatibility of a novel cyanoacrylatebased tissue adhesive: cytotoxicity and biochemical property evaluation. *PLoS one*, 8(11), e79761.
- Leggat, P. A., Kedjarune, U., & Smith, D. R. (2004). Toxicity of cyanoacrylate adhesives and their

- occupational impacts for dental staff. *Industrial health*, 42(2), 207–211.
- Liu, X., Zhang, Q., & Gao, G. (2017). Bioinspired Adhesive Hydrogels Tackified by Nucleobases. *Advanced Functional Materials*. 27. 10.1002/adfm.201703132.
- Mehdizadeh, M., & Yang, J. (2013). Design strategies and applications of tissue bioadhesives. *Macromolecular bioscience*, 13(3), 271–288.
- Mizrahi, B., Weldon, C., & Kohane, D. (2011). Tissue Adhesives as Active Implants. 10.1007/8415_2010_48.
- Moubarik, A., Pizzi, A., Allal, A., Charrier - El Bouhtoury, F., & Charrier, B. (2009). Cornstarch and tannin in phenol-formaldehyde resins for plywood production. *Industrial Crops and Products*. 30. 188-193. 10.1016/j.indcrop.2009.03.005.
- Nakayama, Y., & Matsuda, T. (1995). Newly designed hemostatic technology based on photocurable gelatin. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*, 41(3), M374–M378.
- Navarrete, P., Mansouri, H. R., Pizzi A., Tapin-Lingua, S., Benjelloun-Mlayah, B., Pasch, H., & Rigolet, S. (2012). Wood Panel Adhesives from Low Molecular Mass Lignin and Tannin without Synthetic Resins. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 24. 1597-1610. 10.1163/016942410X500972.
- Naves, P., Prado, G., Huelves, L., Gracia, M., Ruiz, V., Blanco, J., Rodríguez-Cerrato, V., Ponte, M.C., & Soriano, F. (2008). Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent. *Journal of applied microbiology*. 105. 585-90. 10.1111/j.1365-2672.2008.03791.x.
- Nie, Y., Tian, X., Liu, Y., Wu, K., & Wang, J. (2013) Research on Starch-g-Poly-vinyl Acetate and Epoxy Resin-Modified Corn Starch Adhesive. *Polymer Composites*, 34, 77-87.
- Otani, Y., Tabata, Y., & Ikada, Y. (1998). Hemostatic capability of rapidly curable glues from gelatin, poly(L-glutamic acid), and carbodiimide. *Biomaterials*, 19(22), 2091–2098.
- Pizzi, A. (2016). Wood products and green chemistry. *Annals of Forest Science*. 73. 185-203.
- Ponnusamy, V. K., Nguyen, D. D., Dharmaraja, J., Shobana, S., Banu, J. R., Saratale, R. G., Chang, S. W., & Kumar, G. (2019). A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. *Bioresource technology*, 271, 462–472.
- Qiao, Z., Gu, J., Lv, S., Cao, J., Tan, H., & Zhang, Y. (2016). Preparation and Properties of Normal Temperature Cured Starch-Based Wood Adhesive. *BioResources*. 11. 4839-4849. 10.15376/biores.11.2.4839-4849.
- Qiao, W., Li, S., Guo, G., Han, S., Ren, S., & Ma, Y. (2015). Synthesis and characterization of phenol-formaldehyde resin using enzymatic hydrolysis lignin. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 21. 1417-1422. 10.1016/j.jiec.2014.06.016.
- Qin, Z., & Buehler, M. (2014). Molecular mechanics of mussel adhesion proteins. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. 62. 19–30. 10.1016/j.jmps.2013.08.015.
- Quinn, J. V. (2005). Tissue Adhesives in Clinical Medicine (2nd ed.). *BC Decker Inc, Hamilton*, pp. 27-76
- Ryan, B. M., Stockbrugger, R. W., & Ryan, J. M. (2004). A pathophysiologic, gastroenterologic, and radiologic approach to the management of gastric varices. *Gastroenterology*, 126(4), 1175–1189.
- Santonocito, R., Venturella, F., Dal Piaz, F., Morando, M. A., Provenzano, A., Rao, E., Costa, M. A., Bulone, D., San Biagio, P. L., Giacomazza, D., Sicorello, A., Alfano, C., Passantino, R., & Pastore, A. (2019). Recombinant mussel protein Pvfp-5β: A potential tissue bioadhesive. *The Journal of biological chemistry*, 294(34), 12826–12835.
- Shalaby, S. W., & Burg, K. J. L. (2003). Absorbable and Biodegradable Polymers. *Amsterdam University Press*.
- Sierra D. H. (1993). Fibrin sealant adhesive systems: a review of their chemistry, material properties and clinical applications. *Journal of biomaterials applications*, 7(4), 309–352.

Artículos

- Song, Y. H., Seo, J. H., Choi, Y. S., Kim, D. H., Choi, B. H., & Cha, H. J. (2016). Mussel adhesive protein as an environmentally-friendly harmless wood furniture adhesive. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 70, 260-264
- Strang, J., Neale, J., McDonald, R., & Kalk, N. (2018). Toxicity: exploring and expanding the concept. *Addiction (Abingdon, England)*, 113(4), 592–594.
- Tilbury, M. A., McCarthy, S., Domagalska, M., Ederth, T., Power, A. M., & Wall, J. G. (2019). The expression and characterization of recombinant cp19k barnacle cement protein from *Pollicipes pollicipes*. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 374(1784), 20190205.
- Urushida, Y., Nakano, M., Matsuda, S., Inoue, N., Kanai, S., Kitamura, N., Nishino, T., & Kamino, K. (2007). Identification and functional characterization of a novel barnacle cement protein. *The FEBS journal*, 274(16), 4336–4346.
- Vilas Indubai, G., Mahanwar, P & Gadekar, P. (2017). Starch-Based Adhesives for Wood/Wood Composite Bonding: Review. *Open Journal of Polymer Chemistry*. 7. 19-32. 10.4236/ojpcem.2017.72002.
- Waite J. H. (2017). Mussel adhesion - essential footwork. *The Journal of experimental biology*, 517–530.
- Waite, J. H., & Qin, X. (2001). Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis*. *Biochemistry*, 40(9), 2887–2893.
- Wang, Jia & Scheibel, Thomas. (2018). Recombinant Production of Mussel Byssus Inspired Proteins. *Biotechnology Journal*. 13. 10.1002/biot.201800146.
- Wang, Z., Tai, L. R., McLean, D., Wright, E. J., Florence, G. J., Brown, S. I., Andre, P., & Cuschieri, A. (2014). Mucoadhesive polymer films for tissue retraction in laparoscopic surgery: Ex-vivo study on their mechanical properties. *Bio-medical materials and engineering*, 24(1), 445–451.
- Yuan, Y., Guo, M., & Liu, F. (2013). Preparation and Evaluation of Green Composites Using Modified Ammonium Lignosulfonate and Polyethylenimine as a Binder. *Bioresources*, 9, 836-848.
- Zhang, H., Bré, L. P., Zhao, T., Zheng, Y., Newland, B., & Wang, W. (2014). Mussel-inspired hyperbranched poly (amino ester) polymer as strong wet tissue adhesive. *Biomaterials*, 35(2), 711–719.
- Zhibang, Q., Jiyou, G., Shanshan, L., Jun. C., Haiyan, T., & Yanhua, Z. (2015) Preparation and properties of isocyanate prepolymer/corn starch adhesive, *Journal of Adhesion Science and Technology*, 29:13, 1368-1381
- Zhu, W., Chuah, Y. J., & Wang, D. A. (2018). Bioadhesives for internal medical applications: A review. *Acta biomaterialia*, 74, 1–16.
- Zhu, W., Yang, J., Iqbal, J., Peck, Y., Fan, C., & Wang, D. A. (2017). A mussel-inspired double-crosslinked tissue adhesive on rat mastectomy model: seroma prevention and in vivo biocompatibility. *The Journal of surgical research*, 215, 173–182.

Determinación de la flotabilidad del coronavirus SARS-CoV-2

Ing. Eduardo A. Mantineo*

Industrias Mantineo. Av. San Martín 2174, M5500EHM Mendoza, Argentina

eduardomantineo@yahoo.com.ar

Resumen

En este desarrollo se trata de demostrar que el coronavirus SARS-CoV-2, responsable de producir la enfermedad COVID-19, se transmite por el aire mediante partículas aerosolizadas portadoras del virus. De esta forma podrían alcanzar las vías respiratorias de las personas, dependiendo del conglomerado urbano, y de la cantidad de individuos infectados, haciendo que la enfermedad se propague con más velocidad.

Palabras clave: Coronavirus, COVID-19, SARS-CoV-2, flotabilidad.

Abstract

This development tries to demonstrate that SARS-CoV-2 coronavirus, responsible for producing the COVID-19 disease, it is transmitted by air, through aerosolized particles that carry the virus. In this way they could reach people's airways, depending on the urban conglomerate, and the number of infected persons, spreading the disease spread more quickly.

Key words: Coronavirus, COVID-19, SARS-CoV-2, floatability.

Introducción

A fines de enero, se empezó a tener conocimiento que, en la ciudad de Wuhan, República popular China (BBC News, 2020), estaba comenzando una epidemia provocada por un virus desconocido muy agresivo que causaba gran cantidad de decesos de personas, comprobándose la rapidez con que se transmitía, era evidente que, por la globalización y conectividad mundial existente en la actualidad, no iba a tardar mucho tiempo en diseminarse.

En pocas semanas se propagó por todo el mundo, transformándose en pandemia y fue declarada como tal por la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2020).

El SARS-Cov2 es un virus altamente contagioso, que se propaga por contacto, por ejemplo, si una persona toca una superficie contaminada y en algún momento se toca la cara, el virus es capaz de penetrar vía mucosas, de allí la importancia de higienizar permanentemente las manos (Mallapaty, 2020).

Debido a la velocidad de propagación del virus SARS-CoV-2 en el mundo, podríamos deducir que el virus es transmisible por el aire, como lo hace el SARS-CoV-1 (Morawska y Cao, 2020) así como muchos otros patógenos y virus responsables de enfermedades broncopulmonares de origen respiratorio como la influenza aviar o la influenza H1N1.

El sarampión es un virus de transmisión aérea altamente contagioso, el cual se propaga primordialmente a través del sistema respiratorio, y puede ser pasado de persona a persona vía gotitas de saliva o gotas de Flügge (Galton et al., 2011), que contienen partículas del virus como las producidas por un paciente con tos, secreciones o partículas expulsadas en la espiración. El virus del sarampión tiene entre 120 y 140 nm de diámetro muy similar a las dimensiones del SARS-CoV-2, independientemente de la composición química, en esas dimensiones no puede diferir mucho su peso.

El virus presente en el aire o sobre superficies infectadas sigue siendo contagioso durante periodos de hasta dos horas (Hamborsky et al., 2015). Sin embargo, se ha comprobado que el virus SARS-CoV-2, vive más tiempo en las superficies (van Doremalen, et al., 2020).

El objetivo de este artículo es demostrar que la propagación del coronavirus es posible a través de partículas aerosolizadas portadoras del virus, utilizando como modelo al virus del sarampión.

Metodología y desarrollo

Para demostrar que el virus SARS-CoV-2 es transmisible vía aerosoles, se usaron los datos conocidos de otro virus que se transmite por la misma vía, en este caso el virus del sarampión. Los métodos utilizados para demostrar la forma de transmisión se detallan a continuación:

Datos disponibles del virus del sarampión:

$\varnothing = 120 - 160 \text{ nm}$ (diámetro estimado del virus)

$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-7} \text{ cm} = 10^{-6} \text{ mm}$$

$\rho = 1.06$ a 1.1 g/cm^3 peso específico de una glicoproteína del virus de sarampión (Gelderblom, 1996).

A los fines prácticos, se asume que la forma es aproximadamente esférica. Se calcula el peso aproximado de la gotícula, de la siguiente manera:

$$V = 4/3\pi r^3 = 2.14466 \times 10^{-12} \text{ mm}^3$$

$$(r = 80 \times 10^{-6} \text{ mm})$$

$$P = \rho \cdot V = 2.365 \times 10^{-15} \text{ g}$$

$$(\rho = 1.1 \text{ g/cm}^3 = 0.0011 \text{ g/mm}^3)$$

Para el cálculo se considera como unidad el mm (milímetro).

Se procede a realizar el mismo cálculo con una gota de saliva de 1 mm de diámetro. La saliva está compuesta en más del 99% de agua, minerales, sólidos orgánicos, electrolitos, etc. (Kubala, et al., 2018).

$$\rho = 1.002 \text{ a } 1.020 \text{ g/cm}^3$$

(peso específico aproximado de la saliva)

$$V = 4/3\pi r^3 = 0.5235988 \text{ mm}^3 \text{ (para } r = 0.05 \text{ mm)}$$

- volumen de la gotícula

$$P = \rho \cdot V = 5.288 \times 10^{-4} \text{ g} \text{ - Peso de la gotícula.}$$

Con los resultados obtenidos, se puede deducir que una gotita de saliva puede contener millones de virus, que todo el conjunto tiene peso, y por lo tanto precipitará, contaminando las superficies en donde caigan. Esta propagación dependerá de varios factores como la aceleración de la gravedad, la fricción con el aire del medio ambiente, las condiciones climáticas presentes, como humedad, temperatura y presión atmosférica.

Es necesario agregar que la distancia obtenida por esta gotícula de saliva dependerá de la velocidad alcanzada en la expulsión de esta, ya sea por estornudo, tos o simplemente hablando. (Bourouiba, 2020).

Este microsistema puede proyectarse multiplicándose por miles, en suspensión coloidal, es decir un sistema formado por dos o más fases líquida o gaseosa y otro disperso en forma de partículas, generalmente solidas en diámetros comprendidos entre 10^{-9} m y 10^{-5} m.

Por regla general, la peligrosidad de las partículas en suspensión es directamente proporcional a su tamaño, cuanto más pequeñas son, pueden penetrar más fácilmente en nuestras vías respiratorias, llegando hasta los bronquios, los alvéolos, pulmones y, por ende, al torrente sanguíneo.

En medio ambientes en donde hay polución, el virus es más nocivo, porque se mezcla con partículas en suspensión y permanecer más tiempo en aire (Ogen, 2020)

Por último, es posible saber que cuando se produce un estornudo salen disparadas una gran cantidad de gotas de varios tamaños y por supuesto de distinto peso, algunas, las más pesadas caerán a poca distancia, otras a mayor distancia y las más pequeñas las podremos ver formando un spray de partículas, aerosolizadas. Si una persona está infectada una gran cantidad de esas partículas contendrán virus, transportándose en forma de microgotículas.

Para calcular la velocidad de caída de estas microgotículas cargadas con cierta

cantidad de virus, se supone que las partículas más livianas describen una trayectoria más aplanada, alcanzando una determinada distancia y partir de allí comenzarían a caer libremente en el ambiente con cierta fricción contra el aire con una determinada viscosidad, siendo este parámetro variable con la temperatura.

Para esto se recurre a la mecánica de los fluidos y se utiliza para el cálculo la fórmula de Stokes (Stokes, 1851):

$$V_s = 2r^2g (\delta_p - \delta_f) / 9 \eta$$

Siendo:

V_s : velocidad de caída de la partícula

g : aceleración de la gravedad

r : radio de la partícula

δ_p : densidad de la partícula

δ_f : densidad del fluido

η : viscosidad del fluido

Y las constantes con los valores:

$$g = 981 \text{ cm/s}^2$$

$$\delta_f = 0.00129 \text{ g/cm}^3$$

(densidad estándar del aire)

$$\delta_p = 1.1 \text{ g/cm}^3 \text{ (microgotas con virus)}$$

$$\eta = 181 \times 10^{-6} \text{ g/cm} \cdot \text{s}$$

(a 15°C de temperatura)

r en [cm]

Considerando distintos casos variando la medida del radio:

1. Partícula diámetro = 1 mm = 0.1 cm, $r = 0.05$ cm
 $V_s = 3308.3$ cm/s
2. Partícula diámetro = 0.1 mm = 0.01cm, $r = 0.005$ cm
 $V_s = 33$ cm/s
3. Partícula diámetro = 0.01 mm (centésima de mm) = 0.001cm, $r = 0.0005$ cm
 $V_s = 0.33$ cm/s = 3.3 mm/s

4. Partícula diámetro 0.001 mm = 0.0001cm, $r = 0.00005$ cm

$$V_s = 0.0033 \text{ cm/s} = 3.3 \text{ centésimas de milímetro/segundo}$$

Conociendo la velocidad, se puede calcular cuánto tiempo tarda en precipitarse. Entonces, estableciendo una altura de recorrido de 150 cm más o menos, que sería la distancia que hay desde la boca al piso de una persona de altura media y teniendo en cuenta las condiciones sobre la trayectoria antes establecidas.

$$T = Y / V_s \text{ tiempo de recorrido}$$

Y : distancia recorrida

V_s : velocidad

$$1. T = 150/3308,3 = 0.0453 \text{ s}$$

$$2. T = 150/33 = 4.545 \text{ s}$$

$$3. T = 150/0.33 = 454.5 \text{ s, es decir, 7.57 min}$$

$$4. T = 150/0.0033 = 45454.54 \text{ s, es decir, 12.62 h}$$

Se observa que a medida que decrece el tamaño de la partícula, mayor tiempo tardará en precipitarse, esto se ajusta a la realidad y a experiencias empíricas (van Doremalen, et al., 2020), sin tener en cuenta el posible desplazamiento debido al viento.

Es interesante vincular las conclusiones efectuadas en un trabajo científico realizado entre la Universidad China de Hong Kong y la Universidad College London (Tang et al., 2006). En esos trabajos se afirma que la supervivencia de patógenos en aerosol depende de las condiciones ambientales, como temperatura y humedad, pudiéndose transmitir a través de cortas y largas distancias. A distancias menores a un metro la transmisión ocurre principalmente por la interacción entre zonas de respiración de los individuos. A mayores distancias la transmisión acontece por flujos de aire impulsados por diferencias de presión generadas por sistemas ventilación, ventanas y puertas abiertas, movimiento de personas o diferencias de temperatura.

Conclusiones

Teniendo en cuenta todos los estudios mencionados en este ensayo, no es posible ignorar que las transmisiones cargadas de gotículas de COVID-19 son inciertas. Mejores métodos de protección son primordiales para evitar contagios, especialmente en espacios cerrados (Jayaweera et al., 2020). Por tal motivo es recomendado el uso de barbijo, mascarilla o tapaboca, indefectiblemente como un medio más de protección, aparte de las otras recomendaciones dadas por los profesionales de la salud (Lee et al., 2020). Los médicos encargados de la atención a los enfermos deben estar más protegidos, porque están expuestos a una importante carga viral (Shimin Chung et al., 2014, Sim et al., 2014).

Concluyendo, se ha demostrado con este sencillo desarrollo, que las partículas en aerosol pueden permanecer mucho tiempo suspendidas en el aire con lo cual el contagio se efectuaría simplemente por este aire. Si estas partículas son patogénicas, como es el caso del coronavirus, es necesario tener en cuenta que puede ser también una fuente de contagio (Fernstrom et al., 2013).

Agradecimientos

Al Dr. Bioing. Matías E. A. Mantineo por su ayuda y dedicación en la redacción y corrección de este artículo.

Referencias





- BBC News Newspaper (2020) China coronavirus: Lockdown measures rise across Hubei province (<https://www.bbc.com/news/world-asia-china-51217455>)
- Bourouiba L (2020) Turbulent Gas Clouds and Respiratory Pathogen Emissions. Potential Implications for Reducing Transmission of COVID-19. *JAMA Insights* 323(18):1837-1838. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4756>
- Fernstrom A, Goldblatt MG (2013) Aerobiology and Its Role in the Transmission of Infectious Diseases. *Journal of Pathogens* 2013:493960. <https://doi.org/10.1155/2013/493960>
- Gelderblom HR (1996) Structure and Classification of Viruses. 4th edition Chapter 41. *Medical Microbiology*, Galveston (TX).
- Gralton J, Tovey E, McLaws ML, Rawlinson WD (2011). The role of particle size in aerosolised pathogen transmission: a review. *The Journal of Infection* 62(1): 113. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2010.11.010>
- Hamborsky J, Wolfe C, Kroger A (2015) Chapter 13 Measles. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. In *The Pink Book: Course Textbook - 13th Edition*, Public Health Found, Washington D.C.
- Jayaweera M, Perera H, Gunawardana B, Manatunge J (2020) Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy. *Environmental Research* 188:109819. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109819>
- Kubala E, Strzelecka P, Grzegocka M, Lietz-Kijak D, Gronwald H, Skomro P and Kijak E (2018) A Review of Selected Studies That Determine the Physical and Chemical Properties of Saliva in the Field of Dental Treatment. <https://doi.org/10.1155/2018/6572381>
- Lee I-K, Wang C-C, Lin M-C, Kung C-T, Lan K-C, and Lee C-T (2020) Effective strategies to prevent coronavirus disease-2019 (COVID-19) outbreak in hospital. *Journal of Hospital Infection*. pp.102-103. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.02.022>
- Mallapaty S (2020) Why does the coronavirus spread so easily between people? *Nature* 579(7798):183. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00660-x>
- Morawska L, Cao J. (2020) Airborne transmission of SARS-CoV-2: the world should face the reality. *Environ Int* 139:105730. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105730>

Artículos

- Ogen Y (2020). Assessing nitrogen dioxide (NO₂) levels as a contributing factor to coronavirus (COVID-19) fatality. *Science of The Total Environment* Vol 726:138605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138605>
- Shimin Chung J, Lin Ling M, Hong Seto W, Sze Peng Ang B & Anantharajah Tambyah P (2014) Debate on MERS-CoV respiratory precautions: surgical mask or N95 respirators? *Singapore Medical Journal* 55(6): 294–297. <https://doi.org/10.11622/smedj.2014076>
- Medical Journal 2014; 55(3): 160-167. <https://doi.org/10.11622/smedj.2014037>
- Sim SW, Moey KSP, Tan NC (2014). The use of facemasks to prevent respiratory infection: a literature review in the context of the Health Belief Model. Singapore
- Stokes GG (1851) On the effect of internal friction of fluids on the motion of pendulums. *Transactions of the Cambridge Philosophical Society*. 9, part ii: 8–106.
- Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI, Lloyd-Smith JO, de Wit E & Munster VJ. Aerosol and surface stability of HCoV-19 (SARS-CoV-2) compared to SARS-CoV-1 (2020) *The New England Journal of Medicine* 2020;382:1564-1567. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
- Tang JW, Li Y, Eames I, Chan PKS, Ridgway GL (2006) Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. *Journal of Hospital Infection* (2006) 64, 100e114. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.05.022>
- World Health Organization (2020) WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 (<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>).

Use of Broadly Neutralizing Antibodies as an Alternative Treatment for HIV-1, what the Clinical Trials Show: A review.

Uso de anticuerpos neutralizantes de amplio espectro como tratamiento alternativo para VIH-1, lo que los ensayos clínicos muestran: Una revisión

Anapaula González¹, Andrea Güémez¹,
Ana Elena Hernández*¹ y Emma Herrera²

¹Biotechnology undergraduate student. Universidad Anáhuac México Campus Norte, Av. Lomas Anáhuac 46, Col. Lomas Anáhuac, C.P. 52786, Huixquilucan, Estado de México, México.

²PHD. In Science in Biomedicine and Molecular Biotechnology. Universidad Anáhuac México Campus Norte, Av. Lomas Anáhuac 46, Col. Lomas Anáhuac, C.P. 52786, Huixquilucan, Estado de México, México.

ana.hernandezb@anahuac.mx

Abstract

The human immunodeficiency virus (HIV) attacks the body's immune system, specifically CD4+ T-Lymphocytes. The virus gradually takes over the host's immune system, making it more susceptible to opportunistic infections and certain types of cancer. In recent years, the toxicity produced by antiretroviral therapy (ART) has become a problem due to risky adverse effects. Broadly neutralizing antibodies (bNAbs) have been studied as an alternative HIV-1 infection treatment. This article aims to review the state of the art of bNAbs that have entered or will soon enter clinical trials and provide information on their potential as a therapeutic agent against HIV-1 infection.

Key words: HIV-1, Broadly neutralizing antibodies, monoclonal antibodies, clinical trials, therapeutic.

Resumen.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ataca el sistema inmunológico del cuerpo, específicamente los linfocitos T CD4+. El virus infecta gradualmente el sistema inmunológico del huésped, lo que lo hace más susceptible a las infecciones oportunistas y a desarrollar ciertos tipos de cáncer. En los últimos años, la toxicidad producida por la terapia antirretroviral (ART) se ha convertido en un problema debido a sus efectos adversos. Los anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (bNAbs) están siendo estudiados como una alternativa para tratar la infección por VIH-1. El presente artículo tiene como objetivo revisar el estado del arte de los bNAbs que han entrado o pronto entrarán en ensayos clínicos y proveer información sobre su potencial como agente terapéutico frente a la infección por VIH-1.

Palabras clave: VIH-1, anticuerpos ampliamente neutralizantes, anticuerpos monoclonales, ensayos clínicos, terapéuticos.

Introduction

Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) is caused by the Human Immunodeficiency Virus (HIV) (Bhatti et al., 2016). This pathogen is known for having one of the most successful evasion mechanisms amongst viruses, due to its strain diversity, and its membrane dense sugar shield and conformational flexibility (Jaworski et al., 2017) HIV-1 usually infects CD4+ T-Lymphocytes (CD4+ cells), slowly taking over the host's immune system, allowing opportunistic infections and unusual cancers to arise (Bhatti et al., 2016).

In 2019, more than 38 million people around the world were HIV positive (UNAIDS DATA, 2020). However, the infection can be treated through antiretroviral therapy (ART), which has shown to slow down the progression of the disease, and reduce the risk of transmission (Bhatti et al., 2016).

Even though the use of ART has improved the life expectancy for HIV-1 positive patients, and reduced the number of AIDS related deaths, these have shown adverse effects, such as: nausea, diarrhea, hepatotoxicity, pancreatitis, vision problems, anemia, peripheral neuropathy, blood in the urine, among others (Bhatti et al., 2016; Chwiki et al., 2017).

In recent years, the use of broadly neutralizing antibodies (bNAbs) as a potential therapeutic agent against HIV-1 has been studied (Caskey et al., 2019). The present article aims to identify the state of the art on bNAbs that have entered, or will soon enter clinical trials, and evaluate their effect as a therapeutic agent against HIV infection.

Importance of antibodies as therapeutic molecules

In the late nineteenth century, Emil von Behring and Shibasaburo Kitasato developed and introduced serum treatment, establishing the beginning of antibody-based therapy. The latter consisted in the use of serum, better known as "antisera", which contained polyclonal antibodies obtained from immunized animals to treat infectious diseases. The passive antibody therapy proved to be a successful antimicrobial

agent, which introduced the use of antibodies (Santos et al., 2018).

During the 1940's, information about antibody diversity, structure and production process was reported. These findings allowed the development of the hybridoma technology, which is based on the production of hybrid cells. These cells were acquired by the fusion of B cells - derived from immunized animals - with myeloma cells (Santos et al., 2018; Chen & Dimitrov, 2009). These techniques produce monospecific cells that secrete monoclonal antibodies (mAbs) capable of stimulating the immune system that had the potential to treat different diseases (Chen & Dimitrov, 2009).

At present, several mAbs have been approved by the FDA to treat multiple types of cancers, including melanoma, lung cancer and carcinomas, as well as multiple sclerosis, hemophilia A, asthma, psoriasis, Crohn's disease and rheumatoid arthritis. Because of their success, these antibodies started being evaluated in clinical trials to prevent, and treat different types of viruses, such as human cytomegalovirus (HCMV), influenza, respiratory syncytial virus (RSV), Ebola virus and rabies (Lu et al., 2020).

Since HIV-1 has been considered one of the most important public health challenges, the search for an effective and safe treatment is crucial. This led to the development of therapeutic antibodies, particularly the bNAbs. The first bNAbs used to treat HIV-1 were identified in the early 1990's, proving to be far more powerful than any other antibody used before. The first bNAbs to be isolated by phage-display methods in 1991 were b12, leading to the possibility of treating HIV-1 by passive immunization. Since then, the quest for identifying new bNAbs has increased, creating a new hope to treat this infection (Awi & Teow, 2018; Burton et al., 1991).

bNAbs for HIV treatment

Current HIV-1 treatment includes ART to suppress the virus. Although this strategy has greatly reduced the global mortality rate, it can cause various side effects that may affect the patient's quality of life; these can include diarrhea, anemia, constipation, dizziness, insomnia, headache, fatigue, rashes, abdominal pain, emotional and mental

disturbance, nausea, and vomiting. ART can also cause more serious complications such as liver failure, lipodystrophy, and neurological and cardiovascular diseases (Awi & Teow, 2018; Koethe et al., 2020).

Antibody-mediated therapy has shown to possess several advantages over ART in various aspects, such as specificity and safety. bNAbs are a specific type of antibody that have shown promising results for treating HIV-1 because of their ability to bind onto conserved epitopes of the virus (Awi & Teow, 2018). Studies have shown that bNAbs are able to neutralize free viruses, clear infected cells and inhibit cell to cell transmission of HIV-1 (Liu et al., 2020; Sok & Burton, 2018).

bNAbs can be sorted into 2 groups: first- and second-generation antibodies. The difference between these groups lies in the method used to develop them and their functionalities. b12, 2G12, 4E10, and 2F5 were the first-generation bNAbs isolated during the 1990's (Zhang et al., 2016). These were obtained using both Epstein Barr Virus Immortalized B-cells and phage-display methods. However, these first generation bNAbs had low neutralization efficacy. This led to the development of second generation bNAbs, which are known for having greater breadth and potency (Awi & Teow, 2018).

The second-generation bNAbs were identified until 2009, by using strategies like screening the sera from chronically infected HIV-1 patients containing high affinity and cross-reactive antibodies, implementing new approaches to B-cell selection and sorting, and developing high-throughput strategies for generating human mAbs (Shcherbakov et al., 2015). Second-generation bNAbs such as PG9, CH01, PGT145, PGT121, 10-1074, 10E8, VRC01 and 3BNC117 are currently being evaluated in clinical trials to determine their ability to treat HIV-1 infected patients (Awi & Teow, 2018).

Anti-HIV bNAbs in Clinical Trials

Passive immunization using bNAbs has become a promising approach for preventing, treating, reducing, and potentially eradicating HIV-1 infection (Mahomed et al., 2020). Due to their ability to enhance the host

immune response, bNAbs are being greatly pursued and developed. As a result, bNAbs have been studied in clinical trials, in order to obtain an efficient treatment against the infection (Yubin et al., 2020).

A growing number of anti-HIV-1 bNAbs have been acknowledged in current scientific research, providing a potent activity, safety, and efficacy profiles for therapeutic applications in human clinical trials. The neutralizing activity of bNAbs on HIV-1 is achieved by blocking viral entry into the cells. Nevertheless, during an *in-vivo* infection, additional effector functions are likely at play, highlighting the importance of studying different bNAbs in clinical trials. These bNAbs can neutralize HIV-1 by recognizing the six "vulnerable sites" in the envelope glycoprotein gp160, which are: V1V2 apex, V3 glycan, CD4+ binding site (CD4bs), fusion peptide (FP), subunit interface, and membrane proximal external region (MPER) of gp41 (Figure 1) (Zhou et al., 2019).

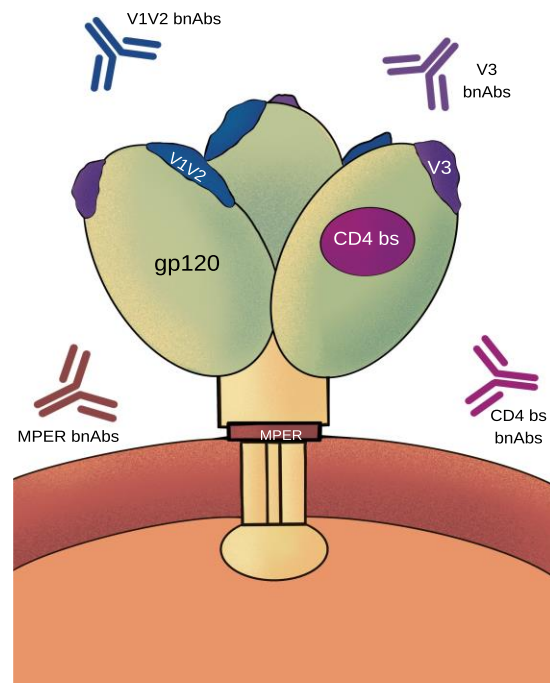


Figure 1. Vulnerable Binding Sites in the HIV-1 Membrane and their bNAbs (Modification of Kelsae et al., 2012; Stefic et al., 2019)

First-generation bNAbs have shown the ability to neutralize diverse primary strains of HIV- 1, although their breadth and potency

have not been ideal. Clinical trials have shown that during ART interruption, the combination of 2G12, 2F5, and 4E10 neutralizing antibodies can suppress the viremia in HIV-1 infected individuals. However, 2F5 and 4E10 happen to be self-reactive, and variants resistant to 2G12 were observed in most of the patients, causing high titres (Yubin et al., 2020).

Through the development of unicellular antibody cloning techniques and high-throughput neutralization assays, it has been possible to isolate and characterize a new generation of bNAbs with significant breadth. These new generation bNAbs have shown more promising results than the first generation, displaying a 10-to-100-fold increase in potency, as well as new vulnerable sites to the neutralizing antibodies. Besides their tough *in vitro* activity, these agents have demonstrated effects for prevention and therapy *in vivo*. Studies in rhesus macaques have proven protection against both, high-dose viral and repeated low-dose challenges, due to the passive administration of bNAbs (Yubin et al., 2020).

The most promising new generation bNAbs from preclinical studies have progressed into clinical trials where they are currently being evaluated for treatment and prevention of HIV-1 infection. Recently, antibodies against the V3 loop, such as 10-1074 and PGT121, and antibodies targeting the CD4+ binding site like VRC01, 3BNC117, VRC01-LS and VRC07-523LS, have been reported in humans trials (Yubin et al., 2020).

Methods and Inclusion Criteria

All the information about clinical trials was obtained through the International Clinical Trials Registry Platform Search Portal of the World Health Organization. The search focused on bNAbs that have advanced on the clinical development pipeline, such as: VRC01, 3BNC117, PGDM1400, 10-1074, PGT121, and VRC07-523LS. Completed trials with published data were searched through PubMed. The inclusion criteria consisted of clinical trials studying the effects of bNAbs on HIV-1 positive adults, with the aim of HIV-1 treatment.

CD4bs

The T-cell surface glycoprotein CD4+, is known for being the cellular receptor for HIV-1, which makes it crucial for the virus's entrance into the cell (Fisher et al., 1988). Due to its ability of disrupting the first and most crucial step of HIV-1 infection, CD4bs are one of the most abundant and studied bNAbs. More than twelve CD4bs bNAbs have been isolated, such as VRC01 and 3BNC117, just to name a few (Zhou et al., 2019).

VRC01 has been shown to neutralize approximately 90% of a broad panel of 190 group M HIV envelope viruses (Bar et al., 2016). A clinical study found that among six ART-treated volunteers with undetectable plasma viremia, two infusions of VRC01 did not reduce the peripheral blood cell-associated virus reservoir. In contrast, six out of eight ART-untreated, viremic subjects infused with a single dose of VRC01 experienced a 1.1 to 1.8 log¹⁰ reduction in plasma viremia. Results showed that a single infusion of VRC01 significantly decreased plasma viremia and preferentially suppressed neutralization-sensitive virus strains (Lynch et al., 2015).

In another clinical study, volunteers under ART were randomized to receive two infusions of VRC01. The first group involved a VRC01 infusion of 40 mg/kg at entry and week 3, with two infusions of placebo at weeks 6 and 9. Meanwhile, the second group received two infusions of placebo at entry and week 3, with two infusions of VRC01 at weeks 6 and 9. Results showed that VRC01 infusions were safe and well tolerated but did not affect plasma viremia, cellular HIV-1 RNA/DNA levels, or stimulated virus production from CD4+ T cells (Riddler et al., 2018).

On the other hand, in two open-label trials, twenty-four volunteers underwent ART interruption. Results showed that VRC01 slightly delayed plasma viral rebound but did not maintain viral suppression by week 8. Resistance to VRC01 was common in both trials, which might suggest that people with chronic infection may bear resistant virus to VRC01, which might be a considerable challenge (Bar et al., 2016).

Artículos

Table 1. Number of published and unpublished clinical trials evaluating bNAbs in HIV-1 infected individuals (National Library of Medicine, 2020; EU Clinical Trials Register, 2020).

bNAbs	Target	Number of clinical trials with published results	Identifier of published clinical trials	Number of clinical trials with unpublished results	Identifier of unpublished clinical trials
VRC01	CD4+bs	5	NCT01950325, NCT02411539, NCT02463227, NCT02471326, NCT02664415.	3	NCT03729752, NCT03036709, NCT02591420.
3BNC117	CD4+bs	3	NCT02018510, NCT02446847, NCT02588586.	9	NCT04560569, NCT03719664, NCT03468582, NCT03254277, NCT03063788, NCT03041012, 2015-005238-23, 2015-002234-53, NCT02850016.
10-1074	V3 loop	1	NCT02511990.	1	NCT04340596.
PGT121	V3 loop	0	NA	1	NCT02960581.
3BNC117 and 10-1074	CD4+bs and V3 Loop	1	NCT02825797.	6	NCT03837756, 2018-001165-16, NCT03571204, NCT03554408, NCT03526848, NCT03588715.
3BNC117-LS and 10-1074-LS	CD4+bs and V3 Loop	0	NA	1	NCT04250636
VRC01 and 10-1074	CD4+bs and V3 Loop	0	NA	1	NCT03831945.
VRC07-523LS and PGT121	CD4+bs and V3 Loop	0	NA	1	NCT04144335.
PGT121, VRC07-523LS and PGDM1400	V3 loop, CD4+bs and V3 loop	0	NA	2	NCT03721510, NCT03205917.

In a trial also involving ART interruption, fourteen subjects were randomly assigned to a VRC01 group and five to a placebo group. VCR01 was administered at a dose of 40mg/kg intravenously every 3 weeks for up to 24 weeks. All volunteers underwent ART interruption except for one participant who experienced severe generalized urticaria during the first study infusion and did not complete the infusion. Final results showed that only one participant achieved viral suppression 24 weeks after ART interruption (Crowell et al., 2019). Beside the previously described clinical trials, as of October 28th, 2020, three more studies fit into the inclusion criteria that have yet to publish results (Table 1).

On the other hand, another broadly neutralizing HIV-1 antibody directed against the CD4+ binding site is 3BNC117. This bNAb has shown promising results because of its ability to neutralize 195 out of 237 HIV-1 strains. One study by The Rockefeller University reported that a single 30 mg/kg infusion of 3BNC117 reduced the viral load in

days. Results showed that some individuals remained sensitive to 3BNC117 for a period of 28 days (Caskey et al., 2015).

An open label study involving 13 volunteers with 3BNC117-sensitive virus outgrowth cultures were studied in the setting of analytical treatment interruption. Results showed that two or four 30mg/kg infusions of 3BNC117, separated by 3 or 2 weeks respectively, were well tolerated. The infusions were associated with a delay in viral rebound for 5-9 weeks after two infusions, and up to 19 weeks after four infusions. 30% of volunteers remained suppressed until antibody concentrations decreased below 20µg/ml. In addition, only one individual showed resistance to 3BCN117 (Scheid et al., 2016).

A different clinical trial evaluated the effects of four infusions of 3BNC117 to prevent or delay viral load rebound during a brief ART interrupting treatment. Volunteers received 30 mg/kg of 3BNC117 on weeks 0, 12, 24, and 27. The circulating reservoir was determined by quantitative and qualitative viral outgrowth assay (Q2VOA) at entry and after 6 months.

Results showed that viruses emerging during interruption of antiretroviral therapy were not the dominant species found in the circulating latent reservoir but were recombinants of latent viruses (Cohen et al., 2018). As of October 28th, 2020, nine more studies fit into the inclusion criteria that have yet to publish results (*Table 1*).

V1/V2 Loop

gp120 is a glycoprotein found on the membrane of HIV, composed by five hypervariable regions (V1-V5). This molecule is indispensable for the virus's entry to the host's cell, and it is usually a target for the immune system (Yao et al., 2015). The first and second variable regions (V1-V2) of gp120 play a vital role in modulating the virus's ability to recognize the host's cell receptors, as well as binding with the viral protein Tat (Yokoyama et al., 2016; Cardaci et al., 2013). The regions are also common targets for bNAbs like PGDM1400, CAP256 and PG9 (Stephenson & Barouch, 2016; Mahomed et al., 2020; Sok & Burton, 2018).

CAP256 is an bNAb isolated from an HIV-1 infected individual from South Africa and has demonstrated a high potency in neutralizing the viruses' C and A subtypes. On the other hand, PGDM1400 has displayed extraordinary breadth and potency, especially when combined with PGT121 (Stephenson & Barouch, 2016). Although research has been conducted to understand the effect of these V1/V2 dependent bNAbs in animals and healthy humans, there has not been any publications describing their effects on HIV-1 infected individuals (Priddy et al., 2019; van der Velden et al., 2018; Julg et al., 2017). Most clinical trials involving V1/V2 dependent bNAbs evaluate their effect by combining them with other antibodies.

V3 Loop

For HIV-1 to enter a cell, two regions of its glycoprotein gp120 must interact with proteins found in the host cell's surface: the CD4+ binding site, and the chemokine receptor binding site. The interaction between gp120 and the CD4+ receptor will expose the third variable region (V3) of the glycoprotein, allowing it to bind to the chemokine receptors CCR5 and CXCR4. (Tamamis & Floudas,

2014; Zolla-Pazner et al., 2016) Studies have shown that some strains of HIV-1 have developed strategies to infect a cell without binding to CD4+ receptors. However, the virus's binding to the chemokine receptors has proven to be indispensable for its infectivity (Zolla-Pazner et al., 2016).

Because of the V3 loop's importance for the entry to the cell, it is usually a target for antibodies produced by the infected individual (Zolla-Pazner et al., 2016). In recent years, several lineages have been discovered, such as 10-1074, PGT121, and PGT128 (Sok & Burton, 2018).

The 10-1074 is one of the most potent anti-HIV-1 neutralizing antibodies discovered to this day, and different studies are currently investigating its effect on HIV-1 infected individuals (Mendoza et al., 2018; Bar-On et al., 2018). A phase 1 clinical trial determined the safety and activity of 10-1074 in fourteen uninfected and nineteen infected individuals. The human subjects received a single intravenous infusion of the antibody at doses of 3, 10, or 30 mg/kg. The antibody proved to be generally safe and well-tolerated by all participants, and no serious adverse effects were observed during a follow-up period of 168 days. Thirteen of the HIV-1 positive individuals were administered the highest dose of 30 mg/kg; eleven of them showed a quick decline in viremia, by a mean of 1.52 log¹⁰ copies/ml (Caskey et al., 2017).

There are currently nineteen clinical trials studying the effects of 10-1074 in HIV-1. However, only one of them falls into the inclusion criteria described in this article. This study is a phase 1 clinical trial sponsored by the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) that aims to study the safety, tolerability, and efficacy of IL-15 Superagonist (N-803) with and without the combination of bNAbs to induce HIV-1 control during analytic treatment interruption (*Table 1*). As of October 28th, 2020, this study has not published any results.

PGT121 is a bNAb that was first isolated in 2011 from an African donor that targets the V3 Loop on the HIV-1 envelope. However, studies suggest that this antibody works differently from other V3 specific antibodies, since it inhibits the binding of CD4+ to gp120 (Stephenson & Barouch, 2016). PGT121 has shown successful results in trials

with humanized mice and non-human primates, but no data has been released describing its effect in humans infected with HIV-1 (Stephenson & Barouch, 2016; Mahomed et al., 2020; Sok & Burton, 2018; Kumar et al., 2018).

There are currently eight clinical trials studying PGT121, but only one that fits into the inclusion criteria previously described. This is a phase 1 clinical trial sponsored by International AIDS Vaccine Initiative that will study the safety and antiviral activity of PGT121 in both HIV-uninfected and HIV-infected adults (*Table 1*).

Combination of bNAbs

A combination of bNAbs that target different glycoprotein sites on the HIV envelope have shown promising results and have the potential to be considered as effective therapy and prevention agents. (Yubin et al., 2020) Two of the most combined bNAbs have been the V3 glycan dependent 10-1074 and the CD4+ binding antibody 3BNC117. Their combination has proven to be more successful than either antibody by itself (Bar-On et al., 2018).

One study revealed that the administration of a combination of the two antibodies resulted in the reduction of the viral load in most of its subjects. In this study, seven individuals received a single intravenous infusion of 3BNC117, and 10-1074 at a dose of 30 mg kg⁻¹ per antibody, or three infusions of 30mgkg⁻¹ per antibody every 2 weeks. These administrations were well tolerated by the individuals who received them. The combination of these antibodies also reduced the HIV-1 viral load in four of the individuals to a mean of 2.05 log¹⁰ copies per ml. Also, none of the individuals in this study developed resistance to either antibody (Bar-On et al., 2018).

As of October 28th, 2020, there are seven clinical trials that seek to evaluate the effect of combining 3BNC117, and 10-1074 on HIV-1 infected individuals. Furthermore, there are four clinical trials that are currently studying the effects of combining bNAbs that target different glycoprotein sites (*Table 1*).

bNAbs challenges in HIV-1 Therapy

Even though clinical trials have proven that bNAbs have the ability to reduce viremia and suppress the viral load (*Table 2*), different challenges have emerged with this therapy. Clinical trials have shown that viremia can only be suppressed for a short period of time, mainly because bNAbs have shown an average half-life of 10 days, or even shorter in HIV-1 infected patients. However, increasing the potency and half-life of the bNAbs could result in a longer viremic suppression (Liu et al., 2020).

On the other hand, a complete immunization has not been successful due to the high genetic diversity of the target sites on the HIV-1 envelope glycoproteins, causing resistant strains (Harada & Yoshimura, 2017). Clinical studies have described that subjects with little to no response, carry resistant viruses as their dominant population pre-infusion. Nonetheless, some subjects with relatively sensitive viral variants, have shown viral rebound with resistant viruses post-infusion (Lynch et al., 2015; Liu et al., 2020). This could be the result of pre-existing resistant variants, or the development of mutations by the sensitive variants. Nevertheless, pre-clinical studies administering a cocktail of bNAbs with different target sites have proven to effectively interrupt viremia for two months as well as reducing viral resistance mutations (Liu et al., 2020).

Another complication involving bNAbs therapy involves the virus's ability to infect other cells via cell-to-cell transmission. Although studies have demonstrated that cell-to-cell dissemination is less sensitive to ART, the inhibiting effect of bNAbs is less clear. Studies have implied that the ability of bNAbs to reduce cell-to-cell transmission in HIV-1 varies, depending on their mechanism of action and virus strains (Liu et al., 2020).

As challenging as the last issues may seem, HIV's main obstacle continues to be its latent reservoir integrated within the host's cellular DNA. Although the reservoir has proven to be resistant to ART and to the host's immune system, there is some uncertainty about the effects bNAbs could have over it. Additional studies are needed to establish whether bNAbs could effectively target the reservoir (Churchill et al., 2015; Liu et al., 2020).

Artículos

Table 2. Clinical Trials with published results studying bNAbs to Treat HIV-1 infected individuals.

bNAbs	Target	Identifier	Scientific Title	Participants	Results
VRC01	CD4+bs	NCT01950325	VRC 601: A Phase I, Open-Label, Dose-Escalation Study of the Safety and Pharmacokinetics of a Human Monoclonal Antibody, VRC HIVMAB060-00-AB (VRC01), With Broad HIV-1 Neutralizing Activity, Administered Intravenously or Subcutaneously to HIV-Infected Adults	27 HIV-1 infected adults, both male and female.	A single dose of VRC01 notably reduced plasma viremia and suppressed neutralization-sensitive virus strains. The infusion was well tolerated and long lasting in subjects on and off ART. Plasma virus load significantly reduced in subjects with circulating VRC01 sensitive strain. Although, it should be noted that VRC01 did not decrease cell associated virus load in subjects receiving ART. All together, viral loads returned to baseline as soon as VRC01 concentrations decreased (Lynch et al., 2015).
VRC01	CD4+bs	NCT02411539	A Phase I Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Effect of a Human Monoclonal Antibody, VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01), on Markers of HIV Persistence in ART-treated, HIV-infected Adults	40 HIV-1 infected adults, both male and female.	VRC01 infusions were safe and well tolerated but didn't alter plasma viremia, HIV-1 DNA/RNA levels or prompt virus production from CD4+ cells. It is important to note that two subjects developed grade 2 rash and grade 1 pruritus and three individuals experienced flu-like symptoms after the infusion (Riddler et al., 2018).
VRC01	CD4+bs	NCT02463227	A Phase I, Open-Label Study of the Safety, Pharmacokinetics, and Antiviral Activity of a Human Monoclonal Antibody, VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01), With Broad HIV-1 Neutralizing Activity, Administered Intravenously to HIV-Infected Adults Undergoing a Brief Analytical Treatment Interruption	14 HIV-1 infected male adults.	The administration of VRC01 generated high plasma concentrations of the bNAb, and did not show any safety concerns. However, the infusion did not produce a durable suppression of viremia. 12 of the individuals presented viral rebound before 8 weeks, with a medium time viral rebound of 4 weeks. Only one participant showed viral rebound until week 11. Viral resistance was detected, and viral sensitivity to VRC01 decreased significantly post-infusion (Bar et al., 2016).
VRC01	CD4+bs	NCT02471326	An Exploratory, Open-Label Study of VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01) in Subjects With Chronic HIV Infection Undergoing Analytical Treatment Interruption	10 HIV-1 infected adults, both male and female.	The administration of VRC01 proved to be safe and well tolerated, and generated high plasma concentrations of the bNAb. Nevertheless, the infusion did not produce a durable suppression of viremia. All 10 individuals showed viral rebound, with a medium time at 5.6 weeks. Viral resistance was detected, and viral sensitivity to VRC01 decreased significantly post-infusion (Bar et al., 2016).
VRC01	CD4+bs	NCT02664415	Safety and Therapeutic Efficacy of the Broadly Neutralizing HIV-1 Specific Monoclonal Antibody VRC01 During Analytical Treatment Interruption in Patients Who Initiated Antiretroviral Therapy During Early Acute HIV Infection	23 HIV-1 infected male adults.	VRC01 infusion delayed viral rebound. This bNAb was found safe when administered during ART interruption but did not notably affect the proportion of individuals with viral suppression at 24 weeks after ART interruption. It is important to note that one subject experienced severe generalized urticaria after the first infusion (Crowell et al., 2019).
3BNC117	CD4+bs	NCT02018510	A Phase 1, Open Label, Dose-escalation Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of 3BNC117 Monoclonal Antibody in HIV-infected and HIV-uninfected Volunteers	49 HIV-1 infected and uninfected adults, both male and female.	An escalated dose of 3BNC117 up to a 30 mg/kg single infusion was well tolerated and demonstrated a viral load reduction for 28 days, without returning to pre-infusion levels during an observation period of 56 day. However, in some individuals HIV-1 develops higher resistance to this bNAb at 28 days after a single dose, while in others it does not. Also, it's important to mention that 3BNC117 has a higher decay rate in infected individuals than in uninfected individuals (Caskey et al., 2015).
3BNC117	CD4+bs	NCT02446847	A Phase 2, Open Label Study of the Safety, Antiretroviral Activity and Pharmacokinetics of 3BNC117 During a Short Analytical Treatment Interruption in HIV-infected Subjects	13 HIV-1 infected adults, both male and female.	Up to four 30 mg/kg infusions of 3BNC117 during analytical treatment interruption (ATI) proved to be safe and well tolerated. Some mild adverse effects such as rhinorrhea or cough, malaise, headache, diarrhea, myalgia, chills and feverishness (among others) were reported. All group A individuals maintained viral loads below 200 copies/ml, and showed viral rebound 5-9 weeks after ART interruption. Group B individuals showed viral rebound between 3-19 weeks after ATI. A majority of the participants (8/13) presented rebound viruses that were more resistant to 3BNC117. However, four of the participants did not show any change in viral sensitivity for 3BNC117 between pre- and post-infusion (Scheid et al., 2016).
3BNC117	CD4+bs	NCT02588586	An Open Label, Phase 2 Study of the Safety and Antiretroviral Activity of 3BNC117 in HIV-Infected Individuals on Combination Antiretroviral Therapy	15 HIV-1 infected adults, both male and female.	The infusion with 3BNC117 proved to be safe and well tolerated. However 29 adverse effects that were possibly related to 3BNC117, were reported. Although there was one report of a severe case of ecchymosis at the infusion site, most of the effects were mild cases of malaise, headache, diarrhea, chills, nausea, abdominal pain and dizziness (among others). The effects of 3BNC117 on the latent reservoir were examined, but it was concluded that two doses of the bNAb over 23 weeks in ART suppression does not reduce the size of the latent reservoir. Viral rebound was detected between 2-17 weeks after ART interruption, with a mean time of 5.5 weeks. Rebound viruses presented amino acid variants in the 3BNC117 binding site (Cohen et al., 2018).
10-1074	V3 loop	NCT02511990	A Phase 1, Open Label, Dose-escalation Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of 10-1074 Monoclonal Antibody in HIV-infected and HIV-uninfected Individuals	33 HIV-1 infected and uninfected adults, both male and female.	A single intravenous infusion of 10-1074 at doses 3, 10, and 30 mg/kg was safe and well tolerated without any adverse event. A half-life of 12.8 and 24 days was reported in infected and uninfected individuals, respectively. Individuals who received the 30 mg / kg dose showed a rapid decrease in HIV-1 RNA levels, especially in 10-1074-sensitive participants. Viremia decrease was significant from day 3 to day 27 post-infusion (Caskey et al., 2017).
3BNC117 + 10-1074	CD4+bs and V3 Loop	NCT02825797	A Phase 1b Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of the Combination of 3BNC117 and 10-1074 in HIV-infected Individuals	34 HIV-1 infected adults, both male and female.	Individuals received three infusions of 3BNC117 and 10-1074 (30 mg/kg per antibody) every two weeks, or a single intravenous infusion (30 mg/kg per antibody). Administration of both bNAbs was well tolerated, with no serious adverse events observed. Participants who have received either one or three infusions of the combination of both bNAbs revealed prolonged viral suppression, compared to a single infusion of each bNAb individually. The immunotherapy in four individuals who showed a dual antibody-sensitive virus remained viral load reduced for 3 months after the first infusion (Bar-On et al., 2018).

Lastly, production and distribution costs also pose an obstacle for bNAbs since biological molecules are far more expensive than chemical molecules such as ART. However, because of the exponential advances in science during the last years, new strategies are being investigated to reduce considerably the cost of production of bNAbs, with the expectation that they will one day be more accessible than other traditional therapies (Cohen & Caskey, 2018).

Even though different challenges have emerged with bNAbs therapy, they may offer several advantages over ART for both preventing and treating HIV-1 infected patients. These could also be a safer and less toxic alternative due to its pharmacokinetic profile. It is important to understand the obstacles faced by this therapy, in order to develop new strategies to improve its function. bNAbs' should undergo certain engineering modifications in order to increase their breadth and potency. However, more studies need to be done on this matter (Cohen & Caskey, 2018).

Concluding remarks

There have been very few published papers describing the effect of bNAbs as an HIV-1 treatment. However, the few clinical studies have shown that these antibodies have both positive and negative results. The bNAbs have proven to be safe and well tolerated, but not as effective as hoped. Some of the challenges that have arisen involve transitory suppression of viremia, viral resistance, cell-to-cell transmission by the virus, the undetermined effect over the HIV-1 reservoir and high costs of bNAbs production. However, the development of new strategies such as the combination of bNAbs and engineered modifications could be possible solutions for these issues. Most of the clinical trials have focused on the combination of 3BNC117 and 10-1074, which have proven to be more effective when used together than by themselves. bNAbs have the potential to reshape the current HIV-1 treatment strategies, although more studies need to be done to ensure a safe and effective treatment.

Acknowledgement

We thank all participants who devoted time and effort into this documentary research.

We also thank Dr. Emma Herrera and Dr. Elisa García for their useful suggestions.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Authors' Contribution

Anapaula Gonzalez, Andrea Güemez and Ana Elena Hernández contributed equally to this work.

References

- Bhatti A, Usman M, Kandi V (2016) Current Scenario of HIV/AIDS: Treatment Options, and Major Challenges with Compliance to Antiretroviral Therapy. *Cureus* 8(3): e515. DOI: 10.7759/cureus.515
- Jaworski J, Vendrell A, Chiavenna S (2017) Neutralizing Monoclonal Antibodies to Fight HIV-1: On the Threshold of Success. *Frontiers in Immunology*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00661>
- UNAIDS. AIDS Data Book. (https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_aids-data-book_en.pdf)
- Chwiki S, Campos M, McLaughlin M, Kleiner D, Kovacs J, Morse C et al. (2017) Adverse effects of antiretroviral therapy on liver hepatocytes and endothelium in HIV patients: An ultrastructural perspective. *Ultrastructural Pathology* 41(2), 186-195, DOI: 10.1080/01913123.2017.1282066.
- Caskey M, Klein F, Nussenzweig M. (2019) Broadly neutralizing anti-HIV-1 monoclonal antibodies in the clinic. *Nature Medicine* 25(4):547-553.
- Santos M, Quintilio W, Manieri T, Tsuruta L, Moro A. (2018) Advances and challenges in therapeutic monoclonal antibodies drug development. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*

- 54(spe), <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000001007>
- Chen, W, Dimitrov D. S. (2009) Human monoclonal antibodies and engineered antibody domains as HIV-1 entry inhibitors. *Current opinion in HIV and AIDS* 4(2), 112–117. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e328322f95e>
- Lu, RM., Hwang, YC., Liu, IJ. et al. (2020) Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci* 27(1). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>
- Awi N, Teow S (2018) Antibody-Mediated Therapy against HIV/AIDS: Where Are We Standing Now?. *Journal of Pathogens*. 2018:1-9.
- Burton D, Barbas C, Persson M, Koenig S, Chanock R, Lerner R (1991) A large array of human monoclonal antibodies to type 1 human immunodeficiency virus from combinatorial libraries of asymptomatic seropositive individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88(22):10134-10137.
- Koethe, J.R., Lagathu, C., Lake, J.E. et al. (2020) HIV and antiretroviral therapy-related fat alterations. *Nat Rev Dis Primers* 6(48). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0181-1>
- Liu Y, Cao W, Sun M, Li T (2020) Broadly neutralizing antibodies for HIV-1: efficacies, challenges and opportunities. *Emerging Microbes & Infections* 9(1):194-206. doi:10.1080/22221751.2020.1713707
- Sok D, Burton D. (2018) Recent progress in broadly neutralizing antibodies to HIV. *Nature Immunology* 19(11):1179-1188.
- Zhang Z, Guan Q, Yuan H. (2016) HIV-1 Broadly Neutralizing Antibodies: Identification, Development and Vaccine Evaluation. *Journal of AIDS & Clinical Research* 7(12). DOI: 10.4172/2155-6113.1000636
- Shcherbakov DN, Bakulina AY, Karpenko LI, Ilyichev AA. (2015) Broadly Neutralizing Antibodies against HIV-1 As a Novel Aspect of the Immune Response. *Acta Naturae*.7(4):11-21. DOI: 10.32607/20758251-2015-7-4-11-21
- Mahomed S, Garrett N, Baxter C, Abdool Karim Q, Abdool Karim S. (2020) Clinical Trials of Broadly Neutralizing Monoclonal Antibodies for Human Immunodeficiency Virus Prevention: A Review. *The Journal of Infectious Diseases*.
- Yubin Liu, Wei Cao, Ming Sun & Taisheng Li (2020) Broadly neutralizing antibodies for HIV-1: efficacies, challenges and opportunities. *Emerging Microbes & Infections* 9:1, 194-206, DOI: 10.1080/22221751.2020.1713707
- Zhou P, Wang H, Fang M, Li Y, Wang H, Shi S et al. (2019) Broadly resistant HIV-1 against CD4-binding site neutralizing antibodies. *PLOS Pathogens* 15(6):e1007819. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007819>
- Fisher R, Bertonis J, Meier W, Johnson V, Costopoulos D, Liu T et al. (1988) HIV infection is blocked in vitro by recombinant soluble CD4. *Nature* 331(6151):76-78. DOI: 10.1038/331076a0
- Bar K, Sneller M, Harrison L, Justement J, Overton E, Petrone M et al. (2016) Effect of HIV Antibody VRC01 on Viral Rebound after Treatment Interruption. *New England Journal of Medicine* 375(21):2037-2050. DOI: 10.1056/NEJMoa1608243
- Lynch R, Boritz E, Coates E, DeZure A, Madden P, Costner P et al.(2015) Virologic effects of broadly neutralizing antibody VRC01 administration during chronic HIV-1 infection. *Science Translational Medicine* 7(319):319ra206-319ra206. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad5752
- Riddler S, Zheng L, Durand C, Ritz J, Koup R, Ledgerwood J et al. (2018) Randomized Clinical Trial to Assess the Impact of the Broadly Neutralizing HIV-1 Monoclonal Antibody VRC01 on HIV-1 Persistence in Individuals on Effective ART. *Open Forum Infectious Diseases* 5(10). DOI: 10.1093/ofid/ofy242

- Crowell T, Colby D, Pinyakorn S, Sacdalan C, Pagliuzza A, Intasan J et al. (2019) Safety and efficacy of VRC01 broadly neutralising antibodies in adults with acutely treated HIV (RV397): a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet HIV* 6(5):e297-e306. DOI: 10.1016/S2352-3018(19)30053-0
- Caskey M, Klein F, Lorenzi J, Seaman M, West A, Buckley N et al. (2015) Viraemia suppressed in HIV-1-infected humans by broadly neutralizing antibody 3BNC117. *Nature* 522(7557):487-491. DOI: 10.1038/nature14411
- Scheid J, Horwitz J, Bar-On Y, Kreider E, Lu C, Lorenzi J et al. (2016) HIV-1 antibody 3BNC117 suppresses viral rebound in humans during treatment interruption. *Nature* 535(7613):556-560. DOI: 10.1038/nature18929
- Cohen Y, Lorenzi J, Krassnig L, Barton J, Burke L, Pai J et al. (2018) Relationship between latent and rebound viruses in a clinical trial of anti-HIV-1 antibody 3BNC117. *Journal of Experimental Medicine* 215(9):2311-2324. doi: 10.1084/jem.20180936
- Yao N, Zhang C, Liu Q, Liu J, Zhang C. (2015) Polymorphism characteristics of HIV-1 gp120 and 5 hypervariable regions. *Turkish Journal of Medical Sciences* 45:47-54. DOI: 10.3906/sag-1307-132
- Yokoyama M, Nomaguchi M, Doi N, Kanda T, Adachi A, Sato H. (2016) In silico Analysis of HIV-1 Env-gp120 Reveals Structural Bases for Viral Adaptation in Growth-Restrictive Cells. *Frontiers in Microbiology*; 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00110>
- Cardaci S, Soster M, Bussolino F, Marchiò S. (2013) The V1/V2 loop of HIV-1 gp120 is necessary for Tat binding and consequent modulation of virus entry. *FEBS Letters* 587(18):2943-2951 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.07.039
- Stephenson K, Barouch D. (2016) Broadly Neutralizing Antibodies for HIV Eradication. *Current HIV/AIDS Reports* 13(1):31-37.
- Priddy FH, Lewis DJM, Gelderblom HC, et al. (2019) Adeno-associated virus vectored immunoprophylaxis to prevent HIV in healthy adults: a phase 1 randomised controlled trial [published correction appears in *Lancet HIV*. 2019 Apr 3;:]. *Lancet HIV* 6(4):e230-e239. doi:10.1016/S2352-3018(19)30003-7
- van der Velden YU, Villaudy J, Siteur-van Rijnstra E, van der Linden CA, Frankin E, Weijer K, Schermer E, Vink MA, Berkhout B, Sanders RW, van Gils MJ. (2018) Short Communication: Protective Efficacy of Broadly Neutralizing Antibody PGDM1400 Against HIV-1 Challenge in Humanized Mice. *AIDS Res Hum Retroviruses* 34(9):790-793. doi: 10.1089/AID.2018.0114.
- Julg B, Tartaglia LJ, Keele BF, et al. (2017) Broadly neutralizing antibodies targeting the HIV-1 envelope V2 apex confer protection against a clade C SHIV challenge. *Sci Transl Med*. 9(406):eaal1321. doi:10.1126/scitranslmed.aal1321
- Tamamis P, Floudas C. (2014) Molecular Recognition of CCR5 by an HIV-1 gp120 V3 Loop. *PLoS ONE* 9(4):e95767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095767>
- Zolla-Pazner S, Cohen SS, Boyd D, Kong X-P, Seaman M, Nussenzweig M, Klein F, Overbaugh J, Totrov M (2016) Structure/function studies involving the V3 region of the HIV-1 envelope delineate multiple factors that affect neutralization sensitivity. *J Virol* 90:636–649. DOI:10.1128/JVI.01645-15.
- Mendoza P, Gruell H, Nogueira L, Pai J, Butler A, Millard K et al. (2018) Combination therapy with anti-HIV-1 antibodies maintains viral suppression. *Nature* 561(7724):479-484. doi: 10.1038/s41586-018-0531-2
- Bar-On Y, Gruell H, Schoofs T, Pai J, Nogueira L, Butler A et al. (2018) Safety and antiviral activity of combination HIV-1 broadly neutralizing antibodies in viremic individuals. *Nature Medicine*

Artículos

- 24(11):1701-1707. doi: 10.1038/s41591-018-0186-4.
- Caskey M, Schoofs T, Gruell H, Settler A, Karagounis T, Kreider E et al. (2017) Antibody 10-1074 suppresses viremia in HIV-1-infected individuals. *Nature Medicine* 23(2):185-191. doi: 10.1038/nm.4268.
- Kumar R, Qureshi H, Deshpande S, Bhattacharya J. (2018) Broadly neutralizing antibodies in HIV-1 treatment and prevention. *Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy*. 6(4):61-68. doi: 10.1177/2515135518800689
- Harada S., & Yoshimura, K. (2017). Driving HIV-1 into a Vulnerable Corner by Taking Advantage of Viral Adaptation and Evolution. *Frontiers in Microbiology*, 08. doi:10.3389/fmicb.2017.00390
- Churchill MJ, Deeks SG, Margolis DM, Siliciano RF, Swanstrom R. (2015) HIV reservoirs: what, where and how to target them. *Nat Rev Microbiol*.14(1):55-60. doi: 10.1038/nrmicro.2015.5. Epub 2015 Nov 30. PMID: 26616417.
- Cohen Y, Caskey M. (2018) Broadly neutralizing antibodies for treatment and prevention of HIV-1 infection. *Current Opinion in HIV and AIDS*.13(4):366-373.
- National Library of Medicine (US). (2013, August 22 - 2015, August 20). VRC 601: A Phase I, Open-Label, Dose-Escalation Study of the Safety and Pharmacokinetics of a Human Monoclonal Antibody, VRC HIVMAB060-00-AB (VRC01), With Broad HIV-1 Neutralizing Activity, Administered Intravenously or Subcutaneously to HIV-Infected Adults. Identifier: NCT01950325. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01950325>
- National Library of Medicine (US). (2015, August 25 - 2016, September 29). A Phase I Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Effect of a Human Monoclonal Antibody, VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01), on Markers of HIV Persistence in ART-treated, HIV-infected Adults. Identifier: NCT02411539. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02411539>
- National Library of Medicine (US). (2015, August - 2016, October). A Phase I, Open-Label Study of the Safety, Pharmacokinetics, and Antiviral Activity of a Human Monoclonal Antibody, VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01), With Broad HIV-1 Neutralizing Activity, Administered Intravenously to HIV-Infected Adults Undergoing a Brief Analytical Treatment Interruption. Identifier: NCT02463227. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02463227>
- National Library of Medicine (US). (2015, July 13 - 2017, April 7). An Exploratory, Open-Label Study of VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01) in Subjects With Chronic HIV Infection Undergoing Analytical Treatment Interruption. Identifier: NCT02471326. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02471326>
- National Library of Medicine (US). (2016, August - 2017, August 4). Safety and Therapeutic Efficacy of the Broadly Neutralizing HIV-1 Specific Monoclonal Antibody VRC01 During Analytical Treatment Interruption in Patients Who Initiated Antiretroviral Therapy During Early Acute HIV Infection. Identifier: NCT02664415. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02664415>
- National Library of Medicine (US). (2018, November 1 - 2020, October 31). PET Imaging of Radiolabeled Anti-HIV-1 Envelope Monoclonal Antibody (VRC01). Identifier: NCT03729752. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03729752>
- National Library of Medicine (US). (2016, August - 2019, September). Safety and Therapeutic Efficacy of the Broadly Neutralizing HIV-1 Specific Monoclonal Antibody VRC01 During Analytical Treatment Interruption in Patients Who Initiated Antiretroviral Therapy During Early Acute HIV Infection. Identifier: NCT03036709.

- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03036709>
- National Library of Medicine (US). (2016, April -). Safety and Virologic Effect of a Human Monoclonal Antibody, VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01), With Broad HIV-1 Neutralizing Activity, Administered Intravenously to Adults During Early Acute HIV Infection. Identifier: NCT02591420. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02591420>
- National Library of Medicine (US). (2014, January - 2016, January). A Phase 1, Open Label, Dose-escalation Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of 3BNC117 Monoclonal Antibody in HIV-infected and HIV-uninfected Volunteers. Identifier: NCT02018510. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02018510>
- National Library of Medicine (US). (2015, March 11 - 2017, March 25). A Phase 2, Open Label Study of the Safety, Antiretroviral Activity and Pharmacokinetics of 3BNC117 During a Short Analytical Treatment Interruption in HIV-infected Subjects. Identifier: NCT02446847. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02446847>
- National Library of Medicine (US). (2015, October - 2018, April). An Open Label, Phase 2 Study of the Safety and Antiretroviral Activity of 3BNC117 in HIV-Infected Individuals on Combination Antiretroviral Therapy. Identifier: NCT02588586. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02588586>
- National Library of Medicine (US). (Estimated for 2021, April 30 -). A Multicenter, Two-Arm, 24-Week Study of Albuvirtide in Combination With 3BNC117 in Patients With Multi-Drug Resistant (MDR) HIV-1 Infection. Identifier: NCT04560569. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04560569>
- National Library of Medicine (US). (2018, December - 2020, October). A Phase 2, Multicenter, Three-part Study to Establish the Dosage, Safety and Antiviral Activity of Combination Therapy With Albuvirtide and 3BNC117 as Long-Acting Maintenance Therapy in Virologically Suppressed Subjects With HIV-1 Infection. Identifier: NCT03719664. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03719664>
- National Library of Medicine (US). (2018, February - 2020, January). Pilot Study Using 123I Radiolabeled 3BNC117 SPECT/CT to Image HIV Reservoir in Chronically Infected HIV Patients. Identifier: NCT03468582. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03468582>
- National Library of Medicine (US). (2017, September - 2020, December). A Phase 1 First-in-human Study of the Safety and Pharmacokinetics of 3BNC117-LS in HIV-infected and HIV-uninfected Individuals. Identifier: NCT03254277. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03254277>
- National Library of Medicine (US). (2018, September- 2020, April). Imaging the HIV Reservoir. Identifier: NCT03063788. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03063788>
- National Library of Medicine (US). (2017, January -). Early Administration of Latency Reversing Therapy and Broadly Neutralizing Antibodies to Limit the Establishment of the HIV-1 Reservoir During Initiation of Antiretroviral Treatment - a Randomized Controlled Trial. Identifier: NCT03041012. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03041012>
- EU Clinical Trials Register. (2016, October -). A phase 2a, randomized study of the combination of romidepsin and 3BNC117 to evaluate the effects on the HIV-1 reservoir (ROADMAP). Identifier: 2015-005238-23. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-005238-23>
- EU Clinical Trials Register. (2016, November -). Early administration of

Artículos

- anti-latency reversing therapy and broadly neutralizing antibodies to limit the establishment of the HIV-1 reservoir during initiation of antiretroviral treatment - a randomized controlled trial. Identifier: 2015-002234-53. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-002234-53>
- National Library of Medicine (US). (2017, January - 2020, December). A Phase 2a, Randomized Study of Romidepsin With or Without 3BNC117 to Evaluate the Effects on the HIV-1 Reservoir (ROADMAP). Identifier: NCT02850016. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02850016>
- National Library of Medicine (US). (2015, July - 2017, December). A Phase 1, Open Label, Dose-escalation Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of 10-1074 Monoclonal Antibody in HIV-infected and HIV-uninfected Individuals. Identifier: NCT02511990. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02511990>
- National Library of Medicine (US). (2020, July -). A Phase I Clinical Trial of the Safety, Tolerability, and Efficacy of IL-15 Superagonist (N-803) With and Without Combination Broadly Neutralizing Antibodies to Induce HIV-1 Control During Analytic Treatment Interruption. Identifier: NCT04340596. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04340596>
- National Library of Medicine (US). (2016, November - 2019, July). A Phase 1 Randomized Placebo-controlled Clinical Trial of the Safety, Pharmacokinetics and Antiviral Activity of PGT121 Monoclonal Antibody (mAb) in HIV-uninfected and HIV-infected Adults. Identifier: NCT02960581. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02960581>
- National Library of Medicine (US). (2016, June - 2018, August). An Phase 1b Study of the Safety, Pharmacokinetics and Antiretroviral Activity of the Combination of 3BNC117 and 10-1074 in HIV-infected Individuals. Identifier: NCT02825797. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02825797>
- National Library of Medicine (US). (2019, May-2021, February). Combining TLR9 Agonist With bNAbs for Reservoir Reduction and Immunological Control of HIV (TITAN). Identifier: NCT03837756. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03837756>
- EU Clinical Trials Register. (2018, November). Combining a TLR9 agonist with broadly neutralizing antibodies for reservoir reduction and immunological control of HIV infection: An investigator-initiated randomized, placebo-controlled, phase IIa. Identifier: 2018-001165-16. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2018-001165-16>
- National Library of Medicine (US). (2018, September- 2021, June). Combination Therapy With 3BNC117 and 10-1074 in HIV-Infected Individuals. Identifier: NCT03571204. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03571204>
- National Library of Medicine (US). (2018, June-2020, April). First-in-human Study of 10-1074-LS Alone and in Combination With 3BNC117-LS. Identifier: NCT03554408. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03554408>
- National Library of Medicine (US). (2018, May-2021, February). 3BNC117 and 10-1074 in ART-treated Individuals. Identifier: NCT03526848. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03526848>
- National Library of Medicine (US). (2018, July-2020, June). Peg-Interferon Alpha 2b Combined With Two Intravenous Broadly HIV-1 Neutralizing Antibodies 3BNC117 and 10-1074 (BEAT-2) (BEAT-2). Identifier: NCT03588715. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03588715>
- National Library of Medicine (US). (2020, January- 2020, August). 3BNC117-LS and 10-1074-LS in Viremic HIV-infected Individuals. Identifier: NCT04250636.

Artículos

- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04250636>
- National Library of Medicine (US). (2019, February- 2021, February). Combination Therapy With VRC-HIVMAB060-00-AB (VRC01) and 10-1074 in HIV-Infected Individuals Undergoing Sequential Treatment Interruptions. Identifier: NCT03831945. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03831945>
- National Library of Medicine (US). (2019, October- 2020, October). N-803 Combined with the Broadly Neutralizing Antibodies Plus or Minus haNK Cells for HIV. Identifier: NCT04144335. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04144335>
- National Library of Medicine (US). (2018, October- 2019, March). A Phase 1/2a Study of PGT121, VRC07-523LS and PGDM1400 Monoclonal Antibodies in HIV-uninfected and HIV-infected Adults. Identifier: NCT03721510. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03721510>
- National Library of Medicine (US). (2017, July-2020, September) A Clinical Trial of PGDM1400 and PGT121 and VRC07-523LS Monoclonal Antibodies in HIV-infected and HIV-uninfected Adults. Identifier: NCT03205917. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03205917>
- Kelsoe G, Harrison S, Kepler T. (2012). B-cell-lineage immunogen design in vaccine development with HIV-1 as a case study. *Nature biotechnology*. 30. 423-33. 10.1038/nbt.2197
- Stefic K, Bouvin-Pley M, Braibant M, Barin F. (2019) Impact of HIV-1 Diversity on Its Sensitivity to Neutralization. *Vaccines* 7(3):74.



www.smbb.com.mx