

## ANTIBIÓTICOS VS FAGOS ¿VIRUS AMIGOS?

por JUAN CARLOS CODINA ESCOBAR

COLABORADOR HONORARIO DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UMA. PROFESOR DE EESS EN EL IES SIERRA BERMEJA, AVENIDA RAMÓN Y CAJAL, 113. 29014, MÁLAGA

*Palabras clave:* bacteriófago, terapia con fagos, enzibióticos, exposición de fagos..

*Keywords:* bacteriophage, phage therapy, enzybiotics, phage display.

**Resumen:** La aparición de cepas bacterianas multirresistentes ha conllevado la pérdida de eficacia de los antibióticos. En la búsqueda de nuevas formas de lucha contra las enfermedades infecciosas de origen bacteriano una posible vía es el empleo de bacteriófagos, virus que parasitan y destruyen células bacterianas. La terapia con fagos, el empleo de enzibióticos o enzimas empleadas por los fagos en su relación con las bacterias y la exposición de fagos son tres posibles alternativas en esta lucha. Sin embargo, lo más lógico y eficaz es el uso combinado de antibióticos y fagos en la lucha contra las infecciones y enfermedades de origen bacteriano.

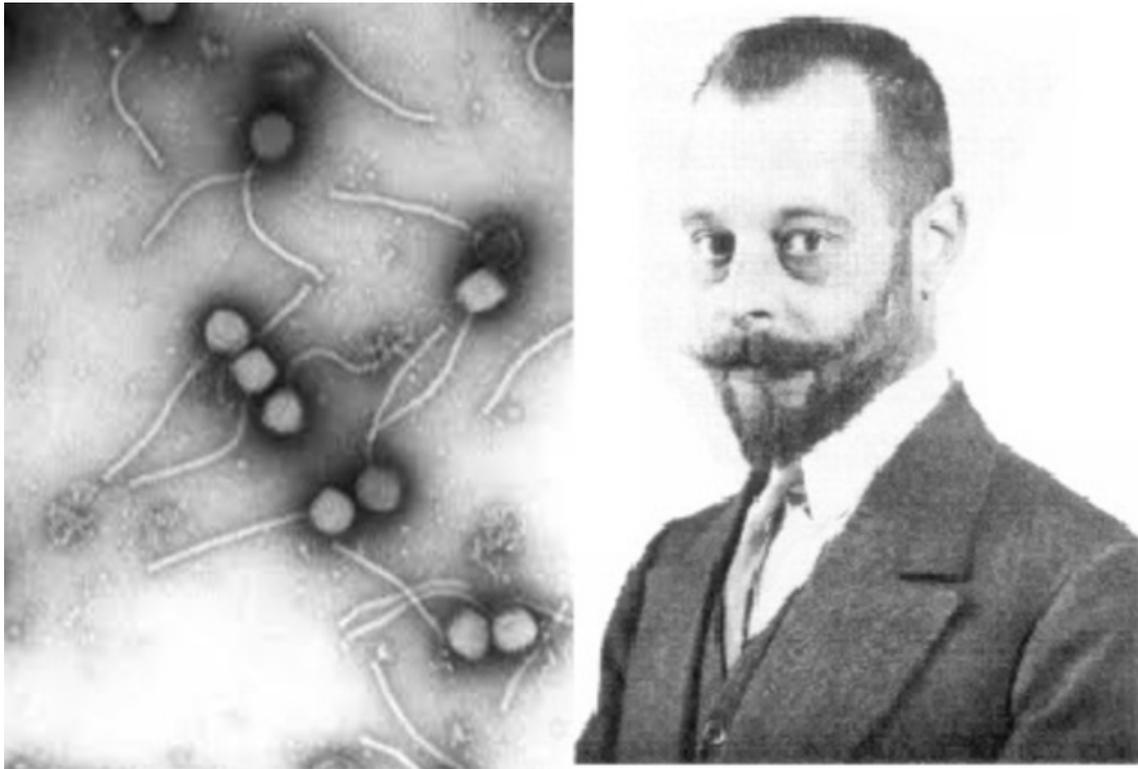
**Abstract:** *The emergence of multidrug-resistant bacterial strains has led to the loss of efficacy of antibiotics. In the search of new strategies to fight infectious diseases of bacterial origin, a possible way is the use of bacteriophages, viruses that parasitize and destroy bacterial cells. Phage therapy, the use on enzybiotics or enzymes used by phages in their relationship with bacteria, and phage display are three possible alternatives in this fight. However, the most logical and effective is the combined use of antibiotics and phages in the fight against infections and diseases of bacterial origin.*

Es escuchar la palabra virus y, sobre todo después de este período de pandemia por coronavirus, ver a la gente echarse a temblar. Pero no todos los virus son enemigos de la especie humana. Es más, algunos de ellos pueden convertirse en importantes aliados al complementar a los antibióticos en la lucha contra las enfermedades infecciosas de origen bacteriano. Nadie debería dudar que durante más de medio siglo desde su descubrimiento y aplicación los antibióticos han sido armas eficientes en la lucha contra las infecciones bacterianas. Pero en los últimos años, la aparición de bacterias multirresistentes a los antibióticos ha puesto en peligro esa lucha continua contra las enfermedades infecciosas, favoreciendo a nuestros enemigos, las bacterias patógenas multirresistentes.

Se ha hecho pues necesaria la búsqueda de nuevas armas para enfrentarse a las enfermedades infecciosas de origen bacteriano. A la producción de nuevos antibióticos específicos se han unido otras vías, entre las cuales destaca el empleo de bacteriófagos. Los virus no sólo infectan células eucariotas animales; también lo hacen con otras células, que incluyen a las bacterias e incluso a las arqueas. Los virus que infectan bacterias ocasionando su muerte se denominan bacteriófagos o fagos de forma más sencilla y fueron descubiertos en el siglo XX por Twort y

d'Hérelle de forma independiente<sup>[1]</sup>. Utilizar estos fagos como terapia contra las enfermedades infecciosas bacterianas suena bastante bien, dado que en principio no afectarían a las células eucariotas y sí a las procariotas.

En realidad, no sería algo novedoso. El propio d'Hérelle fundó en el año 1923 junto con su asistente George Eliava el *Instituto de bacteriófagos, Microbiología y Virología*, instituto que terminó adquiriendo la denominación de *Instituto Eliava* en la ciudad de Tbilisi, en la actual Georgia<sup>[2]</sup>. Durante la Segunda Guerra Mundial, de hecho, marcó la diferencia en cuanto a estrategia de aliados occidentales y miembros del Eje y Rusia en cuanto al tratamiento de las infecciones bacterianas subsiguientes a heridas de guerra. Mientras que los aliados occidentales se decantaron por el uso de antimicrobianos como los novedosos antibióticos penicilina y amoxicilina, los científicos alemanes abogaron por el estudio de los fagos, sin dejar de lado naturalmente los recién disponibles antibióticos. La falta de antimicrobianos indujo a que en Rusia, el anteriormente citado Instituto Eliava proporcionara a soldados rusos con heridas infectadas diversas combinaciones de fagos para tratar esas infecciones, gangrena e incluso enfermedades como el cólera<sup>[3]</sup>.



Los virus son los entes biológicos más abundantes en la biosfera, dado que puede considerárseles ubicuos al poder ser encontrados en todos los tipos de medio ambiente, incluidos los ambientes extremos como aguas termales e incluso volcanes, lagos de zonas polares y agua marina congelada<sup>[4]</sup>. También los organismos superiores somos hospedadores de diversos fagos, especialmente localizados en el tracto digestivo y respiratorio, vagina, boca y piel, formando lo que se ha denominado el fageoma<sup>[5]</sup>. Debido a su elevada presencia en nuestro cuerpo en cuanto a diversidad y cantidad, es posible que participen en el proceso de mantenimiento de nuestras características corporales, es decir, en la homeostasis. A ello podría unirse, pues, su uso en terapia frente a enfermedades infecciosas producidas por bacterias y de hecho ya se realiza con el nombre de terapia con fagos.

Los bacteriófagos presentan dos ciclos de vida relacionados, el ciclo lítico y el ciclo lisogénico. El ciclo lítico culmina con la muerte bacteriana tras la liberación de los viriones producidos. Por contra, el ciclo lisogénico se basa en la integración del material genético del fago en el material genético del hospedador, quedando en forma atemperada hasta que algún factor desencadene la vía lítica<sup>[6]</sup>. Así pues resulta lógico emplear en esta terapia con fagos a los que presentan un ciclo de vida lítico ya que producirán la muerte de la bacteria patógena a la que infecten. Si a ello le unimos que estos fagos presentan tiempos de replicación cortos, que producen una gran cantidad de viriones sólo en hospedadores específicos, lo que protegería a la microbiota autóctona y no patogénica;

y que su producción es rápida y de bajo coste económico, resultarían pues muy apropiados en la ‘guerra’ que mantenemos contra las bacterias patógenas. A ello habría que añadir su capacidad de coevolución con sus hospedadores, por lo que la aparición de posibles cepas bacterianas resistentes se vería eficazmente contrarrestada<sup>[7]</sup>.

En la investigación del uso de fagos como terapia frente a las enfermedades infecciosas, el mundo occidental anda algo retrasado con respecto a los países del este, principalmente Rusia. No obstante, en el año 2013 se estableció por parte de la Comisión Europea un proyecto con ensayos clínicos en humanos denominado *Phagoburn*, cuyo objetivo principal es el estudio del empleo de mezclas de fagos en el tratamiento de heridas por quemaduras, infectadas con *Escherichia coli* o *Pseudomonas aeruginosa*<sup>[8]</sup>. La terapia con fagos no solamente iría enfocada a la eliminación de bacterias patógenas, sino también contra aquellas bacterias que forman biopelículas, un factor de virulencia importante en las bacterias que producen infecciones. Otro uso interesante es el uso de los fagos como desinfectantes en áreas médicas o en instrumental clínico<sup>[9]</sup>.

Todo ello nos puede llevar a pensar que la terapia con fagos podría ser una panacea en la lucha contra las enfermedades infecciosas de origen bacteriano frente al empleo de antibióticos; pero lógicamente también presenta sus inconvenientes. Si analizamos los efectos positivos y negativos de su uso, uno de los primeros efectos beneficiosos tiene que ver con los efectos secundarios sobre el microbioma autóctono. Los

antibióticos tienen claros efectos negativos sobre el microbioma autóctono que puede ocasionar desequilibrios o incluso enfermedades. La elevada especificidad de los fagos vendría a solventar este problema dado que sólo actuarían sobre su hospedador bacteriano específico, en este caso la bacteria patógena. Otro aspecto beneficioso del uso de fagos es que pueden emplearse en zonas del cuerpo de difícil acceso para los antibióticos, como sería el caso del tratamiento de infecciones del sistema nervioso central. Por otro lado el coste del aislamiento y producción de fagos es mucho menor que el de los antibióticos que han de ser sintetizados en los laboratorios de las casas farmacéuticas<sup>[7]</sup>.

El aspecto beneficioso de la especificidad de los fagos supone también una limitación en su empleo en terapia contra enfermedades infecciosas, ya que antes de su utilización debería determinarse cuál es la bacteria que está causando la infección. Lo cual llevaría a una identificación previa que supondría un retraso en el empleo del tratamiento que habría que aplicar al paciente. La aplicación de una mezcla de diferentes fagos que aumentase su rango de acción podría ser una solución al problema. Quizás el aspecto más interesante es la capacidad de evolución de los fagos, una característica que los antibióticos, como sustancias estáticas, no pueden llevar a cabo<sup>[10]</sup>.

Un aspecto negativo en el uso de los fagos como terapia en la lucha contra enfermedades infecciosas bacterianas deriva del hecho de la falta de estudios *in vivo*, por lo que los buenos resultados obtenidos en estudios *in vitro* necesitarían de una corroboración ulterior. Además queda la posibilidad de que los propios fagos o sus productos puedan ser reconocidos por el sistema inmune, induciendo la respuesta correspondiente. Aunque la lisis producida por fagos es más rápida que la acción neutralizante de los anticuerpos, existe la posibilidad de que se desencadene una respuesta inmune frente a los productos y enzimas liberados después de la lisis bacteriana ocasionada por los fagos. Todo ello implica nuevos estudios sobre la eficacia y la inocuidad del empleo de los fagos<sup>[5]</sup>.

Quizás lo más necesario y urgente debe ser la realización de estudios que permitan establecer de forma clara y correcta las dosis y formas de aplicación de esta terapia para cada fago en concreto. A todo ello habría que unir el hándicap principal con el que se enfrenta la terapia con fagos, el de la no aceptación de esta metodología por parte de las compañías farmacéuticas, dada la dificultad de patentar fagos al tratarse de entidades naturales.

Otra dificultad es que el empleo de fagos no está exento de la aparición de bacterias resistentes frente a los mismos. La mayoría de los mecanismos que per-

miten dicha resistencia están relacionados con evitar el proceso de adsorción y fijación del fago, ya sea mediante cambios en los receptores implicados, su pérdida o la producción de polímeros extracelulares que impidan dicho proceso. Pero incluso si consiguieran penetrar, las bacterias disponen de otros mecanismos para eliminar el DNA vírico, entre ellos el sistema CRISPR, considerado el sistema inmunitario de las bacterias que protege a su material genético de posibles ataques víricos<sup>[11]</sup>. Pero como ya se había indicado, una de las ventajas del uso de fagos frente a los antibióticos es su capacidad de coevolución. Una forma interesante de incrementar la eficacia de los fagos contra las bacterias y reducir la aparición de resistencias en las mismas es la evolución experimental, que consiste en preadaptar al fago a su hospedador bacteriano *in vitro* durante varias generaciones.

Caso de que no quieran emplearse directamente los fagos en esta terapia, una alternativa es el uso de las enzimas que producen. Entre ellas las lisinas, que ayudan a la penetración de los fagos, degradando la capa de peptidoglicano de la pared bacteriana y produciendo la lisis de la bacteria por el shock osmótico producido. Serviría y de hecho lo ha hecho contra las bacterias Gram-positivas, pero la presencia de la membrana externa en bacterias Gram-negativas podría parecer hacerlas ineficaces. Sin embargo, se han descubierto algunas enzimas producidas por fagos que pueden atravesar esta capa<sup>[12]</sup>.

Otras proteínas que participan al final del ciclo lítico desencadenando y controlando la degradación de las paredes celulares bacterianas son las holinas. Su participación en la formación de canales de membrana o poros favorece la posterior actuación de las lisinas. Las polisacárido despolimerasas, entre ellas las hidrolasas y liasas, también resultan de utilidad, dado que centran su ataque en los glúcidos de las membranas bacterianas. Al conjunto de todas estas enzimas y algunas más derivadas de los fagos y que pueden emplearse contra las bacterias se las denomina de forma general enzibióticos<sup>[13]</sup>. Además la biología sintética permite la modificación de estas proteínas o la creación de otras nuevas intentando mejorar el espectro bacteriano sobre el que pueden actuar, o disminuir la resistencia bacteriana o la posible inmunogenicidad.

Una tercera aproximación al empleo de fagos como método antibacteriano alternativo es la denominada exposición de fagos (*phage display*)<sup>[14]</sup>, que se basa en la expresión en la cubierta del fago de péptidos que pueden unirse específicamente a una bacteria en concreto y comprobar el posible efecto bactericida de estos péptidos. Esta técnica de ingeniería genética puede ser una excelente herramienta para la

producción de vacunas, el desarrollo de nuevos productos antimicrobianos o el desarrollo de anticuerpos monoclonales con una determinada especificidad deseada para uso terapéutico. En el caso concreto de su uso frente a la aparición de resistencias bacterianas, esta técnica puede tener resultados muy prometedores. Por ejemplo, la resistencia frente a antibióticos  $\beta$ -lactámicos se produce generalmente por la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas. Usando la técnica de exposición de fagos se pueden buscar péptidos que tengan un efecto negativo sobre estas enzimas.

La terapia con fagos incrementa de forma ostensible la capacidad para combatir la resistencia frente a los antibióticos en bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* o *Escherichia coli*, todas ellas relacionadas con infecciones de diverso tipo, con una eficacia del 90 %. En cualquier caso el uso de la terapia con fagos se enfrenta a muchos obstáculos principalmente relacionados con aspectos de la seguridad de su uso, que hacen prevalecer el escepticismo sobre su verdadera eficiencia terapéutica<sup>[15]</sup>.

Quizás por ello la vía más plausible es la del uso combinado de antibióticos y fagos como estrategia en el control de patógenos bacterianos. El beneficio más esperado es el de la reducción de la capacidad de las bacterias de desarrollar resistencia frente a antibióticos y/o fagos. El efecto denominado sinergia fago-antibiótico ha sido observado en algunas combinaciones de ambos componentes, aunque no en todas ellas<sup>[7]</sup>. Queda, pues, mucho camino y estudios que llevar a cabo y, desde luego, quedan lejos todavía las inyecciones o las pastillas de fagos. Aunque su uso en hospitales como profiláctico en pacientes inmunocomprometidos no debería quedar a tanta distancia en el tiempo. La combinación antibióticos-fagos parece la vía más prometedora. Así pues, no todos los virus son enemigos de la raza humana. Algunos de hecho pueden convertirse en aliados indispensables en nuestra lucha continua contra las enfermedades infecciosas de origen bacteriano. Igual que hubo que cambiar el chip con respecto a las bacterias, distinguiendo bacterias ‘buenas y malas’, también tendremos que diferenciar entre virus ‘buenos y malos’.

## Referencias

- [1] Cisek A y otros. Phage therapy in bacterial infections treatment: One hundred years after the discovery of bacteriophages. *Curr. Microbiol.* 74: 277–283, 2016.
- [2] Kutateladze M y Adamia R. Phage therapy experience at the Eliava Institute. *Médecine et Maladies Infectieuses* 38(8): 426–430, 2008.
- [3] Summers W. C. The strange history of phage therapy. *Bacteriophage* 2(2): 130–133, 2012.
- [4] Viertel T y otros. Viruses versus bacteria—Novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 69: 2326–2336, 2014.
- [5] Forde A y Hill C. Phages of life—the path to pharma. *Br. J. Pharmacol.* 175: 412–418, 2018.
- [6] Ofir G y Sorek R. Contemporary phage biology: From classic models to new insights. *Cell* 172: 1260–1270, 2018.
- [7] Domingo-Calap P y Delgado-Martínez J. Bacteriophages: protagonists of a post-antibiotic era. *Antibiotics* 7: 66–8, 2018.
- [8] Reardon S. Phage therapy gets revitalized. *Nature* 510: 15–16, 2014.
- [9] Casto A y otros. Bacteriophages: the answer to antibiotic resistance? *James Madison Undergraduate Res J* 3(1): 36–41, 2016.
- [10] Torres-Barceló C y Hochberg M. Evolutionary rationale for phages as complements of antibiotics. *Trends Microbiol* 24: 249–256, 2016.
- [11] Drulis-Kawa Z y otros. Learning from bacteriophages—advantages and limitations of phage and phage-encoded protein applications. *Curr. Protein Pept. Sci* 13: 699–722, 2012.
- [12] Maciejewska, B y otros. Applications of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: An ambitious and also a realistic application? *Appl. Microbiol. Biotechnol* 102: 2563–2581, 2018.
- [13] Drulis-Kawa, Z y otros. Bacteriophages and phage-derived proteins—Application approaches. *Curr. Med. Chem* 22: 1757–1773, 2015.
- [14] Smith, G.P. Filamentous fusion phage: Novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 228: 1315–1317, 1985.
- [15] Tagliaferri, T L y otros. Fighting Pathogenic Bacteria on Two Fronts: Phages and Antibiotics as Combined Strategy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 9: 1–13, 2019.

Para saber más:

[https://www.youtube.com/watch?v=dH3\\_nOHUWbU](https://www.youtube.com/watch?v=dH3_nOHUWbU)