

## **Los enzibióticos como alternativa terapéutica contra las enfermedades bacterianas**

### **The enzybiotics as therapeutic alternative against bacterial diseases**

**Lic. Leonor Aties López,<sup>1</sup> Lic. Yadmila Duret Gala,<sup>1</sup> Lic. Michell Tabares Tabío<sup>1</sup> y Lic. Sheyla Fernández Pérez<sup>11</sup>**

<sup>1</sup> Facultad de Enfermería-Tecnología de la Salud, Universidad de Ciencias Médicas, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>11</sup> Laboratorio Provincial de Microbiología, Santiago de Cuba, Cuba.

#### **RESUMEN**

El constante desarrollo de las enfermedades infecciosas, conjuntamente con la aparición de la resistencia microbiana a los antibióticos, ha originado que nuevamente se piense en los fagos como opción terapéutica. De hecho, existe una importante aportación bibliográfica sobre los bacteriófagos y su utilidad para eliminar los procesos infecciosos, lo que ha justificado el continuar investigando acerca del posible uso de estos y de sus productos génicos, como esperanzadora alternativa a los tratamientos con antimicrobianos disponibles en la actualidad. Por ello, en este artículo se ofrece información sobre estos microorganismos, en específico sobre los enzibióticos, y se propone que sean considerados en el combate contra las infecciones bacterianas.

**Palabras clave:** enfermedades infecciosas, resistencia microbiana a antibióticos, terapia de fagos, enzibióticos.

#### **ABSTRACT**

The constant development of the infectious diseases, together with the emergence of the microbial resistance to the antibiotics, has originated that again it is thought on the phages as therapeutic option. In fact, an important literature contribution exists about the bacteriophages and their use to eliminate infectious processes, what has justified the continuity in investigating about the possible use of them and of their genic products, as a promising alternative for treatments with antimicrobials currently available. That is why, information on these microorganisms is offered in this work, specifically on the enzybiotics, and is it intended them to be considered in the bacterial infections control.

**Key words:** infectious diseases, microbial resistance to antibiotics, phages therapy, enzybiotics.

#### **INTRODUCCIÓN**

Antes del descubrimiento y la utilización de los antimicrobianos, las enfermedades infecciosas eran la principal causa de muerte del ser humano, y continúan siéndolo en gran parte de los países en desarrollo, sin acceso a medicamentos de buena calidad. Así, las infecciones por microorganismos resistentes a los fármacos relacionadas con la atención sanitaria, constituyen una importante causa de muerte en todo el mundo.

La resistencia de los agentes patógenos a los antimicrobianos no es una enfermedad. Habitualmente no hay diferencias en cuanto a la gravedad entre las enfermedades causadas por cepas sensibles y cepas resistentes. La resistencia no suele ser un problema de patogénesis, sino de limitación de las opciones terapéuticas.

El problema básico es que se depende de los antimicrobianos para eliminar las infecciones. Si hubiese métodos terapéuticos alternativos, la resistencia microbiana a los fármacos persistiría, pero dejaría de ser un considerable problema en la salud pública.

De hecho, la resistencia de microorganismos a los antibióticos es un problema condicionado por las prácticas asistenciales, y en particular por el uso excesivo de estos medicamentos en trastornos en los que no resultan beneficiosos.<sup>1-3</sup>

La resistencia es una característica de muchos agentes patógenos causantes de diferentes enfermedades. Por consiguiente, las estrategias de contención deben adaptarse a las necesidades de los programas de control y tratamiento relacionados con enfermedades específicas.<sup>4</sup>

El preocupante y creciente desarrollo de las enfermedades infecciosas, conjuntamente con la aparición de resistencia a los antimicrobianos, ha hecho que desde hace muchos años se piense de nuevo en los fagos como una opción terapéutica, por lo que en este artículo se les propone como alternativa para combatir las infecciones bacterianas.

## **DESARROLLO**

Hace más de 100 años, específicamente en 1896, el médico inglés Hankin describió que las aguas del río Ganges de la India poseían inexplicables propiedades antibacterianas que se perdían simplemente por ebullición del agua; él sugirió la presencia de un "principio curativo" que nunca pudo identificar y, por tanto, no fue más allá de esta observación, lo que ha pasado a la historia de la microbiología.<sup>5,6</sup>

Cuando Twort y D´Herelle descubrieron el mundo de los virus bacterianos o bacteriófagos en 1915 y 1917, respectivamente, la primera observación de Hankin comenzó a tener explicación en el sentido de que hoy se conoce que este río contiene un altísimo título de partículas fágicas que controlan de modo natural la propagación del cólera en aquellas latitudes. Tan pronto aparecieron estos virus en el campo científico se comenzó a buscar su utilidad en la terapia antibacteriana.<sup>2</sup> Así, D´Herelle y otros investigadores, en particular el Dr. Eliava (fundador del instituto que lleva su nombre), aplicaron esta idea para controlar un brote de disentería bacilar en 1918, y tres años más tarde Bruynoghe y Masin la usaron para tratar lesiones estafilocócicas de piel.

Como se indicó anteriormente, tan pronto se descubrieron los virus bacterianos, y habiendo observado la capacidad que tenían de lisar los cultivos bacterianos, se trató de utilizarlos para el control de enfermedades infecciosas, y hay que añadir que en varios casos se obtuvieron resultados ciertamente positivos. Por su parte, el término "enzibiótico" es en realidad la fusión de otros dos vocablos: enzima y antibiótico, el cual fue acuñado no hace más de 6 años y que define a una amplia familia de enzimas que tienen la capacidad de interferir el desarrollo de microorganismos imitando de esta manera el modo de acción de ciertos antibióticos. En las pasadas décadas el número de antibióticos había aumentado, pero en paralelo con el número de estirpes bacterianas resistentes a estos, la utilización de los bacteriófagos evade dicha resistencia.<sup>7,8</sup>

## Definición de fago

Los bacteriófagos o fagos son virus que infectan y lisan bacterias. De manera específica esta especie se constituye fundamentalmente de material genético y proteínas. Su genoma puede componerse de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), el cual puede ser de cadena doble o de una sola cadena. El mencionado material genético es protegido por una cubierta de proteínas denominada cápside.

La estructura de los fagos es determinada por sus proteínas de envoltura (o proteínas estructurales), cuya función principal es la de proteger al material genético fágico. Estas proteínas pueden además proveer al fago de: cuello, cola, fibras caudales, láminas basales y/o espículas.<sup>9</sup>

## Terapia fágica antibacteriana

Los fagos, como todos los virus, son parásitos obligados intracelulares; es decir, necesitan estar dentro de una bacteria para poder replicarse. Los bacteriófagos están presentes en todos los ambientes, pero en el medio hídrico se encuentran en mayor profusión. Los estudios sobre el uso de bacteriófagos como herramientas terapéuticas mostraron resultados positivos en algunos casos, aunque en otros casos fueron bastante ambiguos, debido al pobre conocimiento que se tenía de la ecología de los bacteriófagos y de las bacterias, a la selección incorrecta de los bacteriófagos para llevar a cabo la terapia, al uso de bacteriófagos en pacientes con síndromes causados por más de una bacteria, a la aparición de estirpes bacterianas resistentes a bacteriófagos, a la incorrecta dosificación y administración de los bacteriófagos en los preparados farmacéuticos, a la incorrecta identificación del agente causal de la enfermedad y, finalmente, a la falta de conocimiento sobre la liberación de endotoxinas como resultado de la lisis bacteriana.<sup>10-13</sup>

No todos los bacteriófagos pueden usarse en la terapia; de las dos grandes clases, líticos y lisogénicos, solo los pertenecientes a la primera pueden ser elegidos a tal efecto. Los segundos, al integrar su genoma en el de la bacteria, no la matan y pueden incluso transferir genes que incrementen la virulencia bacteriana.

En el caso de que aparezcan fenómenos de resistencia bacteriana a los bacteriófagos, pueden resolverse más fácilmente que la resistencia a antibióticos, pues basta con cambiar uno o dos genes del virus para esto. En experimentos recientes se ha mostrado que la velocidad de mutación que genera este tipo de resistencia es del orden de  $1-4 \times 10^{-8}$ , que como se aprecia es una velocidad sensiblemente inferior a la que originan las resistencias a los antibióticos.

Como en este tipo de terapia las células diana (bacteria) y el agente invasor (virus) presentan una unión muy específica sobre receptores ausentes en las células del cuerpo humano, los efectos secundarios son menores que en la antibioticoterapia convencional. Por otra parte, la flora normal no se ve apenas afectada por este tratamiento, incluso cuando a los voluntarios se les suministra una mezcla de hasta 4 bacteriófagos.<sup>14-16</sup>

También es posible combinar el tratamiento con bifidobacterias en el caso de pacientes leucémicos inmunoafectados que presenten disentería; de esta manera los bacteriófagos destruyen al agente patógeno y las bifidobacterias restauran parte de la flora normal. Puede argüirse, y no sin razón, que en ciertas bacteriolisis los efectos colaterales, debido a moléculas tóxicas bacterianas, son iguales en la terapia convencional con antibióticos y en la bacteriofágica; no obstante, ya han comenzado a desarrollarse nuevas estirpes virales que matan a las bacterias, no las lisan, lo que constituye una solución eficaz para

eliminar aquellas que producen toxinas, como las especies del género *Clostridium*. Una de las mayores críticas a la terapia basada en bacteriófagos es la necesidad de identificación previa del agente causal de la enfermedad antes de que pueda iniciarse el tratamiento y el tiempo de evolución ante infecciones agudas.<sup>17</sup>

A pesar de que los bacteriófagos han demostrado ser eficaces en el tratamiento de pacientes con enfermedades infecciosas, existen argumentos que han retrasado su uso comercial. Los fagos han diseñado básicamente 2 vías para liberar la progenie viral de su huésped bacteriano: los bacteriófagos filamentosos, que son liberados por extrusión sin matarlas, y los no filamentosos, que por el contrario, inducen la lisis de la pared celular del huésped, porque contienen enzimas líticas altamente evolucionadas; estos han sido llamados enzibióticos o endolisinas.

Por otro lado, la lisis de las bacterias es el resultado de un daño abrupto en la pared celular que se puede dar por una de 2 formas: la inhibición de la síntesis del peptidoglucano originado por una sola proteína (bacteriófagos de ARN o ADN de cadena sencilla), o la unión enzimática de las lisinas al peptidoglucano de la pared celular, llamado sistema de explosión por lisina (fagos de doble cadena de ADN).<sup>18</sup>

- Ventajas

- Pueden lisar a células resistentes a antibióticos, aunque su espectro de acción es muy limitado (son especie-específicos).
- Son específicos; es decir, no dañan la biota normal del paciente.
- No generan reacción con los anticuerpos neutralizantes.
- El tratamiento puede ser preventivo.
- Son eliminados rápidamente por el sistema inmunitario.

- Desventajas

- Dificultad para desarrollar formas farmacéuticas sólidas.
- Pueden producir altos niveles de endotoxinas en infecciones causadas por bacterias gramnegativas.
- En muchos casos solo se requiere de una dosis única de lisado fágico para observar la disminución de la infección en el paciente.

Las endolisinas son codificadas por el genoma fágico durante la última fase del ciclo lítico, para degradar el peptidoglucano (principal componente de la pared celular) y facilitar la liberación de los viriones. Las lisinas pueden distinguirse de otras enzimas líticas codificadas por las bacterias. En algunos casos las lisinas son componentes integrales de los viriones fágicos, que digieren la pared celular para facilitar la inyección del genoma fágico a la célula huésped; es justamente esta capacidad de digerir la pared celular por la que se ha considerado a las endolisinas como una nueva clase de agentes antibacterianos, pues también son específicas y pueden lisar microorganismos patógenos sin dañar la microflora. Por ello, en los últimos años se ha tratado de identificar y purificar endolisinas recombinantes para eliminar enfermedades infecciosas causadas por diferentes agentes patógenos, como la *Pseudomonas aeruginosa*, e incluso se ha demostrado la capacidad de algunas lisinas de penetrar y lisar biopelícula de bacterias tan resistentes a los antibióticos, como el *Staphylococcus aureus*.<sup>19</sup>

Cabe agregar que las endolisinas se producen en forma de un solo polipéptido que contiene al menos 2 dominios funcionales: un dominio catalítico, el cual se une a peptidoglucano, y un módulo de unión a la pared celular, que puede unirse de manera específica a carbohidratos epítomos en la pared celular.<sup>20</sup>

### **Detección e identificación bacteriana**

Por muchos años la especificidad de los fagos respecto a sus huéspedes bacterianos ha permitido usarlos para la tipificación de bacterias patógenas. Los fagos que se unen a las bacterias pueden ser fácilmente identificados por anticuerpos marcados, lo que incrementa la sensibilidad de la detección. De igual manera los fagos se pueden adicionar sobre las muestras de bacterias aisladas de pacientes; donde se produzca una placa lítica (zona clara en una caja con crecimiento confluyente de bacterias), entonces está presente la bacteria que el fago es capaz de lisar y así es posible identificarla. Otra manera de utilizar a los fagos en el diagnóstico de las infecciones bacterianas, es adicionando en su genoma la información para la síntesis de la proteína verde fluorescente, la cual es expresada después de la infección de la bacteria blanco.<sup>21,22</sup>

### **Perspectivas futuras**

Se ha pronosticado, con sobradas razones, que es posible que en el tratamiento de ciertas enfermedades infecciosas se haya retornado a la era preantibiótica. Existe un acuerdo generalizado de que, tanto con el empleo de fagos como de algunos de los productos fágicos, se está ante terapias novedosas y prometedoras que, usadas junto con los antibióticos, pueden proporcionar un medio muy eficaz para combatir a las bacterias resistentes a todo el arsenal antibiótico disponible, y así solucionar este importante problema que preocupa a toda la comunidad médica.

Los planteamientos anteriores condicionan un escenario para la realización de nuevos estudios en el campo de la terapia fágica.

En teoría, la terapia fágica presenta evidentes beneficios en comparación con la antibioticoterapia, a saber:

- Los antibióticos en general poseen un espectro de actividad notablemente amplio, mientras que los fagos son estrictamente específicos, por lo cual no producen el efecto de eliminación de la microbiota comensal beneficiosa.
- Los antibióticos pueden producir efectos colaterales indeseados (alergias, contraindicaciones durante el embarazo, efectos tóxicos en ciertos órganos), mientras que existen pruebas de la inocuidad de las preparaciones fágicas purificadas.
- Los fagos son igualmente eficaces sobre bacterias sensibles o multirresistentes.
- La producción de antibióticos es bastante costosa, en tanto, la de fagos acarrea costes reducidos.
- La búsqueda de nuevos antibióticos es difícil, mientras que la naturaleza constituye una fuente virtualmente inagotable de fagos.

Por último, la relación entre bacteria y fago constituye una interacción compleja de tipo huésped-parásito que puede condicionar el resultado de la terapia, si se considera que la concentración de fagos utilizada podría estar determinada no solo por el número de bacterias, sino también por el estado fisiológico de estas.<sup>2,22</sup>

## CONCLUSIONES

Existe un importante aporte documental sobre los bacteriófagos y su utilidad para combatir enfermedades infecciosas, lo que acredita el continuar investigando el posible uso de estos y de sus productos génicos como terapéutica complementaria a la de los antimicrobianos actualmente disponibles.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos: los hechos Boletín de Medicamentos Esenciales. 2000 [citado 18 Feb 2015]; (28-29):7-9. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2250s/s2250s.pdf>
2. Mattar Y, Martínez P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las  $\beta$  lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Infectio. 2007 [citado 18 Feb 2015]; 11(1): 23-5. Disponible en: <http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/136/170>
3. González Lorenzo A. Resistencia antimicrobiana "in vitro". Sistema Diramic 10. Un año de experiencia. Rev Méd Electrón. 2003 [citado 12 Feb 2015]; 25(6). Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/123/html>
4. Harbarth S, Theuretzbacher U, Hackett J, DRIVE-AB consortium. Antibiotic research and development: business as usual? J Antimicrob Chemother. 2015; 70(6): 1604-7.
5. D'Hérelle F. Sur une microbe invisible antagoniste des bacilles dysentérique. C R Acad Sci (Paris). 1917; 165: 373-5.
6. Twort FW. An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet. 1915; 186(4814): 1241-3.
7. Nallelyt Segundo A, Efrén Hernández B, Oliver López V, Oscar Torres A. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas (fagoterapia). Rev Mex Ciencias Farmac. 2010 [citado 18 Feb 2015]; 41(3). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57916078003.pdf>
8. Tamariz JH, Lezameta L, Guerra H. Fagoterapia frente a infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en ratones. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014 [citado 18 Feb 2015]; 31(1): 69-77. Disponible en: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000100010&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000100010&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
9. Nilsson AS. Phage therapy--constraints and possibilities. Ups J Med Sci. 2014; 119(2): 192-8.
10. Dulbecco R. Multiplicación y genética de bacteriófagos. En: Davis B, Dulbecco D, Eisen N, Ginsberg S. Tratado de Microbiología. 4 ed. Barcelona: Masson; 1996. p. 760-80.
11. García E, López R. Los bacteriófagos y sus productos génicos como agentes antimicrobianos. Rev Esp Quimioterapia. 2002; 15(4): 306-12.

12. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris G. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 43(3): 649-59.
13. Lozano S. Félix D´Herelle. Aportes a biografía de un pasteurizado en México (1904-1911). *Rev Electrónica Latinoamericana de Estudios Sociales, Históricos y Culturales de la Ciencia y la Tecnología.* 2006 [citado 20 Mar 2015]; 1(1) 1-15. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/18359/1/articulo2.pdf>
14. Hermoso JA, García JL, García P. Taking aim on bacterial pathogens: form phage therapy to enzybiotics. *Curr Opin Microbiol.* 2007; 10(5): 461-7.
15. López García R. Bacteriófagos: de la biología molecular a su uso terapéutico. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias.* 2005; 13(13):61-74.
16. Ronda C, Vázquez M, López R. Los bacteriófagos como herramienta para combatir infecciones en acuicultura. *Revista AquaTIC.* 2003 [citado 20 Mar 2015]; 18:3-10. Disponible en: [http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/18\\_2.pdf](http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/18_2.pdf)
17. Gill JJ, Pacan JC, Carson ME, Leslie KE, Griffiths MW, Sabour PM. Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle. *Antimicrob Agents and Chemiother.* 2006; 9(50): 2912-8.
18. Chow MS, Rouf MA. Isolation and partial characterization of two *Aeromonas hydrophila* bacteriophages. *Appl Environ Microbiol.* 1983; 5(45): 1670-6.
19. Wattanabe R, Matsumoto T, Sano G, Ishii Y, Tateda K, Sumiyama Y, et al. Efficacy of Bacteriophages therapy against gut-derived sepsis caused by *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Antimicrob Agents Chemiother.* 2006; 51(2): 446-52.
20. Qadir MI. Review: phage therapy: a modern tool to control bacterial infections. *Pak J Pharm Sci.* 2015; 28(1):265-70.
21. Rose T, Verbeken G, Vos DD, Merabishvili M, Vaneechoutte M, Lavigne R, et al. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps. *Int J Burns Trauma.* 2014; 4(2): 66-73.
22. Chan BK, Abedon ST. Bacteriophages and their enzymes in biofilm control. *Curr Pharm Des.* 2015;21(1):85-99.

Recibido: 18 de marzo de 2015.

Aprobado: 16 de agosto de 2017.

*Leonor Aties López.* Facultad de Enfermería-Tecnología de la Salud, km 2 ½ y Autopista, Carretera de El Caney, Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: [latiesl@fts.scu.sld.cu](mailto:latiesl@fts.scu.sld.cu)