

Aplicación de los Bacteriófagos en la Terapia de Infecciones

Lucía Blasco Otero¹, Laura Fernández García¹, María López Díaz¹
Germán Bou Arevalo^{1,2,3}, M^a del Mar Tomás Carmona^{1,2,3}

¹Licenciado en Biología, ²Facultativo Especialista del Área de Microbiología
³Jefe del Servicio de Microbiología del CHUAC.

¹Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), ^{2,3}Servicio de Microbiología.
Xerencia de Xestión Integrada de A Coruña. A Coruña. España
E-mail: MA.del.Mar.Tomas.Carmona@sergas.es

En la actualidad, el tratamiento de infecciones bacterianas se está convirtiendo en un reto para la comunidad médica como consecuencia de la adquisición de resistencias frente a los antibióticos por parte de los microorganismos, resultado del uso excesivo e indebido de estos fármacos, unido a la falta de conocimiento del papel de los antibióticos naturales en las comunidades bacterianas.

Las infecciones adquiridas en el hospital son un importante problema en el mundo industrializado, con tasas de incidencia del 5% y 7,1% en los Estados Unidos (EEUU) y la Unión

Europea (UE), respectivamente. Por otra parte, las bacterias resistentes a múltiples fármacos, MDR (MultiDrugResistant) son consideradas "Un importante desafío a la seguridad de la salud del siglo XXI" (Declaración conjunta de los ministros de ciencia de los países del G8, reunidos en Londres antes de la cumbre del G8 en Irlanda del Norte, 2013). Actualmente, en EEUU, dos millones de personas al año resultan infectadas por bacterias resistentes a antibióticos y aproximadamente 23000 mueren. Se estima que, en el año 2050, 10 millones de personas estarán en riesgo y 100 billones de

dólares se perderán debido al aumento de las resistencias bacterianas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha solicitado a los estados miembros la elaboración de un listado de bacterias multirresistentes prioritarias para la investigación y el desarrollo de nuevos tratamientos antimicrobianos.

En los últimos 30 años apenas han aparecido nuevas clases de antibióticos, las causas son tanto económicas como científicas y regulatorias. El proceso de obtención de nuevos productos es largo y muy costoso, se calcula que un antibiótico tarda unos 14 años en llegar al mercado y tiene un coste final de entre 802 millones de dólares y 1700 millones de dólares. Por ello sólo grandes multinacionales farmacéuticas invierten en estos productos, en 2013 solamente 4 compañías tenían algún programa de obtención de nuevos compuestos antibacterianos.

Debido al problema existente hoy en día con los antibióticos se están desarrollando nuevas estrategias para el tratamiento de infecciones provocadas por organismos MDR, así existe la terapia con anticuerpos monoclonales, las vacunas, los agentes antivirulentos (liposomas) y los bacteriófagos.

De todas estas una solución prometedora es la terapia con bacteriófagos o fagos que son virus específicos de bacterias.

Los Bacteriófagos y la Terapia Fágica

Los bacteriófagos son las entidades biológicas más abundantes y ubicuas en la tierra. Son virus específicos de células bacterianas incapaces de infectar células eucariotas. Además, son específicos de cada especie e incluso cepa bacteriana ya que reconocen los receptores celulares presentes en la superficie de las células.

Existen dos tipos de bacteriófagos en función de su ciclo vital, pueden ser líticos o lisogénicos. Los primeros, una vez que penetran en la célula, replican utilizando la maquinaria celular, se ensamblan formando los viriones y, finalmente, salen de la célula lisándola y matándola. Por otra parte, están los lisogénicos que penetran en la célula e integran su ADN en el cromosoma bacteriano permaneciendo en este estado latente hasta que se activan los mecanismos de respuesta SOS, que indican que la célula está en peligro y activan el bacteriófago que ahora se comportará como un fago lítico, formando los viriones y lisando

las células.

La terapia fágica se desarrolla utilizando principalmente cócteles de fagos, es decir, combinaciones de dos o más fagos que infectan una o más especies o cepas bacterianas. Utilizando estas combinaciones de fagos se consiguen superar los problemas con que se encuentra la terapia con fagos, los principales son la especificidad de los fagos y la adquisición de resistencia frente a fagos. Al hacer combinaciones de distintos tipos de fagos se amplía el espectro de huésped y también se vence la resistencia.

Historia de la Terapia Fágica

Los bacteriófagos fueron descubiertos a principios del siglo XX durante la I Guerra Mundial por Frederick Twort y Felix D'Herelle. D'Herelle utilizó los bacteriófagos por primera vez en 1919 para tratar la disentería en París. Posteriormente, realizó preparados de bacteriófagos para distintas enfermedades que comercializaba la que sería la mayor empresa farmacéutica francesa, L'Oréal. Los bacteriófagos también fueron comercializados en EEUU en los años 30 por grandes compañías farmacéuticas como Eli Lilly, Squibb & Sons y los La-

boratorios Abbott. Pero dejaron de producirse comercialmente en la mayor parte del Mundo Occidental por varias razones, entre ellas las dificultades que surgían para purificarlos y el problema que suponía la alta especificidad de los bacteriófagos. Finalmente, fueron desplazados por los antibióticos, cuya aplicación se inició con el descubrimiento de la penicilina en 1928, debido a que los procesos de producción eran más sencillos y proporcionaban un mayor espectro de acción.

Sin embargo, la terapia fágica se continuó empleando en Europa del Este y sobretodo en la Unión Soviética después de la Segunda Guerra Mundial. Esta terapia se empleó en el tratamiento de infecciones en dermatología, otorrinolaringología, oftalmología, pediatría, ginecología, gastroenterología, cirugía, urología y neumología. Los principales centros de investigación que desarrollaban preparados con bacteriófagos, eran el Instituto Eliava de Bacteriófagos, Microbiología y Virología en Tbilisi en la actual República Democrática de Georgia y el Instituto Hirszfel de Inmunología y Terapia Experimental de Wroclaw en Polonia. El Instituto Eliava se creó en 1930 siguiendo un patrón de acción por el cual recibían mues-

tras de bacterias patógenas de toda la Unión Soviética contra las que aislaban y testaban bacteriófagos. Los test se basaban en la virulencia contra la bacteria diana así como el rango de huéspedes empleando un panel de las bacterias más problemáticas. Así, consiguieron producir bacteriófagos del orden de 2 toneladas por semana, que se emplearon para el tratamiento de la diarrea y heridas de los soldados soviéticos. La producción sobrante se utilizó para el tratamiento de distintas infecciones en la población civil. Actualmente el Instituto Eliava es un centro de referencia para la terapia fágica que además posee una gran colección de bacteriófagos con potencial terapéutico.

En Polonia, desde 1954, se trataron miles de pacientes, sobretodo con infecciones crónicas que no respondían a los antibióticos, usando cócteles de fagos desarrollados en el Instituto Hirszfel. Desde el año 2005 este instituto tiene un centro de terapia fágica destinado al tratamiento de infecciones de bacterias resistentes a antibióticos.

La Terapia Fágica en la actualidad

La problemática existente hoy en día con la

resistencia a antibióticos está despertando de nuevo el interés por la terapia fágica en el Mundo Occidental. El desarrollo que la biología molecular y las técnicas de purificación han sufrido en los últimos años, hace que el desarrollo de cócteles de bacteriófagos caracterizados y seguros sea posible. Sin embargo, existen obstáculos económicos, como el problema que existe a la hora de obtener patentes, ya que los fagos en sí mismos son entidades biológicas que no se pueden patentar, y psicológicos como es que se trate una infección con un virus o que sean tratamientos previamente empleados en la Unión Soviética. A pesar de que muchos expertos consideran la terapia fágica como un tratamiento alternativo a los antibióticos, no existe en la Unión Europea un marco regulador específico para esta terapia. Hoy en día, el uso de la terapia fágica solamente está aprobado en Rusia, y en Georgia. En Polonia, al ser miembro de la Unión Europea, está aprobada como "tratamiento experimental" cubierto por la ley polaca de la práctica médica (Gaceta nº28 de 1997) y por la Declaración de Helsinki.

Aunque actualmente no existen en el Mundo Occidental tratamientos con fagos aprobados

Aplicación de bacteriófagos en la terapia de infecciones

Código del ensayo	Título del ensayo	Fase	Objetivo	Organismo
NCT01818206	Bacteriophage Effects on Pseudomonas Aeruginosa (MUCOPHAGES)	-	Evaluación de la eficacia de un coctel de 10 bacteriófagos en la infección provocada por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aislada del esputo de pacientes con fibrosis quística	Universidad de Montpellier (Francia)
NCT03140085	Bacteriophages for Treating Urinary Tract Infections in Patients Undergoing Transurethral Resection of the Prostate	II/III	Investigar la eficacia del tratamiento intravesical con bacteriófagos (PY Ophage) para normalizar el cultivo de orina en comparación un placebo intravesical y un tratamiento antibiótico estándar	Hospital Universitario de Balgrist (Suiza)
NCT02664740	Standard Treatment Associated With Phage Therapy Versus Placebo for Diabetic Foot Ulcers Infected by <i>S. Aureus</i> (Phagopied)	I/II	Comparación de la eficacia del tratamiento estándar asociado con un coctel tópico de bacteriófagos antistaphylococco versus el tratamiento estándar con placebo en las úlceras de pie diabético mono infectadas con <i>S. aureus</i> meticiclina resistentes o susceptibles (MRSA o MSSA) midiendo la reducción de la superficie de la herida durante 12 semanas	Centro Hospitalario Universitario de Nimes (Francia) Pherecydes Pharma
NCT02116010	Evaluation of Phage Therapy for the Treatment of Escherichia Coli and Pseudomonas Aeruginosa Wound Infections in Burned Patients (PHAGOBURN)	I/II	Establecer la tolerancia y eficacia de un tratamiento local con bacteriófagos para tratar heridas infectadas con <i>E. coli</i> y <i>P. aeruginosa</i> en pacientes quemados	Pherecydes Pharma
NCT00663091	A Prospective, Randomized Double-Blind Controlled Study of WPP-201 for the Safety and Efficacy of Treatment of Venous Leg Ulcers (WPP-201)	I	Testar la eficacia y seguridad del bacteriófago WPP-201 en úlceras venosas de las piernas	Southwest Regional Wound Care Center (Lubbock, Texas)
NCT00937274	Antibacterial Treatment Against Diarrhea in Oral Rehydration Solution	-	Demostrar el potencial de nuevas formas de terapia en la diarrea infantil usando un coctel comercial de bacteriófago T4	Nestlé

Tabla1. Ensayos clínicos con bacteriófagos para uso en terapia humana regulados por la US FDA Drug and Device Resources.

para su uso en humanos, sí que han despertado el interés de pequeñas compañías bio-farmacéuticas que están desarrollando productos, que se encuentran en distintas fases de ensayos clínicos según la FDA (Tabla1).

Además de estos productos, se comercializan cócteles de fagos para la industria alimentaria como son ListShield™, EcoShield™, Salmo-Fresh™, ShigaShield™, todos de la compañía Intralytix, que se usan para eliminar contaminaciones alimentarias provocadas por *Listeria monocitogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Shigella spp.*

En la República Democrática de Georgia existe actualmente una compañía, "Phage Therapy Center" en la que hacen terapia fágica personalizada de manera que, a partir de una muestra del tejido infectado del paciente, seleccionan los fagos específicos que actúan sobre la bacteria y crean un cóctel de fagos para cada caso particular.

Tratamiento con bacteriófagos

Actualmente, el tratamiento con bacteriófagos está indicado en tres situaciones concretas: para el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias multirresistentes a antibióticos,

para tratar aquellas infecciones provocadas por bacterias que, aunque en cultivo son sensibles, en el paciente son resistentes debido a la etiología del mismo como en úlceras diabéticas o formación de *biofilm* y, por último, en el tratamiento de infecciones en pacientes con alergias o intolerancias a los antibióticos.

La terapia fágica se ha empleado para el tratamiento de distintas enfermedades en las que se cumplían las condiciones anteriores. La terapia fágica ha sido empleada en para el tratamiento de distintas infecciones relacionadas con la piel.

- Úlceras de la piel: Las infecciones en las úlceraciones de la piel pueden ser crónicas y resistentes a antibióticos. Los rigurosos estudios de doble ciego y revisión por pares han tenido unos resultados realmente exitosos al emplear un tratamiento tópico con fagos. Así se ha descrito que el uso de PhagoBioDerm (Instituto Eliava) empleado para tratar úlceras en un estudio con 100 pacientes supuso la curación de un 70% de los casos. PhagoBioderm es una matriz de polímero embebida en una mezcla de bacteriófagos con actividad lítica frente a distintos patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*

coli, *Streptococcus* y *Proteus*) combinados con ciprofloxacina, benzocaína y -quimotripsina. En el año 2008 se finalizó un ensayo en fase I aprobado por la FDA, que se llevó a cabo en el Wound Care Center de Lubbock (Texas), donde se empleó un cóctel de fagos activos contra *S. aureus*, *E. coli*, y *P. aeruginosa*, contra infecciones crónicas en úlceras y en el que no se observaron efectos secundarios significativos.

- *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA): el primer estudio publicado sobre terapia fágica en humanos, fue realizado por Richard Bruynoghe and Joseph Maisin en 1921, en el que se utilizaron bacteriófagos para tratar una infección de la piel provocada por *S. aureus*. En Georgia la prevención de infecciones nosocomiales provocadas por *Staphylococcus* se hizo mediante el uso de fagos para desinfectar habitaciones y material hospitalario. O'Flaherty describió el uso de una solución Ringer suplementada con fagos anti *S. aureus* para emplear como desinfectante en el lavado de manos, como resultado se observó una disminución en la población bacteriana hasta 100 veces menor que en el control. Recientemente, en un estudio realizado por Jensen *et al*, se demostró la capacidad de los

fagos para eliminar MRSA de superficies de cristal así como de la ropa del personal sanitario.

La terapia fágica también se ha empleado como tratamiento en humanos contra infecciones provocadas por MRSA. Leszczynski *et al.*, describieron el caso de una enfermera colonizada a nivel del tracto gastrointestinal y urogenital que fue tratada con una solución oral de fagos procedentes del banco de fagos del instituto Hirszfeld, lo que supuso la eliminación completa del MRSA cultivable.

-Quemaduras: Existen varios estudios que demuestran la eficacia de la terapia fágica en la curación de las quemaduras, solventando el problema que suponen las infecciones que, en estos casos, a menudo impiden la buena evolución de los injertos de piel. Jilkia *et al.*, describieron el caso de la aplicación de la terapia fágica para el tratamiento de quemaduras por radiación posteriormente infectadas por MRSA que no respondían al tratamiento con antibióticos, en este caso se aplicaron a las quemaduras preparaciones de PhagoBioDerm en forma de bandas. Con este tratamiento el drenaje purulento cesó a los dos días de aplicar el PhagoBioDerm y no se detectó ningún

MRSA tras 7 días de tratamiento. En un estudio realizado por Abdul-Hassan *et al.*, se trataron 30 casos de quemaduras asociadas a sepsis provocada por *P. aeruginosa* resistentes a antibióticos. En 18 de los casos hubo un buen (12) o excelente (6) agarre del injerto, y la secreción se eliminó en 12 de los casos y disminuyó en otros 12. Finalmente, la infección se eliminó en 8 de los 30 casos.

En la actualidad se está desarrollando en Europa el primer estudio multicéntrico de terapia fágica en humanos, el proyecto PhagoBurn, financiado por el programa "7th Framework Programme for Research and Development" de la Comisión Europea, participan 11 equipos médicos de distintas Unidades de quemados de Francia, Bélgica y Suíza, así como 4 entidades privadas: Pherecydes Pharma, Clean Cells, Statitec y France Europe Innovation. Actualmente este proyecto se encuentra en fase I-II de los ensayos clínicos, con el objetivo de establecer la tolerancia y eficacia de un tratamiento local con bacteriófagos para tratar heridas infectadas con *E. coli* y *P. aeruginosa* en 220 pacientes quemados.

- Acné: *Acne vulgaris* es la enfermedad de la piel más común en humanos, esta enfermedad

multifactorial está asociada a la presencia de la bacteria *Propionibacterium acnes*, por ello los antibióticos han sido empleados para el tratamiento de esta enfermedad durante 40 años sin que esta enfermedad haya perdido la relevancia social que tenía, además de favorecer la aparición de resistencia a los antibióticos. El tratamiento con fagos para eliminar *P. acnes* ha sido descrito y se han aislado distintas cepas de fagos capaces de lisar esta bacteria sin dañar el resto de la microbiota de la piel, sin embargo todos ellos son estudios *in vitro* y no existen estudios *in vivo* descritos en la literatura científica.

- Profilaxis en Heridas: en este caso el tratamiento con bacteriófagos tiene tanto la finalidad de tratar heridas infectadas como de prevenir la infección en heridas derivadas de cirugía, quemaduras o accidentes. Durante la Segunda Guerra Mundial la armada rusa utilizó de manera exitosa los fagos para tratar infecciones provocadas por *Clostridium difficile*, con una tasa de supervivencia de un 80% frente a un 60% cuando no se emplearon fagos.

Más Información en:

Abul-Hassan H.S., El-Tahan k Massoud B., Gomaa R. Bacteriophage therapy of Pseudomonas burn wound sepsis. *Annals Of the MBC*.1990; 3:262-4.

Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*. 2011;1:66-85

Jensen KC, Hair BB, Wienclaw TM, et al. Isolation and Host Range of Bacteriophage with Lytic Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Potential Use as a Fomite Decontaminant. *PLoS One*. 2015;10:e0131714.

Jikia D, Chkhaidze N, Imedashvili E, et al. The use of a novel biodegradable preparation capable of the sustained release of bacteriophages and ciprofloxacin, in the complex treatment of multidrug-resistant Staphylococcus aureus-infected local radiation injuries caused by exposure to Sr90. *Clin Exp Dermatol*. 2005;30:23-6.

Jończyk-Matysiak E, Weber-Dąbrowska B,

Żaczek M, et al. Prospects of Phage Application in the Treatment of Acne Caused by Propionibacterium acnes. *Front Microbiol*. 2017;8:164.

Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 2010;28:591-5

Leszczyński P, Weber-Dąbrowska B, Kohutnicka M, et al. Successful eradication of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) intestinal carrier status in a healthcare worker--case report. *Folia Microbiol(Praha)*. 2006;51:236-8.

O'Flaherty S, Ross RP, Meaney W, et al. Potential of the polyvalent anti-Staphylococcus bacteriophage K for control of antibiotic-resistant staphylococci from hospitals. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71:1836-42.

Rello J, Bunsow E, Perez A. What if there were no new antibiotics? A look at alternatives. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016;9:1547-55.

Tacconelli E, Magrini N. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research,

discovery, and development of new antibiotics [Internet]. Swizerland: WHO updates; 2017 [acceso en Mayo del 2017].

Verbeken G. Towards an adequate regulatory framework for bacteriophage therapy [Dissertation]. KU Leuven Biomedical Sciences Group, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences and Royal Military Academy Faculty of Social and Military Sciences Department of Behavioral Sciences; 2015.