

Revisión

Jordi Reina¹
Nuria Reina²

Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioticoterapia?

¹Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca.
²Facultat de Medicina, Universitat de Girona, Girona.

Article history

Received: 4 September 2017; Accepted: 30 October 2017

RESUMEN

Los bacteriófagos son los virus que infectan y parasitan a las bacterias. Pueden presentar un ciclo lítico que determine la lisis de la bacteria infectada. Cada fago es específico de un determinado género o especie bacteriana.

El incremento actual en la incidencia de resistencia anti-biótica en las bacterias humanas ha favorecido el estudio de los fagos como alternativa terapéutica (fagoterapia). Los estudios previos habían demostrado la eficacia de estos elementos en las infecciones cutáneas e intestinales. Están en marcha diferentes ensayos clínicos para establecer la seguridad, reactogenicidad y eficacia terapéutica de múltiples fagos.

Al ser elementos activos, los fagos deben someterse a rigurosos controles de calidad para asegurar la ausencia de efectos indeseables. La lisis bacteriana que provocan es de una magnitud inferior a la provocada por los antibióticos. Como problemas a resolver en el futuro están la posibilidad de utilizar mezclas de varios fagos, establecer la ruta idónea de administración y modificarlos genéticamente para que desactiven los genes de resistencia bacterianos.

Palabras clave: Bacteriofagos; Fagoterapia; Resistencia antibiótica.

Phage therapy, an alternative to antibiotic therapy?

ABSTRACT

Bacteriophages are viruses that infect and parasitize bacteria. They can present a lytic cycle that determines the lysis of the infected bacteria. Each phage is specific to a particular bacterial genus or species.

The current increase in the incidence of antibiotic resistance in human bacteria has favored the study of phages as a therapeutic alternative (phage therapy). Previous studies have shown the efficacy of these elements in cutaneous and intestinal infections. Different clinical trials are underway to establish the safety, reactogenicity and therapeutic efficacy of multiple phages.

Being active elements, phages must undergo rigorous quality controls to ensure the absence of undesirable effects. The bacterial lysis that they cause is of a magnitude inferior to the one provoked by the antibiotics. As problems to be solved in the future are the possibility of using mixtures of several phages, establish the ideal route of administration and modify them genetically to deactivate bacterial resistance genes.

Key words: Bacteriophages; Phage therapy; Antibiotic resistance.

Los bacteriófagos o fagos fueron descubiertos en 1917 [1,2] y son los virus que infectan y parasitan únicamente a las bacterias (huéspedes naturales). Se les considera elementos antibacterianos capaces de regular las poblaciones bacterianas naturales. Los fagos son esenciales para los ciclos biológicos de la naturaleza; se les puede detectar en cualquier ecosistema, habiéndose calculado que son capaces de infectar a más de 140 géneros bacterianos distintos y se considera que son las entidades biológicas más abundantes del planeta con cerca de 10^{31} fagos como masa biológica [1-3].

Correspondencia:
Jordi Reina
Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca.
E-mail: jorge.reina@ssib.es

Los fagos, como los otros virus, se unen a un receptor existente en la superficie bacteriana e inyectan su material genético, que luego se replica. Se conocen dos posibles ciclos biológicos de los fagos: (a) el lítico, tras la formación de la progenie viral se produce la lisis y muerte de la bacteria infectada; y (b) el latente, el genoma viral se inserta en el cromosoma bacteriano en forma de profago y se trasmite de forma horizontal en cada división celular. Cada tipo de fago es específico de un determinado género bacteriano o incluso de una sola especie dentro del mismo, lo cual determina un estrecho espectro pero independiente de su sensibilidad antibiótica [3,4].

El incremento actual en la incidencia de resistencia antibiótica en las bacterias humanas y animales, ha sido el fenómeno que ha reactualizado el posible papel de los fagos como alternativa terapéutica a los mismos [1,4,5]. En 2015 se celebró una reunión organizada por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para tratar el posible papel de la fagoterapia en el tratamiento de las bacterias multirresistentes [6]. La fagoterapia ya fue utilizada en Francia y Bélgica hace más de 100 años, una década antes del descubrimiento de la penicilina. Tras un importante interés inicial, incluso por la industria farmacéutica, esta estrategia fue abandonada en 1940 gracias a los avances en la antibioticoterapia [1,2,6,7].

A pesar de ello, la mayoría de los estudios europeos pioneros en este campo se realizaron en Polonia y la Unión Soviética. Slopek et al. [8,9] entre 1983 y 1987 administraron preparaciones de fagos en pacientes con infecciones superficiales (heridas, conjuntiva, nariz o oído) causadas por *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Los resultados mostraron una curación del 92,4%. En otro estudio realizado en pacientes con cáncer y bacteriemia bacteriana, la administración oral de fagos tres veces al día permitió la curación; en este caso el tratamiento antibiótico había fracasado [10,11]. A pesar de que estos estudios no estaban aleatorizados ni formaban parte de un ensayo clínico controlado, los autores consideran que con una curación cercana al 85%, puede aceptarse que la terapia con fagos muestra una prometedora alta eficacia en pacientes que no responden a los antibióticos [1,3].

La fagoterapia en los últimos años ha tenido una serie de importantes problemas. Así, debido a un escaso interés por parte de la industria farmacéutica no existen preparaciones comerciales de fagos en Europa o EEUU para uso humano; por otro lado las autoridades sanitarias mundiales no han previsto que la fagoterapia pudiera beneficiar a los pacientes y no se han elaborado guías sobre producción, calidad y seguridad de los mismos. El comportamiento de los fagos, al ser elementos infecciosos bacterianos, los hace biológicamente distintos de otras preparaciones farmacéuticas, aunque podrían regularse siguiendo las directrices de las vacunas víricas atenuadas [2,12]. A pesar de ello, existen preparados de fagos que son utilizados en la industria alimentaria para la eliminación de las principales bacterias enteropatógenas y que están aprobados por la FDA como elementos "considerados generalmente como seguros" [13].

Hasta 2005 no se realizó un estudio sobre la seguridad hu-

mana en la administración de preparaciones de fagos. En el trabajo de Bruttin et al. [14] los sujetos recibieron por vía oral el fago T4 en el agua de bebida a una concentración de 10^5 pfu/ml. No se detectaron efectos adversos asociados a la ingesta. Este dato favoreció el inicio en Europa occidental de los primeros ensayos para el tratamiento de las otitis causadas por *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados mostraron un 50% de disminución de los síntomas comparado con el 20% de los no tratados. Del mismo modo los pacientes tratados con fagos redujeron la carga bacteriana en un 80% mientras que los no tratados permanecía idéntica a las 3 semanas del análisis [11,14].

También los estudios realizados en modelos animales han mostrado unos resultados muy esperanzadores. Varios fagos han sido capaces de eliminar *Escherichia coli* multirresistentes del intestino murino [15,16] y han obtenido un porcentaje de supervivencia del 100% frente a sepsis por *P. aeruginosa* resistente a imipenem [17]. Sin embargo la mayoría de estudios en animales se han realizado bajo condiciones experimentales totalmente diferentes y no siempre comparables. A pesar de ello, y de forma global estos estudios demuestran la importancia del momento y de la vía de administración de estos fagos. De modo que su eficiencia disminuye a medida que se retrasa su administración y que la vía tópica o local parece obtener más eficacia que la oral [17,18].

La formación de biofilms durante la infección bacteriana es uno de los principales problemas en el control de las mismas. Las bacterias en los biofilms son extremadamente resistentes a los antibióticos, están protegidas de las defensas del huésped y acaban convirtiéndose en infecciones crónicas [19]. Algunos fagos son capaces de penetrar estos biofilms y podrían complementar al tratamiento antibiótico convencional. Algunos autores han comprobado como una mezcla de diferentes fagos frente a *Clostridium difficile* reducen significativamente los biofilms y previenen la colonización bacteriana de los mismos [20]. También se ha observado una disminución significativa en la formación de biofilms por parte de *Proteus mirabilis* en las infecciones asociadas a catéter urinario [2,16,19].

La sencillez del genoma de los fagos permite realizar innumerables alteraciones mediante ingeniería genética. Así se han modificado para que al utilizarlos conjuntamente con un antibiótico se incremente su actividad bactericida [12]. También su modificación genética ha permitido disminuir el desarrollo de resistencia bacteriana a ciertos antibióticos; la administración de fagos con genes de resistencia dominantes determina una disminución de la resistencia en las bacterias receptoras [12]. Recientemente se han elaborado fagos genéticamente modificados que incluyen el sistema de edición génica CRISPR-Cas9 para que detecten los genes bacterianos de resistencia y los inactiven [21].

En 2006 la FDA aprobó un ensayo clínico en Fase I con 42 pacientes con úlceras cutáneas para evaluar la seguridad de ocho combinaciones de fagos capaces de lisar a *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*; se obtuvieron unos resultados excelentes tanto en la seguridad como en la eficacia terapéutica (clinicaltrials.gov NCT00663091) [22]. Tres años más tarde se

realizó otro estudio sobre la seguridad, tolerabilidad y eficacia de la administración oral del fago T4 en el tratamiento de la diarrea toxigénica por *E. coli* en niños; los resultados mostraron ser una alternativa a la terapia antibiótica especialmente en los países en vías de desarrollo sin modificaciones sobre la flora intestinal de los pacientes (clinicaltrials.gov NCT00937274) [22].

En 2013 se puso en marcha el estudio Phagoburn, auspiciado por Comisión Europea bajo el 7º programa de investigación y desarrollo, destinado a evaluar la fagoterapia en las quemaduras infectadas por *E. coli* y *P. aeruginosa*. Además servirá para establecer las guías de utilización de esta nueva terapia en infecciones cutáneas (clinicaltrials.gov NCT0216010) [22]. En 2017 se inició un ensayo clínico para comparar las eficacias del tratamiento convencional mas fagos frente a la terapia sin fagos en el tratamiento de las úlceras del pie diabético infectadas por *S. aureus* (clinicaltrials.gov NCT02664740) [22].

Una de las principales desventajas de la fagoterapia es la necesidad de establecer rápidamente la etiología de la bacteria causante de la infección; ya que la excesiva especificidad de muchos fagos es un problema práctico. Sin embargo podría resolverse con el empleo de los combinados de fagos; la selección de fagos líticos potentes de una colección previa a la caracterización bacteriana constituiría la base de la terapia combinada empírica [5,23].

Otro problema sería el de la seguridad, es decir habría que analizar la habilidad innata potencial de los fagos para transferir ADN de una bacteria a otra. Este proceso de transferencia horizontal, transducción, podría ser la responsable de aportar determinantes de patogenicidad y factores de virulencia, determinado la formación o aparición de nuevas bacterias patógenas o mucho más resistentes. Para ello habría que elegir fagos sin capacidad de transmisión genética o modificarlos previamente para eliminar previamente este proceso natural [2,12,24].

Debe considerarse que el proceso final de la actividad biológica de los fagos es la lisis bacteriana, y ese proceso va a determinar la liberación de elementos bacterianos como las endotoxinas que pueden ser la causa del desarrollo de la cascada del complemento y el shock séptico. Aunque este mismo fenómeno se presenta también con el uso de diversos antibióticos [24-26]. Recientemente Dufour et al. [25] han demostrado que la liberación de endotoxinas por parte de dos fagos específicos de *E. coli* (LM33_P1 y 536_P1) es inferior a la inducida por antibióticos β -lactámicos. Este dato junto a la mayor rapidez del efecto bactericida, confirman la seguridad y eficacia de los mismos.

Los fagos, como otros virus, pueden ser reconocidos por el sistema inmune como elementos invasores y ser rápidamente eliminados del sistema circulatorio por el sistema reticuloendotelial o la inmunidad innata antes de que lleguen a los tejidos infectados, disminuyendo con ello su eficacia, especialmente en administraciones repetidas y prolongadas [2,15]. Estudios en animales han demostrado una reducción significativa de la carga de fagos sanguíneos tras su administración intravenosa; la fagocitosis hemática y hepática serían los responsables de esta rápida disminución [15-17].

Algunos estudios [27,28] han demostrado que la inducción

por parte del huésped de anticuerpos neutralizantes anti-fagos es uno de los principales factores responsables de la eficacia limitada de la fagoterapia. El desarrollo de este tipo de anticuerpos no es un problema significativo en la fase inicial del tratamiento de las infecciones agudas, ya que la cinética fágica es mucho más rápida que la producción de estos anticuerpos. Sin embargo su presencia si puede ser un obstáculo si se precisan administraciones posteriores o tratamientos crónicos [28]. Se han propuesto tres posibles soluciones frente a este fenómeno que son: (a) utilizar una mezcla de fagos distintos; (b) incrementar la concentración de fagos y (c) dosis más frecuentes que dificulten la respuesta del sistema inmune [16].

También debe tenerse en cuenta la posibilidad de que las propias bacterias dianas desarrollen resistencia frente a sus propios fagos. Así se ha comprobado como las bacterias pueden modificar o perder su receptor de membrana para el fago y dejar de ser susceptible al mismo. No se sabe con certeza el tiempo necesario o la dosis de fagos que podría inducir este cambio, pero probablemente pueda seguir un camino semejante al de la resistencia antibiótica [12,16].

Todavía queda por establecer la mejor vía de administración de la fagoterapia, en estos momentos la parenteral, e incluso mucho mejor la intraperitoneal, parece ser la más eficaz para obtener dosis intravenosas terapéuticas [2,6]. La vía oral se reservaría para las diarreas, aunque la acidez gástrica y la actividad proteolítica gástrica podrían reducir la dosis final activa [1,17]. Por otro lado la administración de antibióticos determina una importante afectación y modificación del microbioma intestinal, proceso que no se produciría con la administración oral de los fagos; además evitan el posible sobrecrecimiento bacteriano resultante de esta alteración intestinal [6,20]. Además de ello, y a pesar de la mayor duración de la fagoterapia, su coste siempre se ha demostrado ser inferior al de los antibióticos, por ello supondrían un ahorro [2,10,29].

Es posible que la fagoterapia no sea una panacea, pero es muy probable que encuentre aplicación y utilidad en aquellas infecciones que cumplan condiciones favorables, como las causadas por bacterias multirresistentes sin alternativas, cargas bacterianas elevadas y fácil accesibilidad anatómica al foco de la infección. Para ello deberán mejorarse los controles de calidad y seguridad de los preparados fágicos [30,31]. El incremento progresivo de las bacterias resistentes a los antibióticos (antibioticoterapia) va a obligar a la comunidad médica a explorar otras alternativas a estos fármacos y la fagoterapia no debería descartarse en el futuro.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence* 2014; 5:226-35. DOI: 10.4161/viru.25991
- Abedon ST, Garcia P, Mullany P, Aminov R. Phage therapy: past, present and future. *Front Microbiol* 2017; 8:981. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00981
- Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: an alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2017; 8:162-73. DOI:10.4292/wjgpt.v8.i3.162
- Chanishvili N. Phage therapy: history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res* 2012; 83:3-40. DOI: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00001-3
- Nobrega FL, Costa AR, Kluskens LD, Azeredo J. Revisiting phage therapy: new applications for old resources. *Trends Microbiol* 2015; 23:185-91. DOI: 10.1016/j.tim.2015.01.006
- Debarbieux L, Pirnay JP, Verbeken G, De Vos D, Merabishvili M, Huys I et al. A bacteriophage journey at the European Medicines Agency. *FEMS Microbiol Lett* 2016; 363:fnv225. DOI: 10.1093/femsle/fnv225
- Dufour N, Debarbieux L. La phagothérapie. Un arme crédible face à l'antibiorésistance. *Médecine/Sciences* 2017; 33:410-6. DOI:10.1051/medsci/20173304011
- Slopek S, Durlakowa I, Kucharewicz-Krukowska B, Dabrowski M, Bisi-kiewicz R. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. *Arch Immunol Ther Ex* 1983; 31:293-327. PMID: 6651485
- Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Ex* 1987; 35:569-83. PMID: 3455647
- Kingwell K. Bacteriophage therapies re-enter clinical trials. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14:515-6. DOI: 10.1038/nrd4695
- Górski A, Miedzybrodzi R, Weber-Dabrowska B, Fortuna W, Letkiewicz S, Rogóz P et al. Phage therapy: combating infections with potential for evolving from merely a treatment for complications to targeting diseases. *Front Microbiol* 2016; 7:1515. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01515
- Pires DP, Cleto S, Sillankorva S, Zedero J, Lu TK. Genetically engineered phages: a review of advances over the last decade. *Microbiol Mol Biol Rev* 2016; 80:523-43. DOI: 10.1128/MMBR.00069-15
- Endersen I, O'Mahony J, Hill C, Ross RP, McAuliffe O, Coffey A. Phage therapy in the food industry. *Annu Rev Food Sci Technol* 2014; 5:327-49. DOI: 10.1146/annurev-food-030713-092415
- Bruttin A, Brüssow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:2874-8. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005
- Lu TK, Koeris MS. The next generation of bacteriophage therapy. *Curr Op Microbiol* 2011; 14:524-31. DOI: 10.1016/j.mib.2011.07.028
- Cisek AA, Dabrowska I, Gregorczyk KP, Wyzewski Z. Phage therapy in bacterial infections treatment: one hundred years after the discovery of bacteriophages. *Curr Microbiol* 2017; 74:277-83. DOI: 10.1016/j.mib.2011.07.028
- Brüssow H. Phage therapy for the treatment of human intestinal bacterial infections: son to be a reality?. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11(9):785-788. DOI:10.1080/17474124.2017.1342534.
- Viertel TM, Ritter K, Horz HP. Viruses versus bacteria-novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:2326-36. DOI: 10.1093/jac/dku173
- Cooper RA, Bjarnsholt T, Alhede M. Biofilms in wounds: a review of present knowledge. *J Wound Care* 2014; 23:570-80. DOI:10.12968/jowc.2014.23.11.570
- Azeredo J, Sutherland IW. The use of phages for the removal of infectious biofilms. *Curr Pharm Biotechnol* 2008; 9:261-6. PMID: 18691087
- Reardon S. Phage therapy gets revitalized. *Nature* 2014; 510:15-6. DOI: 10.1038/510015a
- Criscuolo E, Spadini S, Lammanna J, Ferro M, Burioni R. Bacteriophages and their immunological applications against infectious threats. *J Immunol Res* 2017; 3780697. DOI: 10.1155/2017/3780697
- Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiol* 2013; 8:769-83. DOI:10.2217/fmb.13.47
- Reindel R, Fiore CR. Phage therapy: considerations and challenges for development. *Clin Infect Dis* 2017; 64:1589-90. DOI: 10.1093/cid/cix188
- Dufour N, Delattre R, Ricard JD, Debarbieux L. The lysis of pathogenic *Escherichia coli* by bacteriophages releases less endotoxin than by β -lactams. *Clin Infect Dis* 2017; 64:1582-8. DOI: 10.1093/cid/cix184
- O'Flaherty S, Ross RP, Coffey A. Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2009; 33:801-19. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00176.x
- Smith HW, Huggins MB, Shaw KM. Factors influencing the survival and multiplication of bacteriophages in calves and in their environment. *J Gen Microbiol* 1987; 133:1127-35. DOI: 10.1099/00221287-133-5-1127
- Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:649-59. DOI: 10.1128/AAC.45.3.649-659.2001
- Kutter EM, Kuhl SJ, Abedon ST. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine. *Future Microbiol* 2015; 10:685-8. DOI: 10.2217/fmb.15.28
- Merabishvili M, Pirnay JP, Verbeken G, Chanishvili N, Tediashvili M, Lashki N et al. Quality-controlled small-scale production of well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. *PLoS One* 2009; 4:e4944. DOI: 10.1371/journal.pone.0004944
- Pirnay JP, Blasdel BG, Bretaudeau L, Bucking A, Chanishvili N, Clark JP et al. Quality and safety requirements for sustainable phage therapy products. *Pharm Res* 2015; 32:2173-9. DOI: 10.1007/s11095-014-1617-7