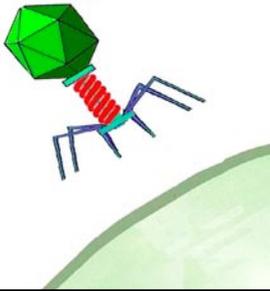
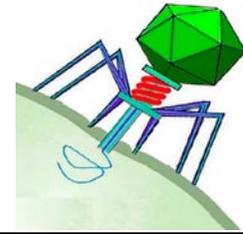


## VIRUS QUE MATAN BACTERIAS: ¿EL FIN DE LOS ANTIMICROBIANOS?



*Consuelo Borie, MV, Mag. Sc.  
Carlos Navarro, BQ, Mag. Sc. Vet.*



Descubiertos en 1915 por Twort y en 1917 por D'Herelle, estas partículas fueron definidas como virus capaces de infectar y causar la lisis de ciertas bacterias; es por esta razón que son habitualmente denominados como bacteriófagos líticos. Existen también otros fagos que infectan bacterias, los bacteriófagos lisogénicos, que no lisan bacterias sino más bien se integran directamente al genoma bacteriano y, sólo frente a ciertas condiciones pueden liberarse y lisar la bacteria que los contiene.

Cada tipo de fago tiene como blanco una bacteria específica, en la cual reconoce receptores de superficie, se une a ellos e inyecta su genoma (ADN o ARN) al interior de la célula. Una vez que el genoma viral ha entrado al interior de la bacteria, ocupa la maquinaria enzimática de ella para sintetizar sus propios componentes virales que,

luego de ser ensamblados, producen cientos de partículas virales (progenie viral). Entre todos los componentes virales que se sintetizan, aparecen ciertas enzimas (denominadas endolisinas) que rompen la pared celular bacteriana, liberando así la progenie viral. En este proceso, la célula bacteriana infectada muere y el número de fagos se incrementa, por ello se dice que ellos son “autoreplicativos”. Estos nuevos fagos producidos buscarán nuevas bacterias para infectar. La dinámica de este proceso se asemeja al tradicional sistema depredador/presa (Figura 1).

Los fagos se presentan en todos los ecosistemas donde existen bacterias, y en altas concentraciones, generalmente 100 a 1000 veces mayor que las concentraciones bacterianas. En el ser humano, se han aislado numerosos fagos desde contenido

intestinal, orina y cavidad oral. El rol principal de los fagos en la naturaleza sería controlar y equilibrar las poblaciones bacterianas.

La elevada especificidad de un bacteriófago por una bacteria (hospedero) hace que su efecto lítico sobre otras poblaciones bacterianas sea mínimo, en otras palabras, un bacteriófago sólo provoca la lisis de bacterias altamente relacionadas o emparentadas entre sí. Esta notable característica permitió que, tempranamente desde su descubrimiento, se utilizaran como “agentes terapéuticos” frente a ciertas infecciones bacterianas. El inicio de las fagoterapias se remonta a un Hospital Pediátrico en Francia en pacientes afectados por diarreas disintéricas de origen bacteriano. Los buenos resultados clínicos observados en ese entonces, dieron paso a su utilización masiva, preferentemente en la medicina humana.

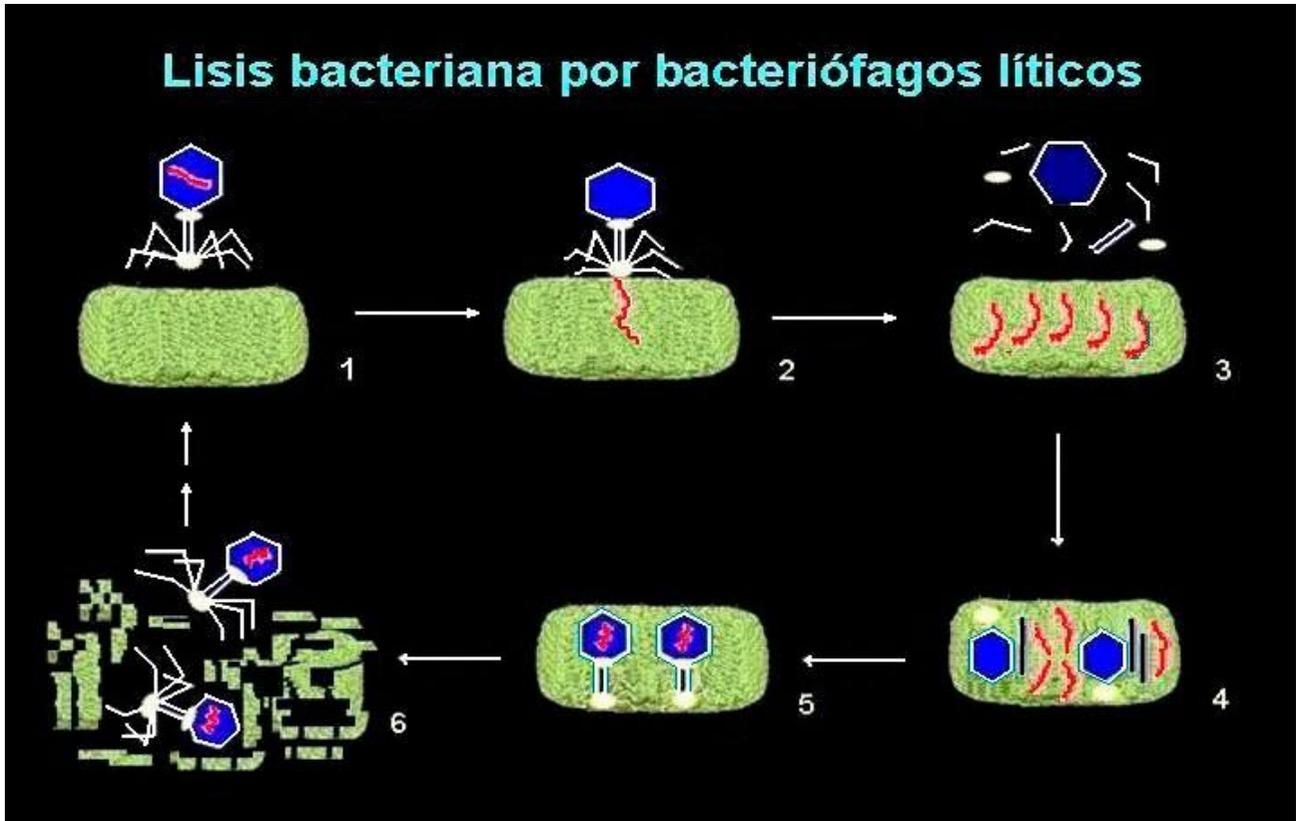


Figura 1: Esquema del ciclo lítico de un fago.

1.- Adsorción a la pared de la bacteria  
2.- Inyección del material genómico  
3 y 4.- Multiplicación

5.- Ensamble.  
6.- Lisis celular

Luego de algunos años, y en ausencia de una mayor comprensión sobre la biología de los fagos, se presentaron algunos problemas o fallas en la terapia, relacionados a la alta especificidad de hospedero (confusión para determinar la bacteria blanco), pureza insuficiente de las preparaciones (presencia de endotoxinas bacterianas que agravaron los cuadros clínicos), estabilidad y viabilidad de los fagos, inadecuado conocimiento sobre el modo de acción de los fagos (líticos versus lisogénicos) y fenómeno de resistencia de las bacterias hacia los fagos.

Sumado a estos problemas, el nacimiento de la Era de los Antimicrobianos restó importancia terapéutica a los fagos líticos y sólo unos pocos países (Polonia y Ex Unión Soviética) continuaron investigando alternativas para mejorar la eficiencia de las fagoterapias en la población humana. Sin embargo, pocos años después, el uso y abuso de los antimicrobianos hizo inevitable la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos, incluso frente a drogas de última generación, debiendo entonces buscar nuevas herramientas alternativas. En este contexto, reapareció nuevamente la idea de la utilización de fagos como

terapia frente a infecciones bacterianas y además, como sistema biocontrolador de patógenos bacterianos en alimentos contaminados.

El renacimiento de la fagoterapia en la Medicina Veterinaria ocurrió en la década del 80, liderada por el "Institute of Animal Disease and Research" en Houghton, Cambridgeshire, Gran Bretaña. Sus investigadores fueron los pioneros en realizar fagoterapia en ratas experimentalmente inoculadas con la bacteria *Escherichia coli* y, posteriormente, lo hicieron en ovejas, cerdos y terneros que cursaban diarrea por esta

misma bacteria; estas fagoterapias lograron reducir el número de *E. coli* patógena en el tracto digestivo y con ello, disminuir la mortalidad de los animales tratados. Posteriormente y con resultados promisorios, en la década del 90 aparecen estudios en otros animales de consumo, como pollos y peces infectados con bacterias patógenas y zoonóticas tal como *Salmonella* spp y *Campylobacter jejuni*.

Las fagoterapias en animales pueden ser preventivas (antes de que ocurra la infección) y curativas (durante la enfermedad), y en todas ellas se suelen utilizar altas concentraciones de fagos en relación a la concentración de bacteria (también denominado como multiplicidad de infección), generalmente a mayor dosis de fagos mejor son los resultados. En todas las fagoterapias, nunca se ha informado que los bacteriófagos, en altas o bajas dosis, fueran tóxicos para los animales.

Por otro lado, las terapias pueden ser realizadas entregando el fago por el alimento, agua de bebida, vía intramuscular, intraperitoneal y por aerosoles (spray); los resultados dependerán más que de la vía de administración, de la factibilidad que el fago logre llegar en alta concentración al sitio de infección bacteriana. Se ha demostrado que ellos pasan a la sangre (fagemia), desde donde pueden colonizar diferentes órganos internos. La fagemia es breve, a menos que

la bacteria se encuentre en sangre (septicemia); algunos estudios señalan que los fagos son rápidamente eliminados por el sistema inmune del animal que recibe el tratamiento.

El Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile junto con el Instituto de Biología, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, gracias al proyecto Fondecyt 1060569, han logrado determinar la efectividad *in vitro* e *in vivo* de un “cocktail” de tres fagos nativos líticos frente a *Salmonella Enteritidis* (Figura 2).

Estos virus fueron aislados desde aguas de alcantarillado asociadas a planteles avícolas. En los resultados iniciales en pollos experimentalmente infectados con *Salmonella* se observó no sólo una disminución del número de animales infectados sino también una fuerte disminución del número de bacterias en el intestino de las aves que

recibieron los fagos, hecho que permitiría disminuir el riesgo de contaminación fecal de las carnes y huevos.

En el ámbito clínico, las ventajas de la utilización de fagos por sobre los antimicrobianos son: estrecho espectro de acción, evitando con ello la producción de una disbacteriosis (alteración de la flora bacteriana normal), la selección de nuevos fagos es un proceso más rápido que el desarrollo de nuevos antimicrobianos, la tasa de resistencia bacteriana frente al fago es mucho menor que el nivel de resistencia esperado frente a los antimicrobianos, son autoreplicativos y por ello amplifican su efecto mientras que, los antimicrobianos necesitan dosificarse frecuentemente (cada 8, 12 o 24 horas).

El fenómeno de resistencia bacteriana frente a fagos está descrito; ocurre por mutaciones del ADN o bien, por adquisición horizontal de elementos genéticos, de una forma que recuerda lo que

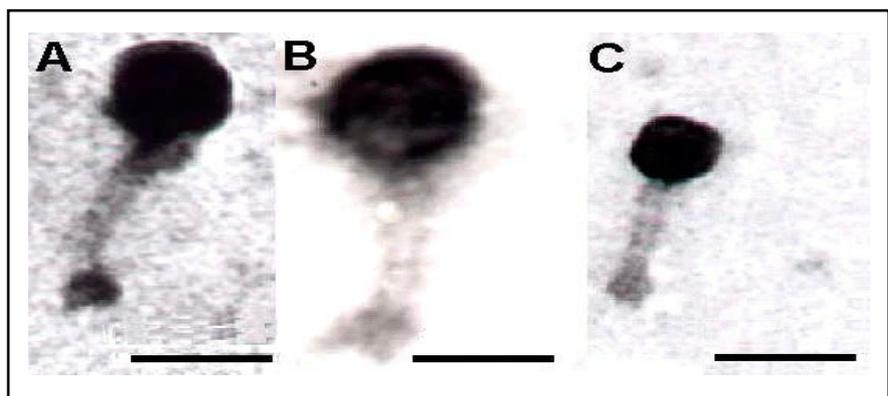


Figura 2: Microscopía electrónica de transmisión.

A : fago 1  
B : fago 2

C : fago 3  
— : 50nm.



También se comprobó que los fagos pueden administrarse tanto por el agua de bebida como por aerosoles (spray), obteniendo buenos resultados en ambos casos. Los estudios *in vitro*, permitieron caracterizar estos tres fagos como altamente resistentes a cambios de temperatura y pH, permaneciendo viables en altas concentraciones por hasta 30 días en agua de la llave. Estas partículas virales fueron de fácil y económica producción, hecho de notable interés para aplicaciones masivas.

ocurre con los antimicrobianos tradicionales. Esta resistencia sería baja, y puede ser disminuida más aún si se utilizan mezclas de varios fagos en la terapia (“cocktail”).

Entre las desventajas de la fagoterapia figuran: la imperiosa nece-

En agosto del año 2006 la “Food and Drug Administration” (FDA) y el “Department of Agricultural” (USDA) de EEUU aprobaron por primera vez una mezcla de bacteriófagos como aditivo alimenticio para el control de *Listeria monocytogenes* en preparados de carnes de cerdo y aves de consumo rápido.



sidad de conocer la bacteria que está generando el cuadro infeccioso para lograr seleccionar el fago específico, la posibilidad que el fago lítico en algún momento pase a fago lisogénico perdiendo su acción y, los escasos estudios de largo plazo sobre posibles interrelaciones génicas con el genoma bacteriano y, eventualmente, con el genoma de células animales y del ser humano.

Además de la aplicación clínica, la industria de alimentos también ha incursionado en el uso de fagos para la reducción de patógenos importantes para la Salud Pública tales como *Salmonella* spp., *E. coli* enterohemorrágico, *Campylobacter* yeyuni y *Listeria monocytogenes*. Algunas experiencias prometedoras se han realizado en Queso Cheddar, melones y manzanas, carcasas y piel de pollos, contaminados experimentalmente con *Salmonella* spp y posteriormente tratados con fagos en forma de aerosol. La aplicación de fagos logró disminuir la cantidad de *Sal-*

*monella* spp presente en estos alimentos, pero nunca llegó a destruir completamente todas las bacterias.

Estos trabajos indican entonces que la aplicación de fagos puede ser efectiva no sólo como terapia en pacientes infectados por una bacteria sino también como una herramienta preventiva de enfermedades transmitidas por los alimentos. Entre las ventajas de los fagos en la industria de alimentos se encuentra: no afectan la calidad organoléptica de los alimentos, hasta la fecha no se ha descrito que sean tóxicos para los animales ni para el ser humano, tienen buena tolerancia frente a diversos pH y temperaturas, son fáciles de aplicar y de un costo bajo.

Finalmente, aunque faltan mayores investigaciones sobre su utilización, los resultados observados en las terapias preventivas, curativas y de biocontrol son prometedoras como una nueva herramienta para ser considerada a futuro.

#### BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA:

- FIorentin, L., Vieira, N., Barioni W. 2005. Oral treatment with bacteriophages reduce the concentration of salmonella Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathol.* 34; 258-236
- SULAKVELIDZE, A., ALAVIDZE, Z., MORRIS, G. 2001. bacteriophage therapy. *Antimicrob. agents chemother.* 45:649-659

Dra Consuelo Borie, M.V.; Mag.Sc BQ Carlos Navarro, BQ.; Mg.Sc.Vet. Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile