

6. Antibacterianos inspirados en fagos

6.2. Fagos para combatir biofilms

Slide nr. and content:

- 1) ¿Cómo pueden los fagos ayudarnos a combatir los biofilms? Antes de intentar contestar a esta pregunta, vamos a presentaros el mundo de los biofilms. Posteriormente, descubriremos cómo los fagos y sus enzimas nos pueden ayudar a superar la amenaza que supone los biofilms.
- 2) Así que, ¿qué es un biofilm? Los biofilms son grupos organizados de células bacterianas, constituidos por una única bacteria o por una combinación de varias especies bacterianas. Las bacterias se encuentran embebidas en una matriz organizada producida por las propias bacterias y formada por sustancias poliméricas, también llamadas EPS. Esta matriz de EPS está frecuentemente compuesta de polisacáridos, pero puede también incluir proteínas e incluso ADN.

Para ilustrar la composición de este biofilm, describiremos brevemente su formación. En primer lugar, las células bacterianas se adhieren a la superficie. En segundo lugar, comienza la producción de EPS, provocando la adherencia irreversible de las células a la superficie. En una tercera fase, las células se mueven y forman agrupaciones, finalmente formando el biofilm. En este estadio, la matriz EPS se encuentra organizada con canales que permiten el transporte de nutrientes y oxígeno, favoreciendo la aparición de distintos tipos celulares en el biofilm. Finalmente, las células pueden despegarse y emigrar para fundar un nuevo biofilm.

Como podéis observar, la matriz EPS es una de las principales características de un biofilm, pero es también responsable de los problemas asociados al tratamiento de los biofilms. El EPS no solo protege a las células de estreses ambientales como la oxidación, sino que también las protege de los antibióticos y del sistema inmunitario, haciendo que los biofilms sean mucho más difíciles de tratar que las bacterias libres.

- 3) Bien, ¿Cómo pueden ayudarnos los fagos a combatir estos biofilms? Mezclas de fagos son capaces de reducir la cantidad de biofilm. Los experimentos mostraron que un conjunto de 3 fagos pudo erradicar un biofilm compuesto por una especie bacteriana. Pero, la mayoría de los biofilms están compuestos por múltiples tipos de bacteria. En este caso, las mezclas de fagos no fueron capaces de eliminar ni tan siquiera una de las especies.

Existen algunas limitaciones en el uso de fagos y mezclas de fagos. Como se indica en la figura, se necesitarán mezclas de fagos muy complejas y diversas para reducir los biofilms multi-especie. En este tipo de biofilms, las bacterias diana están rodeadas de otras, que no son sensibles al fago usado y, por tanto, protegen a la bacteria

sensible. Por último, existe también la posibilidad de que las bacterias se vuelvan resistentes a los fagos.

Los fagos por si solos no son suficientes para combatir los biofilms, pero los fagos han encontrado la manera de infectar a las bacterias que forman un biofilm, utilizando enzimas específicos, concretamente EPS o polisacárido depolimerasas.

- 4) Diferentes grupos de fagos producen depolimerasas. Estas depolimerasas pueden encontrarse en el propio fago, mayoritariamente en la cola o la cápsida, o pueden ser secretadas al exterior. Las enzimas rompen el enlace entre los polisacáridos. Atacan el lipopolisacárido, llamado LPS, de tal modo que los fagos se puedan adherir sobre la envuelta bacteriana, pero también pueden degradar la compleja matriz EPS.

Y así se demuestra cómo estos enzimas pueden ayudarnos a combatir biofilms. Las depolimerasas degradan la matriz EPS, destruyendo la estructura protectora que rodea a las células, permitiendo el tratamiento con antibióticos. La combinación de depolimerasas y antibióticos puede llegar a eliminar por completo el biofilm.

- 5) Seguidamente, vamos a utilizar algunos ejemplos de investigación para conocer mejor el potencial de estas depolimerasas.

El primer ejemplo es sobre “depolimerasas y fibrosis quística”. Los pacientes FQ se enfrentan a un denso y muy viscoso mucus en sus pulmones, dificultando la respiración, pero el mucus es un excelente lugar para que patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* establezca un biofilm. Para luchar frente a los biofilms de *P. aeruginosa*, se inició la búsqueda de fagos que degradasen la matriz EPS. Se encontraron 4 fagos, capaces de degradar los polisacáridos que procedían del EPS de la matriz de *P. aeruginosa*. Esto demuestra la posibilidad de identificar fagos que produzcan depolimerasas para combatir enfermedades específicas mediadas por biofilms.

Actualmente, otros investigadores avanzaron un paso más, al investigar depolimerasas de fagos frente a *Staphylococcus aureus*, un agente frecuente de infecciones hospitalarias. Se descubrió una nueva polimerasa, capaz de eliminar hasta un 90% de las células del biofilm. Pero el mayor logro fue que la proteína podía funcionar independientemente del fago. Esto abre una vía para combinar depolimerasas y antibióticos para erradicar biofilms.

Para concluir, os daré una pista más sobre la selección de polimerasas. Dado que la composición del EPS depende de la bacteria que se encuentra dentro del biofilm, las depolimerasas más prometedoras se encontrarán en aquellos fagos que han co-evolucionado con las bacterias diana.

- 6) Para finalizar este tema, vamos a mostraros un ejemplo de cómo se puede utilizar la ingeniería de fagos para combinar las propiedades líticas de los fagos con las de degradación de EPS de los enzimas.

Si se quiere llevar a cabo esta estrategia, lo primero es seleccionar un fago que sea específico de una de las bacterias más representativas del biofilm. Luego, permites a la bacteria que exprese una depolimerasa de amplio espectro, que sea secretada al exterior. Este estudio utilizó “dispersina B, una enzima que actúa sobre muchas especies.

El fago generado infecta el biofilm. Tras la infección, el fago se replica dentro de la bacteria, mientras que la Dispersina B se expresa. Una vez que ocurre la lisis de las células, tanto el fago como la enzima son liberados, permitiendo una infección continuada por el fago y, de este modo, matando a la bacteria, mientras que el enzima degrada activamente el EPS, lo que permite al fago llegar hasta todas las bacterias. Esta estrategia consiguió eliminar un 99% de las bacterias del biofilm.