

# Bacteriófagos no tratamento de feridas

## *Bacteriophages for wound treatment*

Joana Flores<sup>1,6\*</sup>, Pilar Baylina<sup>1,2</sup>, Victor Balcão<sup>1,3,4</sup>, Aníbal Justiniano<sup>5</sup>, Paul Gibbs<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa

<sup>2</sup> Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto – Instituto Politécnico do Porto

<sup>3</sup> Universidade Fernando Pessoa

<sup>4</sup> Instituto para a Biotecnologia e a Bioengenharia, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho

<sup>5</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Católica Portuguesa

<sup>6</sup> Innophage, Lda.

### Resumo

As infecções bacterianas, particularmente as causadas por bactérias resistentes aos antibióticos, permanecem a principal causa de morte entre pacientes hospitalizados com queimaduras e feridas. Para além da terapêutica sistémica, um elemento-chave na gestão de feridas infectadas é a aplicação local de antimicrobianos eficazes. Os bacteriófagos (ou fagos) têm demonstrado um elevado potencial de cura no tratamento de feridas infectadas com estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos.

**Palavras-chave:** bacteriófagos, fagos, biofilme, feridas, queimaduras

### Abstract

*Bacterial infections, particularly the ones caused by antibiotic resistant bacteria, remain as the main cause of death among hospitalized patients with burns and ulcers. Besides systemic therapy, a key element on wound management is the local application of effective antimicrobial agents. Bacteriophages (or phages) have been shown as promising candidates (used alone or as complementary to antibiotic therapy) to target antibiotic-resistant bacteria on wound treatment.*

**Keywords:** bacteriophages, phages, biofilm, wounds, burns

### Introdução

As infecções permanecem a principal causa de morte entre pacientes hospitalizados com queimaduras e feridas. Para além da terapêutica sistémica, um elemento-chave na gestão de feridas infectadas é o tratamento antimicrobiano através da aplicação local de fármacos eficazes (Greenhalgh, 2007). As taxas de mortalidade por sepsis causada por feridas de queimadura são elevadas, com a *Pseudomonas aeruginosa* a ocupar um papel relevante como agente etiológico dessas infecções severas (taxa de mortalidade de 50 %). A emergência de estirpes bacterianas resistentes e a fraca penetração local dos antibióticos nas feridas elevam a necessidade de opções seguras e eficazes de tratamento antimicrobiano.

Quando as bactérias se ligam à superfície de uma ferida e escapam às defesas do organismo,

dividem-se e formam uma substância protectora (denominada “substância polimérica extracelular”, EPS) que as liga ainda mais à superfície, podendo rapidamente formar um biofilme que a reveste. Este biofilme é, na verdade, um organismo multicelular com várias defesas bem reconhecidas, sinergias entre diferentes tipos de bactérias e com a capacidade de se autoregenerar muito rapidamente (Azeredo and Sutherland, 2008).

As bactérias na arquitectura do biofilme são muito diferentes daquelas na forma planctónica (bactérias livremente flutuantes sem defesas de colónia, que colonizam a superfície de uma ferida), com apenas 3 % das proteínas na membrana exterior a serem homólogas entre os dois (Hughes *et al.*, 1998). Estas diferenças fenotípicas, somadas a diferenças metabólicas nas diferentes regiões do biofilme, tornam muito difícil, se não impossível, erradicar o biofilme.

\* jmlopes@mail.esb.ucp.pt

A aplicação tópica de antibióticos, ou até de antissépticos, nas feridas torna-se progressivamente ineficaz pela capacidade de resposta e adaptação das bactérias do biofilme, levando ao aparecimento de estirpes resistentes. A terapia fágica compreende a utilização de bacteriófagos (ou fagos) para combater infecções bacterianas. Com o aumento da resistência aos antibióticos, o uso de bacteriófagos como agentes antibacterianos está a ser reequacionado para complementar o tratamento antimicrobiano sistémico. As potenciais vantagens da utilização de bacteriófagos resultam da sua especificidade e capacidade de multiplicação.

Os fagos são um tipo de vírus que infecta unicamente bactérias. São metabolicamente inertes e reproduzem-se, após infecção, utilizando a maquinaria celular, da bactéria-hospedeira. Podem ser encontrados no solo, na água, nos efluentes, *i.e.*, em todos os ambientes passíveis de colonização bacteriana. Do ponto de vista ecológico, existem em elevada variedade e apresentam a mesma versatilidade que as bactérias-hospedeiras. Dependendo das espécies de bactérias e das condições do meio, cada fago pode multiplicar-se 50 a 200 vezes em cada ciclo lítico e o seu tempo de actuação pode variar entre 10 a 40 minutos. Os fagos líticos apenas atacam células bacterianas e não representam qualquer tipo de efeito adverso nos seres humanos, animais e meio ambiente.

A aplicação de bacteriófagos no tratamento de feridas tem sido proposta como alternativa (ou complemento) aos antibióticos, permitindo a libertação dos predadores naturais das bactérias directamente sobre as feridas. A terapia fágica tem sido utilizada para prevenir e tratar infecções bacterianas em vários países da anterior União Soviética e até em algumas clínicas nos E.U.A e no México. São, no entanto, ainda necessários ensaios pré-clínicos e clínicos adequados para a sua introdução no Ocidente.

Um cocktail fágico para o tratamento de feridas deverá (i) incluir vários tipos de fagos estritamente líticos para *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus spp.* e *Streptococcus*, entre outros; (ii) ser não-tóxico quando administrado topicamente, incluindo em feridas com osso exposto.

Uma vantagem do tratamento com fagos, relativamente aos antimicrobianos de aplicação local, reside no facto de se replicarem no local da infecção, ficando disponíveis em abundância onde são mais necessários.

Quando comparados com os antimicrobianos de aplicação local, os fagos apresentam vantagens relevantes: (i) forte permeabilidade tecidual; (ii) concentração permanentemente elevada no foco da infecção, aumentando mesmo com a presença bacteriana; (iii) eliminação do foco da infecção, apenas após erradicação da bactéria hospedeira; (iv) compatibilidade total com os antibióticos; (v) especificidade para a bactéria-alvo; (vi) capacidade superior de penetração nos biofilmes bacterianos, induzindo a produção de enzimas que hidrolizam a matriz do biofilme; (vii) embora as bactérias possam desenvolver resistência aos fagos, isolar novos fagos líticos é muito mais simples e barato do que desenvolver um novo antibiótico; (viii) a fagoterapia é significativamente mais económica do que a terapia antibiótica, tanto no desenvolvimento como na produção em larga escala; e (ix) a fagoterapia de infecções locais é, pois, altamente eficaz e mais económica.

## Bibliografia

1. Azeredo, J., Sutherland, I. W. (2008). The use of phages for the removal of infectious biofilms. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 9: 261-266.
2. Greenhalgh, D.G. (2007). American Burn Association Consensus Conference to Define Sepsis and Infection in Burns. *J Burn Care Res* 28:776-790.
3. Hughes, K.A., Sutherland, I.W., Jones, M.V. (1998). Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. *Microbiology* 144: 3039-3047.
4. Lu, T.K., Collins, J.J. (2007). Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *PNAS* 104: 11197-11202.
5. Markoishvili, K. *et al.* (2002). A novel sustained-release matrix based on biodegradable poly(ester amide)s and impregnated with bacteriophages and an antibiotic shows promise in management of infected venous stasis ulcers and other poorly healing wounds. *Int J Dermatol* 41 (7), 453-8.