Artículos de Revisión

Los enemigos de las bacterias: los bacteriófagos

Lucía Fernández Llamas, Ana Catarina Leal Duarte, Seila Agún García, Andrea Jurado Muñoz, Ana Rodríguez González y Pilar García Suárez

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC) Villaviciosa, Asturias DairySafe Group. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA) Oviedo, Asturias

Resumen

La capacidad lítica de los bacteriófagos frente a las bacterias los ha convertido en protagonistas de la denominada terapia fágica, una alternativa prometedora frente al grave problema de la resistencia a los antibióticos. La abundancia y diversidad de los fagos, y la aparente sencillez de su ciclo de vida, facilita su manejo y estudio. Es por ello que los bacteriófagos han servido durante décadas como modelos de procesos biológicos y herramientas de manipulación genética, sin las que la biología molecular moderna no habría alcanzado el nivel de desarrollo actual. Desde el descubrimiento de los fagos y su aplicación casi empírica en el tratamiento de enfermedades infecciosas hasta la actualidad, hemos acumulado el conocimiento y las tecnologías necesarias para adaptar las capacidades de estos virus a las necesidades actuales de eliminación de patógenos en ambientes tan diferentes como la clínica o la industria alimentaria. Los resultados obtenidos en los últimos años apuntan a la utilidad no solo de los fagos sino también de algunas de sus proteínas (endolisinas) como terapéuticos, profilácticos, bioconservantes o desinfectantes. Buena prueba de ello es la puesta en el mercado de algunos productos fágicos y los primeros informes emitidos por la EMA sobre la regulación de los productos fágicos en sectores como la veterinaria.

Summary

he lytic capacity of bacteriophages against bacteria has made them protagonists of the so-called phage therapy, a promising alternative to the serious problem of antibiotic resistance. The abundance and diversity of phages, and the apparent simplicity of their life cycle, facilitate their handling and study. For this reason, bacteriophages have served for decades as models of biological processes and tools for genetic manipulation, without which modern molecular biology

would not have reached its current level of development. Since the discovery of phages and their quasi-empirical application in the treatment of infectious diseases to the present, we have accumulated the knowledge and technologies necessary to adapt the capabilities of these viruses to the current needs for eliminating pathogens in environments as different as the clinic and the food industry. The results obtained in recent years point to the usefulness not only of phages but also of some phage proteins (endolysins) as therapeutics, prophylactics, biopreservatives, or disinfectants. Proof of this is the placing on the market of some phage products and the first reports issued by the EMA on the regulation of phage products in sectors such as veterinary medicine.

Los bacteriófagos (o fagos) son los virus que infectan a las bacterias y representan las entidades biológicas más abundantes en la Tierra. Las partículas fágicas exhiben diferentes morfotipos. Según su forma, tamaño y tipo de ácido nucleico, los bacteriófagos se han clasificado en

diferentes taxones. Se ha estimado que el 96 % de todos los bacteriófagos identificados hasta la fecha pertenecen a la clase Caudoviricetes (antiguas familias Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae, del antiguo orden Caudovirales), los cuales son fagos con cola, cápside icosaédrica y ADN

D Ciclo lisogénico

Brown Brow

Figura 1. Ciclos de vida lítico y lisogénico (a). La infección empieza con la adsorción de la partícula del fago a la superficie de la célula bacteriana (1), seguido de la inyección del ácido nucleico en la bacteria (2). En fagos atemperados, el genoma puede integrarse en el cromosoma de la bacteria en forma de profago (3). La expresión de los genes es seguida de la replicación del genoma (4) y síntesis de proteínas y genes tardíos del fago (5). El próximo paso es el ensamblaje de las partículas fágicas (6). La lisis de la bacteria termina con la liberación de nuevas partículas de fago hacia el exterior (7) con la ayuda de las holinas y endolisinas (b). Las holinas se insertan en la pared celular haciendo poros, a través de los cuales las endolisinas van a pasar al espacio periplásmico desde donde van a degradar el peptidoglicano de la pared celular (Figura elaborada por las autoras).

de doble cadena. Los viriones están compuestos por un genoma de ácido nucleico albergado en el interior de una estructura proteica denominada cápside que puede adoptar diversas morfologías. Una característica importante de los fagos es que, como parásitos obligados, necesitan un huésped para multiplicarse v producir su descendencia. Además, los fagos exhiben una alta especificidad de huésped y, como resultado, son incapaces de infectar bacterias o células eucariotas no relacionadas, incluidas las células de mamíferos. Tras la infección de su huésped bacteriano, los fagos pueden seguir dos ciclos de vida diferentes dependiendo de si son virulentos o atemperados [Figura 1a]. Los fagos virulentos pueden seguir exclusivamente el ciclo de infección lítica, en el que se multiplican dentro de la célula bacteriana y la lisan al final del ciclo para liberar las partículas de fago recién formadas. Por el contrario, los fagos atemperados pueden seguir alternativamente el ciclo lisogénico, en el que el genoma del fago se integra en el cromosoma bacteriano. Durante esta etapa, el genoma viral se conoce como profago y la célula bacteriana huésped como lisógeno. Sin embargo, después de la inducción por ciertos factores externos, los profagos pueden escindirse del cromosoma bacteriano y entrar en el ciclo lítico. En términos de actividad antimicrobiana, se espera que los fagos virulentos sean más eficientes que los fagos atemperados, ya que estos últimos podrían seguir el ciclo lisogénico, permitiendo así la supervivencia celular. Un tercer estilo de vida de los fagos se denomina pseudolisogenia y ocurre en condiciones adversas. En este caso, el genoma del fago

permanece dentro de una célula huésped sin replicarse hasta que una señal externa desencadena el inicio del ciclo lítico o la inserción del genoma del fago en el genoma bacteriano (ciclo lisogénico).

El ciclo lítico, que es la base de la actividad antimicrobiana de los fagos, consta de varias fases: 1. Adsorción de la partícula del fago a la superficie de la célula huésped. La especificidad de esta interacción determina el rango de huésped y, por tanto, la capacidad de un fago dado para infectar y matar diferentes cepas pertenecientes a la misma especie o incluso especies diferentes pertenecientes al mismo género; 2. Invección del ácido nucleico en la bacteria; 3. Expresión de los genes tempranos del fago y síntesis de proteínas tempranas; 4. Replicación del genoma del fago; 5. Expresión de los genes tardíos del fago implicados en la formación de nuevas partículas de fago; 6. Ensamblaje de las cabezas de los fagos, empaquetamiento del ácido nucleico dentro de las cápsides y unión de cabezas y colas; y 7. Lisis de la bacteria huésped y liberación de las nuevas partículas de fago.

Las endolisinas

Son las proteínas fágicas encargadas de llevar a cabo el último paso del ciclo lítico de los fagos no filamentosos, en el que tiene lugar la liberación de

la progenie viral. En fagos con ADN de doble cadena se sintetizan dos proteínas: holina y endolisina. La primera tiene afinidad por la membrana bacteriana, en la que se inserta haciendo poros, a través de los cuales pasará la endolisina al espacio periplásmico, desde donde degrada el peptidoglicano de la pared celular. Esto ocasiona que aumente la pre-

Se ha estimado que el 96 % de todos los identificados a la clase Caudoviricetes: fagos con cola, cápside icosaédrica v ADN de doble cadena

hasta la fecha pertenecen

sión osmótica en el interior de la bacteria, lo que finalmente provoca la lisis de la misma [Figura 1b]. En algunos fagos, las holinas forman poros de pequeño tamaño que no permiten el paso de las endolisinas, pero sí de iones que cambian el potencial de membrana y activan de este modo la acción de las mismas. En este caso, las endolisinas contienen un péptido señal que les permite salir al exterior de la bacteria median-

te los sistemas generales de secreción. La actividad enzimática de las endolisinas consiste en la hidrólisis del peptidoglicano que rodea a las bacterias, lo que provoca la aparición de zonas de desestabilización de la envuelta celular incapaces de contener la presión osmótica interna de la célula, que finalmente se lisa. Dependiendo del tipo de enlace químico que hidrolicen, las endolisinas se dividen en cinco tipos: N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa, endopeptidasa, N-acetil-β-D-glucosaminidasa, N-acetil-β-D-muramidasa y transglicosilasa. Cabe destacar que, en el caso de estas últimas, las transglicosilasas, no se trata de una enzima hidrolítica como tal, ya que no requiere de agua para su acción, sino que en la transglicosilación se rompe un enlace glicosídico en el peptidoglicano y se forma un nuevo enlace covalente con el sustrato donante. Esta acción resulta en la separación de una porción del peptidoglicano respecto a la pared celular debilitando así la integridad estructural de la célula bacteriana. La estructura de las endolisinas varía entre aquellas codificadas por fagos que infectan a bacterias Gram positivas y las codificadas por fagos que infectan a Gram negativas. Estas últimas son casi siempre proteínas globulares con un solo dominio catalítico. Por el contrario, las endolisinas codificadas por fagos que infectan bacterias Gram positivas tienen una estructura modular compues-

> ta de, al menos, dos dominios funcionales[5].

> Generalmente, la actividad catalítica se sitúa en el extremo aminoterminal, mientras que el extremo carboxiterminal alberga un dominio de unión a la pared celular (cell wall binding domain, o CBD) que confiere especificidad a la enzima y lo mantiene unido a la pared, evitando la lisis de otras bacterias.

En fagos no filamentosos con ADN de doble cadena se sintetizan dos proteínas fágicas encargadas del último paso del ciclo lítico: holina y endolisina

Esta estructura permite diseñar nuevas proteínas quiméricas a través de intercambio de dominios, lo que con frecuencia mejora la actividad lítica. Las endolisinas suelen exhibir un espectro de acción más amplio que los fagos, su acción bactericida es muy rápida y no selecciona variantes resistentes. Las endolisinas codificadas por fagos que infectan a bacterias Gram positivas tienen la capacidad de degradar el peptidoglicano cuando se añaden desde el exterior de la bacteria (lisis desde

fuera), actuando como agentes antibacterianos también denominados enzibióticos. En el caso de las bacterias Gram negativas la membrana externa dificulta el contacto con el sustrato. Para evitar eso, se han desarrollado varias estrategias, incluyendo el uso combinado de endolisinas con agentes quelantes o el diseño de artilisinas, endolisinas fusionadas con un péptido catiónico^[2], o las innolisinas, proteínas de fusión que consisten en un dominio lítico y una proteína de unión al receptor del fago.

Bacteriófagos y endolisinas como antimicrobianos

La necesidad de encontrar alternativas a los sistemas habituales de eliminación de patógenos está impulsada por el alarmante aumento de las bacterias resistentes a los antibióticos en ambientes clínicos. Si a esto sumamos el bajo número de nuevos antibióticos descubiertos en los últimos años, no es de extrañar que los fagos y las endolisinas estén siendo objeto de estudio de múltiples laboratorios y empresas. De hecho, poco después su descubrimiento a principios del siglo XX, d'Herelle propuso su aplicación para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias (terapia fágica), una estrategia que ha recibido recientemente un enorme interés debido al aumento de la resistencia a los antibióticos en todo el mundo. Es por ello que la aplicación de fagos ya no está relegada a la clínica y ahora

se propone como una opción viable para combatir bacterias no deseadas en diferentes campos, incluyendo la medicina veterinaria y la industria alimentaria. Esta habilidad convierte a los fagos en antimicrobianos muy efectivos y específicos, lo que los hace inocuos no solo para humanos, animales y plantas, sino también para bacterias que no son el huésped.

Además, por su modo de acción distinto a los antibióticos, los fagos son efectivos contra las bacterias resisLas endolisinas codificadas por fagos que infectan a bacterias Gram positivas tienen la capacidad de degradar el peptidoglicano cuando se añaden desde el exterior de la bacteria

tentes a estos compuestos. En el caso de las endolisinas, el descubrimiento de su enorme potencial vino asociado al estudio de sus propiedades enzimáticas y al observarse que la exposición repetida de bacterias a endolisinas no da lugar a la aparición de resistencia bacteriana.

Ventajas e inconvenientes

Con vistas a la aplicación de bacteriófagos y endolisinas como an-

timicrobianos, es preciso analizar sus ventajas e inconvenientes, comparándolos con otro tipo de biocidas o antibióticos. Entre las ventajas cabe señalar:

- i) La especificidad de los fagos permite una eliminación selectiva de las bacterias patógenas mientras que el resto de la microbiota permanece intacta. En el caso de las endolisinas, la especificidad suele estar restringida al género, es decir, son activas frente a todas las especies del género bacteriano al cual infecta el fago que la codifica. Sin embargo, la efectividad suele ser mucho mayor frente a la especie a la que infecta el fago y notablemente menor frente al resto de las especies.
- ii) La capacidad de autorreplicación de los fagos implica un aumento exponencial en su número tras un proceso de infección, multiplicándose así también su eficacia.
- iii) Tanto bacteriófagos como endolisinas son igualmente efectivos frente a bacterias sensibles y resistentes a los antibióticos. Por ello, constituyen un prometedor sistema de eliminación de bacterias resistentes a antibióticos que puedan estar presentes en el entorno alimentario.
- iv) La actividad antibiofilm de los bacteriófagos y las endolisinas constituye una ventaja a la hora de erra-

dicar estas complejas estructuras microbianas.

v) El uso de bacteriófagos es seguro, ya que hay estudios realizados en personas voluntarias que ingirieron fagos sin que fuesen detectados efectos adversos^[3]. En el caso de las endolisinas, también existen estudios que acreditan su inocuidad tanto en animales como humanos.

Bacteriófagos, y endolisinas constituyen un prometedor sistema de eliminación de bacterias resistentes a antibióticos que puedan estar presentes en el entorno vi) No alteran las características organolépticas de los alimentos, un requisito muy importante a la hora de ser utilizados como bioconservantes.

Entre las desventajas cabe señalar:

- i) Los bacteriófagos pueden ser portadores o transferir genes de virulencia a las bacterias a las cuales infectan. Se precisa, por lo tanto, una caracterización
 - completa previa a su aplicación (secuenciación del genoma completo, identificación de los genes, estudio de la capacidad de transducción). Además, se desaconseja el uso de fagos atemperados, ya que pueden integrarse en el cromosoma bacteriano sin llegar a matar a la bacteria huésped.
- ii) Los bacteriófagos tienen un rango de huésped limitado, lo que implica que, en ocasiones, sea necesario utilizar mezclas de fagos para poder eliminar el mayor número posible de cepas distintas de un determinado patógeno.
- iii) Las bacterias tienen la capacidad de hacerse resistentes a los bacteriófagos de manera espontánea. Por ello, se requiere siempre el uso de mezclas de fagos de distintas familias, lo que hace virtualmente imposible que una única bacteria adquiera resistencia a todos ellos. Con el uso de endolisinas, esta resistencia es prácticamente improbable debido a que estas enzimas actúan sobre enlaces muy conservados del peptidoglicano^[5].
- iv) Las condiciones físico-químicas del alimento o del ambiente en el que se procesa, pueden inactivar a bacteriófagos y endolisinas, o bien reducir su actividad, siendo pues necesario determinar las condiciones idóneas para cada aplicación con objeto de garantizar los mejores resultados.

Aplicación en la cadena alimentaria

Los bacteriófagos y sus proteínas derivadas representan una estrategia prometedora para la descontaminación o inhibición de patógenos a lo largo de la cadena alimentaria. Las enfermedades transmitidas por los alimentos siguen siendo una de las causas más frecuentes de problemas de salud en todo el mundo. Según el último informe de la European Food

La bioconservación, definida como el uso racional de los antimicrobianos que están naturalmente presentes en los alimentos con una larga historia de uso seguro, está ganando importancia

Se desaconseja el uso de fagos atemperados, ya que pueden integrarse en el cromosoma bacteriano sin llegar a matar a la bacteria huésped Safety Authority (EFSA), durante 2021 se registraron 4005 brotes transmitidos por alimentos en la UE, lo que supone un incremento del 29,8 % respecto al 2020 afectando a 32.543 personas en total. Los patógenos más comunes son Campylobacter y Salmonella seguidas de Yersinia, Listeria monocytogenes y Escherichia coli productoras de toxina Shiga^[4]. Estos microorganismos pueden estar presentes en productos

alimenticios, instalaciones de procesamiento o entornos de fabricación y podrían transmitirse a lo largo de la cadena alimentaria. Por otra parte, la creciente demanda de productos listos para el consumo, recién cortados y mínimamente procesados, así como la tendencia hacia la "alimentación natural" empuja a la industria alimentaria a aplicar estrategias encaminadas a reducir el uso de aditivos y otros métodos tradicionales de conservación de alimentos.

La cadena alimentaria ("de la granja a la mesa") debe ser considerada desde una perspectiva global, ya que los microorganismos patógenos que entran en cualquiera de los eslabones de la cadena pueden llegar al producto final si no se dispone de los sistemas de detección y eliminación adecuados. Por otra parte, la aplicación de medidas de eliminación de patógenos debe realizarse de acuerdo con los requerimientos necesarios en cada uno de los eslabones de la cadena, teniendo en cuenta las limitaciones legales que existen actualmente respecto al uso de antimicrobianos.

En este contexto, la bioconservación, definida como el uso racional de los antimicrobianos que están naturalmente presentes en los alimentos con una larga historia de uso seguro, está ganando importancia. Más explícitamente, el uso de microorganismos o sus metabolitos para la conservación de los alimentos se espera que ten-

ga un impacto mínimo en las propiedades nutricionales y sensoriales al tiempo que prolonga la vida útil del mismo. Dentro de las diferentes posibilidades disponibles en el campo de la bioconservación, los bacteriófagos y las endolisinas son candidatos prometedores. De hecho, los fagos están naturalmente presentes en los alimentos y su papel como potentes antimicrobianos ha sido bien documentado. Los fagos han sido evaluados por la EFSA, quien concluyó que son seguros para los consumidores, aunque cada fago

(o cóctel de fagos) destinado a ser aplicado en alimentos debe ser evaluado caso por caso. Sin embargo, el estado semisólido y las propiedades físico-químicas de ciertos alimentos pueden comprometer seriamente la eficacia *in situ* de estos antimicrobianos naturales. Además, su espectro de actividad, particularmente en el caso de los fagos, puede no cubrir todas las posibles bacterias diana.

Existe abundante bibliografía sobre el estudio de bacteriófagos y endolisinas como agentes de control de

bacterias patógenas; pero este campo de estudio es relativamente reciente, por lo que solo algunos productos fágicos están disponibles comercialmente. Los estudios realizados hasta ahora abarcan todos los eslabones de la cadena de producción del alimento, desde la producción primaria hasta el producto final [Figura 2]. Además, abordan no solo la utilización de bacteriófagos como antimicrobianos, sino también la detección de bacterias patógenas en los alimentos.

a) Reducción de la carga microbiana en animales de granja. El objetivo es disminuir el número de bacterias zoonóticas en el animal inmediatamente antes de su sacrificio. Generalmente se eliminan bacterias del tracto gastrointestinal mediante la administración oral de fagos específicos, para evitar su transferencia

Los fagos han sido evaluados por la EFSA, quien concluyó que son seguros para los consumidores, aunque cada fago destinado a ser aplicado en alimentos debe ser evaluado caso por caso

a la carne y a los productos derivados, pero también a los huevos, la leche, etc. La mayoría de los trabajos se han realizado con bacteriófagos frente a patógenos tales como Salmonella, Campylobacter y E. coli O157:H7 en animales de granja (pollos, cerdos, terneros y corderos). En la mayoría de los casos se obtuvieron resultados satisfactorios. Para evitar la proliferación de bacterias patógenas en pollos existen dos productos comerciales en Estados Unidos, uno para eliminar Salmonella (PLSV-1™) y otro para eliminar

Clostridium perfringens (INT-401™). Recientemente otros dos productos (Ecolicide® y SalmoPro®) han sido aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para ganado porcino y aves, respectivamente. Además, al igual que los fagos, las endolisinas tienen aplicación como antimicrobianos en producción primaria, tanto en profilaxis como para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Así, por ejemplo, se han obtenido resultados prometedores, aunque preliminares, con la endolisina Trx-SA1 en vacas con mastitis subclínica causada por S. aureus.

 b) Descontaminación de alimentos. En ciertos alimentos no procesados (carcasas de animales y productos crudos como frutas y verduras), se requieren sistemas de desinfección específicos que no alteren sus

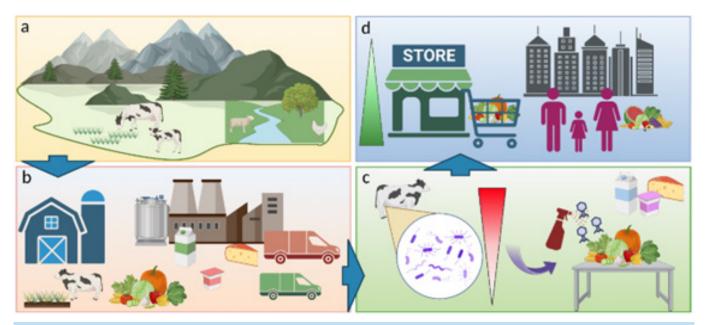


Figura 2. Producción primaria del alimento hasta el producto final. La reducción de la carga microbiana usando bacteriófagos empieza en los animales de granja para disminuir el número de bacterias zoonóticas. En otros casos, se usan para la descontaminación de alimentos y de superficies industriales que pueden estar en contacto con alimentos durante su elaboración. Por otro lado, se usan para aumentar el tiempo de vida útil de algunos productos, mediante la inhibición del desarrollo de bacterias patógenas en el alimento procesado (Figura elaborada por las autoras).

propiedades organolépticas y que, a la vez, sean eficaces, ya que algunos de estos productos van a ser consumidos directamente. Los principales patógenos para los que se han utilizado bacteriófagos como descontaminantes son *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* y *E. coli* O157:H7. Las mezclas de fagos se aplicaron sobre alimentos contaminados (tomate, brócoli, espinaca, lechuga, etc.) donde reduje-

ron la carga de bacterias patógenas. Los productos comerciales EcoShield™, ListShield™, SalmoFresh™, ShigaActive™ han confirmado su eficacia en este tipo de aplicaciones^[7].

Desinfección de superficies industriales. Las superficies en contacto con los alimentos durante su procesamiento pueden ser una fuente de contaminación por bacterias patógenas. Esto puede deberse a la presencia de estructuras bacterianas (biofilms o biopelículas) sobre dichas superficies, que dificultan la limpieza y desinfección de las mismas. Estas agrupaciones de bacterias, unidas por una matriz extracelular que ellas mismas producen, son extraordinariamente resistentes a los agentes antimicrobianos utilizados convencionalmente para su eliminación. Estudios recientes muestran la eficacia de fagos y endolisinas para eliminar biofilms formados sobre diversos materiales por distintas bacterias. Con este fin, están disponibles varios productos fágicos comerciales, como el producto Finalyse®, compuesto por una mezcla de fagos frente a E. coli O157:H7 y otras E. coli (STEC) productoras de la toxina Shiga, que

se comercializa como desinfectante para instalaciones de ganado vacuno. Las endolisinas también pueden tener aplicación como desinfectantes en el entorno de la industria alimentaria, ya que han demostrado su eficacia en la eliminación de biofilms de diversos patógenos en ensayos de laboratorio y sobre distintos materiales como acero inoxidable o polipropileno.

d) Aumento de la vida útil de los alimentos. Con objeto de inhibir el Estudios recientes muestran la eficacia de fagos y endolisinas para eliminar biofilms formados sobre diversos materiales por distintas bacterias desarrollo de bacterias patógenas en el alimento procesado, los fagos y sus enzimas líticas serían utilizados como bioconservantes. Se ha comprobado que los bacteriófagos son capaces de impedir el desarrollo de patógenos tales como Staphylococcus aureus, L. monocytogenes, Campylobacter, Salmonella, E. coli en varios alimentos. Varios productos ya han sido apropara su uso como conservantes

bados por la FDA para su uso como conservantes de alimentos como PhageGuard S™, PhageGuard Listex™, EcoShield™, ListShield™. En lo que respecta a la aplicación de endolisinas como conservantes, se han llevado a cabo varios trabajos con resultados interesantes. Por ejemplo, la endolisina LysRODI∆Ami muestra una gran actividad frente a S. aureus en productos lácteos^[1,8]. Además, la sinergia de la endolisina PlyP100 con otros bioconservantes, como la nisina (E-234) permite la eliminación de L. monocytogenes en queso fresco.

e) Detección de bacterias patógenas. La especificidad de los fagos por la bacteria huésped ha permitido desarrollar sistemas de detección de patógenos muy eficaces. Estos sistemas han sufrido recientemente un enorme impulso mediante su utilización como biosensores, capaces de detectar a la bacteria cuando se encuentra incluso en una concentración muy baja y en un período de tiempo corto. Estos biosensores utilizan también endolisinas, en concreto el motivo de unión a sustrato CBD que, además de especificidad, muestra una alta afinidad por el peptidoglica-

no de la bacteria huésped del fago del cual deriva la endolisina. Así, por ejemplo, es posible detectar un número bajo de células de *L. monocytogenes* (100 CFU) a partir de un alimento y en poco tiempo^[6]. Otro ejemplo destacable es la detección de las cepas de *Clostridium* asociadas a la hinchazón tardía del queso.

El motivo de unión a sustrato CBD, muestra una alta afinidad por el peptidoglicano de la bacteria huésped del fago del cual deriva la endolisina

REFERENCIAS

- [1] Agún, S., Fernández, L., Rodríguez, A. y García, P. (2022). "Deletion of the amidase domain of endolysin LysRODI enhances antistaphylococcal activity in milk and during fresh cheese production". Food Microbiol. 107: 104067.
- ^[2] Briers, Y. *et al.* (2014). "Engineered endolysin-based 'Artilysins' to combat multidrug-resistant gram-negative pathogens". *mBio* **5**; e01379-14.
- [3] Bruttin, A. y Brüssow, H. (2005). "Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy". *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 2874-2878.
- ^[4] European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control (2022). "The European Union One Health 2021 zoonoses report". *EFSA Journal* **20**: e07666.

- ^[5] Fischetti V. A. (2010). "Bacteriophage endolysins: a novel anti-infective to control Gram-positive pathogens". *Int. J. Med. Microbiol.* **300**: 357-362.
- [6] Kretzer, J. W., Schmelcher, M. y Loessner, M. J. (2018). "Ultrasensitive and fast diagnostics of viable *Listeria* cells by CBD magnetic separation combined with A511::luxAB Detection". *Viruses* 10: 626.
- Moye, Z. D., Woolston, J. y Sulakvelidze, A. (2018). "Bacteriophage applications for food production and processing". *Viruses* **10**: 205.
- [8] Youssef, O. et al. (2023). "Impact of the calcium concentration on the efficacy of phage phiIPLA-RODI, LysRODIΔAmi and nisin for the elimination of *Staphylococcus aureus* during lab-scale cheese production". *Int. J. Food Microbiol.* **399**: 110227.

Las autoras trabajan en el Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC) y pertenecen al grupo de trabajo DairySafe. Ana Rodríguez González y Pilar García Suárez son investigadoras científicas; Lucía Fernández Llamas es investigadora postdoctoral a la espera de tomar posesión como científica titular; y Ana Catarina Leal Duarte, Seila Agún García y Andrea Jurado Muñóz son estudiantes predoctorales. El grupo aborda el estudio de bacteriófagos y de enzimas fágicos como nuevos agentes antimicrobianos para el biocontrol de bacterias patógenas en la cadena alimentaria; de hecho, ha sido pionero en el control de *Staphylococcus aureus* en leche y queso mediante estos nuevos bioconservantes. Esta estrategia está siendo actualmente ensayada para la eliminación de biofilms (estructuras bacterianas altamente resistentes a antimicrobianos y desinfectantes), en la que, además de los fagos y las endolisinas, las exopolisacárido despolimerasas fágicas pueden jugar un papel importante.

