

FAGOTERAPIA: UMA ALTERNATIVA SIMPLES E BARATA PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES BACTERIANAS RESISTENTES À ANTIBIOTICOTERAPIA

PHAGOTHERAPY: A SIMPLE AND LOW COST ALTERNATIVE FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL INFECTIONS RESISTANT TO ANTIBIOTIC THERAPY

MATHEUS CORDEIRO MARCHIOTTI^{1*}, ANA PAULA UBER², LUIZ RICARDO DE SOUZA PAIVA³, CESAR HELBEL⁴

1. Acadêmico do quinto ano do curso de Medicina da Faculdade Ingá; 2. Mestre em Ciências, Docente da Disciplina de Microbiologia da Faculdade Ingá; 3. Doutor em Zoologia pelo Instituto de Biociências-UNESP; 4. Mestre em Ciências da Saúde, Docente da Disciplina de Infectologia da Faculdade Ingá.

* Avenida Tiradentes, 254, Apto 2001, Centro, Maringá, Paraná, Brasil. CEP: 87013-260. math_cord@hotmail.com

Recebido em 21/01/2016. Aceito para publicação em 15/03/2016

RESUMO

O aumento da taxa de infecções bacterianas multirresistentes e o alto custo para produzir um novo antibiótico tem demonstrado a necessidade de desenvolver novas alternativas de tratamento para estas afecções. A terapia que emprega bacteriófagos para estes casos tem sido usada em muitos centros de pesquisa e tem mostrado resultados encorajadores. Bacteriófagos são vírus da ordem *Caudovirales*, pertencentes às famílias *Myoviridae*, *Shi-poviridae* e *Podoviridae* que infectam apenas as bactérias patogênicas alvo, sendo muito específicos para a mesma, diminuindo assim o problema da resistência bacteriana e a chance de infecções oportunistas. A terapia fágica ou fagoterapia nome dado ao emprego dos bacteriófagos no combate às infecções, foi utilizada clinicamente pela primeira vez em mil novecentos e dezessete, mas o seu desenvolvimento de fato foi a partir da década de sessenta. Este artigo demonstra que a fagoterapia pode ser um caminho promissor no combate às infecções multirresistentes devido ao seu baixo custo, ao fato de já estar bem estabelecida, por sua alta eficácia terapêutica e pelos baixos efeitos colaterais.

PALAVRAS-CHAVE: Farmacorresistência bacteriana, infecções bacterianas, bacteriófagos.

ABSTRACT

The increased rate of infections from multidrug-resistant bacteria (MDR) and the high cost of producing new antibiotics have led to the need for new treatment options for these diseases. In many research centers, therapies that employ bacteriophages have been used in such cases and have shown encouraging results. Bacteriophages are viruses of the order *Caudovirales*, belonging to the *Myoviridae*, *Shi-poviridae* and *Podoviridae* families, that infect the target pathogenic bacteria very specifically, thereby reducing the problem of bacterial resistance and the chance for opportunistic infections. Phage therapy, the name given to the use of bacteriophages in fighting infections, was used clinically for the first time in 1917 however its development actually began in the sixties. This article demonstrates that phage therapy may be a promising way to combat multi-drug resistant infections

because it has high therapeutic efficacy, is well established and has low cost and few side effects.

KEYWORDS: Drug resistance, Bacterial, Bacterial infections; Bacteriophage.

1. INTRODUÇÃO

No ano de mil oitocentos e noventa e seis, o bacteriologista inglês, Ernest Hankin, relatou uma intensa atividade antibacteriana contra *Vibrio cholerae* nas águas do rio Junna, na Índia, atribuindo a responsabilidade deste fenômeno a microrganismos de dimensões micrométricas que tinham a capacidade de limitar a epidemia de Cólera¹. Dois anos após a descoberta de Hankin, o microbiologista ucraniano Nikolay Gamaleya observou um fenômeno semelhante com bactérias da espécie *Bacillus subtilis*².

O termo bacteriófago foi oficialmente empregado em mil novecentos e dezessete, graças à contribuição de Felix d'Herelle nesta investigação. Este microbiologista francês teve sua descoberta associada ao surto de graves hemorragias e disenteria nas tropas francesas durante a primeira guerra mundial³. Estudos laboratoriais levaram-no a concluir que a solução para esse problema estaria em um vírus que infecta bactérias, concluindo que são mortíferos para a bactéria hospedeira e inofensivos aos seres humanos. Após essa descoberta, d'Herelle coloca a terapia fágica em prática no tratamento da disenteria e esta mostra-se muito eficaz, fazendo cessar os sintomas com uma única administração dos fagos⁴.

Em mil novecentos e vinte e três, dois médicos do colégio de Medicina da Universidade de Baylor, no Texas, relataram sucesso em ensaios de terapia com fagos realizados em seu país, concluindo: "O bacteriófago detém enormes possibilidades como uma nova arma na luta contra as doenças infecciosas"⁵. No entanto, com a descoberta da penicilina por Alexander Fleming⁶, em mil novecentos e vinte oito, e a redução

da mortalidade por infecções como sífilis, tuberculose, pneumonia, meningite entre outras durante a segunda guerra mundial, acreditava-se que a terapia com bacteriófagos seria desnecessária.

Devido ao uso indiscriminado da penicilina, na década de mil novecentos e sessenta, 50% das cepas de *Staphylococcus aureus* já produziam enzimas que destruíam a penicilina. Este é o primeiro relato de resistência bacteriana a antibióticos. Ao longo do tempo tem-se observado um declínio na eficiência dos agentes antimicrobianos existentes e as infecções se tornaram mais difíceis e caras para se tratar. Assim, as epidemias se tornam cada vez menos controláveis uma vez que requerem o uso de drogas que são bem menos acessíveis e muito mais tóxicas. Ainda, em alguns casos, algumas cepas se tornaram resistentes a todos os antibióticos disponíveis, surgindo as chamadas superbactérias⁷.

Devido a este fato, pesquisadores do mundo inteiro têm procurado alternativas de combate às bactérias patogênicas. Uma dessas alternativas é a utilização de bacteriófagos como controle biológico, por serem vírus que infectam unicamente bactérias⁷. Conforme o *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)* (2009)¹⁷, os fagos são classificados de acordo com a sua morfologia, propriedades físico-químicas e biológicas⁸. Segundo a classificação do *ICTV*, de 2009¹⁷, existe apenas uma ordem de bacteriófagos: *Caudovirales*. Alguns bacteriófagos não se encaixam nessa ordem, contudo, não são classificados em uma ordem específica. Dessa ordem destacam-se três principais famílias: *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Shipoviridae*. As espécies mais estudadas pertencem à família *Myoviridae*, à qual pertence o fago T4⁷.

Geralmente os fagos assemelham-se a outros vírus, sendo constituídos por dois componentes essenciais: proteínas e ácido nucleico⁸. Dependendo do tipo de fago, este pode apresentar DNA ou RNA, podendo a cadeia de ácido nucleico ser simples ou dupla; linear ou circular, segmentada ou não segmentada⁸. Os bacteriófagos podem apresentar diferentes tamanhos e formas sendo, na sua maioria, constituídos por cabeça e cauda⁸. A cabeça é constituída pela cápside, que é composta por várias proteínas diferentes, onde internamente se encontra o genoma viral⁸. A cauda é uma estrutura contrátil que se liga à cabeça, sendo através deste elemento que o ácido nucleico passa para a célula hospedeira durante o processo de infecção⁸. Geralmente encontram-se ligadas à cauda seis fibras em cujas extremidades se localizam receptores que permitem o reconhecimento dos pontos de fixação na superfície da célula hospedeira⁸.

O aumento de infecções por bactérias resistentes a antibióticos tem se mostrado um fator alarmante de saúde pública. A dificuldade tecnológica e o alto custo para desenvolver novos antibióticos eficazes tem reduzido, nos últimos anos, a produção de diferentes tipos de antibióticos pela metade⁷.

Segundo o *Center of Control and Disease Prevention (CDC)* (2014)¹⁶, nos Estados Unidos anualmente as superbactérias levam a um número maior

de mortes do que as ocasionadas pelo vírus HIV no mesmo período. É preocupante que novos antibióticos não estejam sendo desenvolvidos a um ritmo suficiente para substituir as drogas que estão se tornando menos úteis⁷. Este artigo contribui para a tomada de consciência de que novos caminhos de baixo custo, muita eficácia e poucos efeitos colaterais podem ser utilizados no combate a infecções multirresistentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de revisão/atualização não sistemática da literatura, realizada em Maringá– Paraná, no período de junho a dezembro de 2015. Foi realizada pesquisa bibliográfica nas bases de dados Pubmed, Scielo, Literatura Latino-americana em Ciências da Saúde (Lilacs), CDC e no site do Instituto Eliava. Na base de dados do Pubmed foi utilizado o seguinte descritor: phagetherapy o qual foram encontrados 5298 artigos. Na base Scielo e na Lilacs foi utilizado o descritor terapia fágica encontrando 1 artigo para a base Scielo e 3 para Lilacs. Foi utilizado também como embasamento teórico o Google Acadêmico através do qual foi encontrado artigos disponíveis que não estavam nos outros bancos de dados.

Os Artigos foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: Artigos em Português e Inglês, pesquisas realizadas em humanos, artigos que tratavam de resistência bacteriana e os artigos de acesso gratuito. Com estes filtros foram selecionados 131 artigos. Após segunda análise foram excluídos os artigos repetidos nos bancos de dados e os artigos que relatam pesquisas não eminentemente clínica. No total foram selecionados 18 artigos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Bradbury (2004)⁹ a terapia fágica foi amplamente utilizada pela Europa Oriental e a antiga União Soviética mas foi pouco utilizada pelos médicos ocidentais até o final da década de mil novecentos e quarenta. As pesquisas foram desenvolvidas, principalmente, no Instituto Eliava, em Tbilisi, na Geórgia. Milhares de pessoas foram tratadas para disenteria com coquetéis de fagos. No caso de militares, outros coquetéis foram utilizados topicamente em feridas infectadas, tais como úlcera diabética. A fagoterapia acabou sendo útil principalmente em feridas ulceradas, devido ao fato de que os bacteriófagos infectavam as bactérias da superfície e, em seguida, atacavam os agentes patogênicos na profundidade da ferida. Diferentemente dos antibióticos, que quando aplicados localmente, sua concentração é maior na superfície e cai rapidamente com o aprofundamento da lesão devido à má circulação típica desses locais.

O grupo pesquisador de Soothill que reportou o caso de um jovem de vinte e sete anos, com 50% do corpo queimado, cujo enxerto de pele teve que ser descartado devido à uma infecção por *Pseudomonas aeruginosa*,

mesmo após terapia apropriada de antibióticos, tentou a terapia fágica e, três dias depois do início da fagoterapia, não eram mais encontrados estes microrganismos viáveis em swab das queimaduras e, com isso, o enxerto teve sucesso¹⁰.

De acordo com o Centro de Terapia Fágica Eliava, o espectro de ação dos fagos é mais específico que o dos antibióticos, resultando em menor dano a flora normal do paciente, evitando possíveis infecções secundárias oportunistas como as que ocorrem pela espécie *Clostridium difficile*. Outra vantagem dessa terapia é que, por mais que as bactérias possam desenvolver resistência aos fagos, é muito mais fácil desenvolver um novo fago para elas do que um novo antibiótico. São necessárias apenas algumas semanas para se obter um novo fago, pois os bacteriófagos naturalmente evoluem, diferente dos antibióticos¹¹.

Em um estudo realizado pelo Instituto Eliava¹⁸, fagos foram utilizados para tratar pacientes com infecção purulenta de pulmão e pleura por *Staphylococcus aureus*. Esses pacientes foram divididos em dois grupos. Os pacientes do grupo A (223 indivíduos) receberam fagos, os pacientes do grupo B (117 indivíduos) receberam antibióticos. Esse ensaio clínico foi um dos poucos a utilizar administração intravenosa de fagos (48 pacientes do grupo A receberam fagos por via intravenosa). Os resultados foram avaliados pelos seguintes critérios: estado geral dos pacientes, exames de raios-X, redução do pus e análise microbiológica de sangue e escarro. Nenhum efeito colateral foi observado nos pacientes que receberam terapia fágica, incluindo aqueles que receberam a administração intravenosa de fagos. A recuperação completa foi observada em 82% no grupo tratado com fagos e 64% no grupo tratado com antibióticos. Já a porcentagem de recuperação dos pacientes que receberam administração intravenosa dos fagos foi ainda maior (95%)¹¹.

Para Parision (2014)¹² em artigo publicado no *Polish Journal of Microbiology*, há duas indicações para utilização de bacteriófagos contra bactérias produtoras de biofilme. A primeira, usada como prevenção, bloqueia o início do desenvolvimento do biofilme e a segunda leva à remoção do biofilme existente. Alguns fatores podem influenciar na eficácia da terapia fágica contra biofilmes como temperatura, composição dos fagos e a composição polimérica extracelular típica da matriz do biofilme. As bactérias produtoras de biofilme que podem ser combatidas com a terapia fágica são *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter agglomerans* 53b, *E. coli* K12, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli* O157, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* TG1, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter johnsoni*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* B5055, *Staphylococcus lentus*, *Campylobacter jejuni*¹².

De acordo com Yousef (2014)¹³, os bacteriófagos podem ser utilizados para tratamento de infecções de mucosa, pele, trato respiratório superior, trato

gastrointestinal, trato urogenital, olhos e ouvidos. Recentemente foi concluído com êxito o uso de fagos para o tratamento de infecções crônicas de ouvido em humanos causadas por *Pseudomonas aeruginosa*¹³.

Segundo o Instituto Eliava¹⁸, os bacteriófagos são muito específicos (afetando apenas as bactérias alvo), evitando infecções secundárias, diferente da antibioticoterapia que matam os patógenos e parte da flora bacteriana do paciente, podendo ocasionar infecções oportunistas graves. Essa alta especificidade pode ser considerada uma desvantagem já que a fagoterapia necessita da identificação do agente antes de ser iniciada. Os antibióticos são metabolizados e eliminados do organismo e não necessariamente se concentram no local da infecção. Já os fagos se replicam no local da infecção sendo disponível onde são necessários. O crescimento exponencial do mesmo permite uma administração menos frequente do fago para obter o efeito terapêutico desejado. Não foram observados efeitos colaterais dos fagos (houve apenas a liberação de endotoxinas decorrente da lise bacteriana, como também ocorre com o uso de antibióticos), já os antibióticos possuem diversos efeitos colaterais, inclusive o desenvolvimento de infecções fúngicas. Bactérias resistentes a um bacteriófago permanecem susceptíveis a fagos similares. A resistência das bactérias aos antibióticos não se limita aos microrganismos visados. Selecionar novos fagos (caso haja resistência bacteriana), é um processo relativamente rápido, que pode ser feito em questão de dias ou semanas, já os antibióticos demoram anos para serem produzidos. Evolucionistas acreditam que bacteriófagos ativos podem ser selecionados contra bactérias resistentes aos antibióticos ou resistente aos fagos, através da seleção natural¹¹.

Outro estudo publicado pelo Instituto Eliava, relatou o caso de uma paciente de sete anos de idade que sofria de fibrose cística confirmada por testes genotípicos e fenotípicos. A paciente mostrou uma infecção crônica dos pulmões por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* que foi tratada por vários anos com antibióticos de amplo espectro, porém sem efeito definitivo. Iniciou-se o tratamento com fagos com nove nebulizações (cerca de quatro a seis semanas de intervalo entre as terapias) e a análise bacteriológica foi feita em intervalos de um mês. Após a aplicação conjunta de dois tipos de bacteriófagos a quantidade de microrganismos diminuiu drasticamente. Não foram relatados efeitos adversos no paciente¹⁴.

Em artigo publicado por Międzybrodzki (2007)¹⁵, foi analisado o custo para o tratamento de seis pacientes que tiveram infecções por *Staphylococcus* em que o tratamento teve sucesso clínico. Os fagos foram administrados oralmente em ampola de 10 ml três vezes ao dia após a neutralização do suco gástrico ou aplicados localmente (compressas úmidas, lavagem da garganta ou irrigação da fistula) sob a forma de fagos lisados. Foram avaliados pacientes (3 homens e 3 mulheres entre 30 e 76 anos), que apresentavam infecções por *Staphylococcus aureus* sensível ou

resistente a meticilina e *Staphylococcus* coagulase e negativa sensível ou resistente a meticilina, em que todas as terapias com antibióticos se mostraram ineficazes (abscesso na mama, infecções de tecidos moles e infecções do trato respiratório). O levantamento do custo total da terapia incluiu os custos do serviço médico (qualificação para o tratamento e controle das visitas), laboratório e testes diagnósticos (incluindo cultura bacteriana, tipagem do fago e preparação da fórmula fágica) e os custos da medicação para neutralizar a acidez estomacal. A terapia com menor custo foi para o tratamento da faringite por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, custando aproximadamente 54% menos que a terapia de 10 dias com vancomicina. Já a terapia com maior valor foi a utilizada para infecção de ferida no pós-operatório por *Staphylococcus* coagulase negativa meticilina resistente, em que o tratamento durou em torno de 13 semanas (o paciente foi submetido a dois tratamentos com fagoterapia, sendo administrados os fagos oralmente e localmente). Essa terapia custou aproximadamente 61% menos que a terapia de 10 dias com teicoplanina¹⁵.

4. CONCLUSÃO

Desde a sua descoberta por Alexander Fleming, os antibióticos foram muito utilizados e, às vezes, mal empregados, levando a resistência das bactérias. Devido a isto e ao alto custo da produção de novas drogas antibacterianas, há a necessidade de direcionar o olhar para novas possibilidades de tratamento das infecções bacterianas. Artigos publicados nesta área indicam boas perspectivas para a utilização de bacteriófagos como primeira opção para doenças infecciosas e em pacientes nos quais a antibioticoterapia tenha falhado. Relatos de sucesso clínico e custos mais baixos dessa terapia têm surgido com frequência, abrindo caminhos para novas utilizações e reforçando a necessidade de mais pesquisas nessa área.

REFERÊNCIAS

- [01] Oliveira EO. Terapia fágica: passado, presente e futuro [Dissertação]. Porto: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa; 2012.
- [02] Helvoort VT. Bacteriological and physiological research styles in the early controversy on the nature of the bacteriophage phenomenon. *Med Hist.* 1992 Jul;36(3):243-270.
- [03] D'Herelle F. On an invisible microbe antagonistic toward dysenteric bacilli: brief note by Mr. F.D'Herelle, presented by Mr. Roux. *Res Microbiol.* 2007 Sep;158(7):553-554.
- [04] Da Silva JL, Hirata RDC, Hirata MH. Bacteriophage: laboratorial diagnosis and phage therapy. *Braz J Microbiol.* 2009 Sep;40(3):547-549.
- [05] Ho K. Bacteriophage therapy for bacterial infections. Rekindling a memory from the pre-antibiotics era. *Perspect Biol Med.* 2001;44(1):1-16.
- [06] Nossa capa: Alexander Fleming e a descoberta da Penicilina [Internet]. Rio de Janeiro. *J Bras Patol Med Lab.* 2009 Oct;45(5):1-1. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v45n5/v45n5a01.pdf> v45n5.
- [07] Andrade LAF. Bacteriófagos e sua aplicabilidade no controle de populações microbianas [Dissertação]. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais; 2010.
- [08] Costa BMB. Terapia Fágica: Perspectivas na Aplicação Clínica [Dissertação]. Aveiro: Universidade de Aveiro, 2010.
- [09] Bradbury J. "My enemy's enemy is my friend": Using phages to fight bacteria. *Lancet.* 2004 Feb 21;363(9409):624-5. 363: 624-62.
- [10] Marza JA, Soothil JS, Boydell P, Collyns TA. Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns.* 2006 Aug;32(5):644-646.
- [11] Phage therapy center. What is the Phage Therapy?, Tbilisi, republic of Georgia. Disponível em: http://www.phagetherapycenter.com/pii/PatientServlet?command=static_phagetherapy&seccnavpos=1&language=0
- [12] Parision S, Kwiatek M, Gryko R, Mizak L, Malm A. Bacteriophages as an alternative strategy for fighting biofilm development. *Pol J Microbiol.* 2014;63(2):137-145.
- [13] Yousef I, Kiro R, Molshanski MS, Edgar R, Qimron U. Different approaches for using bacteriophages against antibiotic-resistant bacteria [Internet]. United Kingdom: Taylor and Francis Group; 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3956485/>.
- [14] Kvachadze L, Balarijshvili N, Meski T, Tevdoradze E, Skhirtladze N, Pataridze T et al. Evaluation of lytic activity of staphylococcal bacteriophage Sb-1 against freshly isolated clinical pathogens. *Microb Biotechnol.* 2011 Sep;4(5):643-650.
- [15] Miedzybrodzki R, Fortuna W, Weber-Dabrowska B, Górski A. Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment [Internet]. Wrocław-Poland: Postepy Hiq Med Dosw;2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17679835>.
- [16] Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. Atlanta: How Poor Antibiotic Prescribing Puts Patients at Risk for Deadly Infections; 2014 Disponível em: <http://blogs.cdc.gov/edeworksforyou24-7/2014/03/how-poor-antibiotic-prescribing-puts-patients-at-risk-for-deadly-infections/>.
- [17] International Committee on Taxonomy of viruses. Virus Taxonomy, 2014 Release, Montreal, Canada. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>.
- [18] George Eliana Institute of Bacteriophages, Microbiology and Virology. About the George Eliava Institute of Bacteriophages, Microbiology and Virology, IBMV, Tbilisi, Georgia. Disponível em: <http://www.eliava-institute.org/?rid=1>.