

Biocontrol de enterobacterias multirresistentes mediante fagos virulentos aislados en Uruguay y Reino Unido: caracterización funcional y genómica, y potencial terapéutico

Simposio (solo por invitación)

Antimicrobianos y resistencia

María Victoria Gutiérrez ^{1, 2}, Sebastián Rey ^{1, 2}, Daniela Megrian ³, Julieta Gurméndez ¹, Guadalupe Liste ³, Federica Ferreira ⁴, Álvaro Olivera ⁵, Paula Perbolianachis ^{1, 2}, **Natalia Echeverría ^{1, 2}**.

(1) Universidad de la República, Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Mataojo 2055, Montevideo, Uruguay.

(2) Institut Pasteur Montevideo, Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Mataojo 2020, Montevideo, Uruguay.

(3) Institut Pasteur Montevideo, Unidad de Bioinformática, Mataojo 2020, Montevideo, Uruguay.

(4) Universidad de la República, Unidad Académica de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Av. Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay.

(5) Universidad de la República, Laboratorio de Alta Resolución, Centro Universitario Regional Este, sede Rocha, Ruta Nacional N°9 intersección con ruta N°15, Rocha, Uruguay.

necheverria@fcien.edu.uy

Las infecciones causadas por enterobacterias multirresistentes, como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, representan un creciente problema de salud pública, y Uruguay no es la excepción. Ante la disminución de alternativas terapéuticas efectivas, los bacteriófagos virulentos resurgen como herramientas prometedoras para su biocontrol. A nivel académico, nuestro grupo es pionero en Uruguay en abordar la caracterización funcional y genómica de fagos con potencial bioterapéutico contra patógenos de relevancia clínica. Este trabajo presenta resultados de dos estudios complementarios enfocados en conformar un biobanco de fagos aislados localmente y evaluar su capacidad lítica, así como la de fagos aislados en Reino Unido, frente a cepas clínicas uruguayas multirresistentes y formadoras de biofilms.

Se aislaron 17 fagos virulentos en Uruguay (13 anti-*K. pneumoniae* y 4 anti-*E. coli*) y estamos trabajando con 26 fagos anti-*K. pneumoniae* previamente caracterizados en Reino Unido. Se evaluó su rango de hospedero sobre aislamientos clínicos locales representativos de los últimos 15 años, encontrando que entre el 10–30 % fueron susceptibles a al menos un fago, siendo los rangos de hospedero más acotados en *K. pneumoniae*. Los fagos más eficientes, y aquellos con indicios de codificar depolimerasas, fueron seleccionados para estudios en profundidad.

Mediante microscopía electrónica se confirmó su pertenencia a la clase *Caudoviricetes* y morfología *myovirus*. La secuenciación por Oxford Nanopore confirmó su naturaleza virulenta, ausencia de genes de virulencia y resistencia, y sugirió que algunos podrían representar nuevas especies virales. El análisis genómico y estructural permitió identificar dos depolimerasas distintas en un mismo genoma.

Los ensayos de estabilidad mostraron buena tolerancia a condiciones fisiológicas y de almacenamiento (pH 5–9; 4–42 °C), con pérdida de viabilidad en pH 3 y 60 °C. En cultivos líquidos, la mayoría logró inhibir tempranamente el crecimiento bacteriano, aunque se detectó emergencia de resistencia a las 5–6 h post-infección con los fagos de *K. pneumoniae*. Algunos fagos también redujeron hasta un 50 % la biomasa de biofilms preformados, especialmente aquellos con depolimerasas putativas.

Estos resultados destacan el potencial de fagos locales y europeos como herramientas de biocontrol frente a enterobacterias multirresistentes en Uruguay, y sientan bases para el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en bacteriófagos.

Palabras Clave

(1) biofilms, (2) biocontrol, (3) fagos virulentos, (4) enterobacterias MDR.

Financiamiento:

Este trabajo ha sido financiado por un Proyecto Fondo María Viñas FMV_3_2024_1_180874 de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) y con una beca de Maestría en Posgrados Nacionales (otorgada a Victoria Gutiérrez) - ANII.

Agradecimientos:

Agradecemos a F.Aspiroz (FCIEN), P.Scavone (IIBCE), C.Márquez (FQ), N.Riera (IPMon), R.Vignoli (FMed) por las cepas bacterianas y a M.Victoria (CENUR) y M.Berois (FCIEN)

por las muestras acuáticas. Fagos y bacterias europeos/as pertenecen a la colección KlebPhaCol (University of Southampton, UK).