Campuzano S, Pedrero M, García JL, García E, García P, Pingarrón JM. (2011) Development of amperometric magnetogenosensors coupled to asymmetric PCR for the specific detection of *Streptococcus pneumoniae*. Anal Bioanal Chem 399: 2413-2420.

Domenech M, García E, Moscoso M. (2011) In vitro destruction of *Streptococcus pneumoniae* biofilms with bacterial and phage peptidoglycan hydrolases. Antimicrob Agents Chemother 55: 4144-4148.

Domenech M, García E, Moscoso M. (2012) Biofilm formation in *Streptococcus pneumoniae*. Microb Biotechnol 5: 455-465.

Domenech M, García E, Prieto A, Moscoso M. (2013) Insight into the composition of the intercellular matrix of *Streptococcus pneumoniae* biofilms. Environ Microbiol 15: 502-516.

Ramos-Sevillano E, Moscoso M, García P, García E, Yuste J. (2011) Nasopharyngeal colonization and invasive disease are enhanced by the cell wall hydrolases LytB and LytC of *Streptococcus pneumoniae*. PloS One 6: e23626.

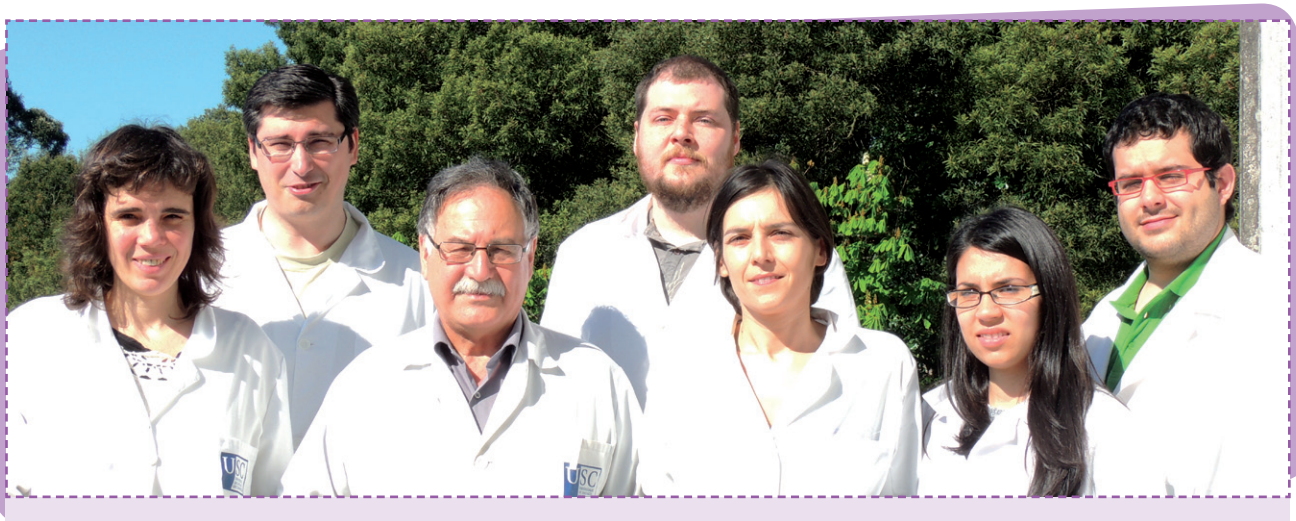
Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Cafini F, *et al.* (2012) Cefditoren and ceftriaxone enhance complement-mediated immunity in the presence of specific antibodies against antibiotic-resistant pneumococcal strains. PloS One 7: e44135.

Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Díez-Martínez R, *et al.* (2012) Macrolides and β-lactams antibiotics enhance C3b deposition on the surface of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains by a LytA autolysin-dependent mechanism. Antimicrob Agents Chemother 56: 5534-5540.

Biotecnología Microbiana e Industrial

Los enzibióticos como herramienta terapéutica

Tomás González Villa
Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la USC



Integrantes del grupo de investigación (de izquierda a derecha): Trinidad de Miguel Bouzas, Mauricio Roberto Carreño López, Tomás González Villa, José Luis Rodríguez Rama, Lucia Feijoo Siota, Ana Gonzalez Abril, Fernando María Punín y Nistal.

Nuestro grupo de investigación posee una amplia experiencia en la clonación y explotación de genes de potencial industrial. Comenzando su actividad como grupo en el año 1983, encuadrado dentro del grupo de Biotecnología perteneciente al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la USC.

La actividad del grupo se centra fundamentalmente en moléculas con alto potencial biotecnológico en los ámbitos farmacéuticos, de ingeniería de procesos y tecnología de alimentos. Siendo una de nuestras líneas de investigación la expresión de proteínas con actividad enzibiótica.

Los enzibióticos son enzimas líticos que emplean los virus bacteriófagos en algún momento durante su ciclo lítico. Con estos enzimas, matan y lisan las bacterias que infectan. Si bien uno de los principales miedos entre no expertos tiene que ver con la seguridad del uso de los bacteriófagos y en concreto con la posibilidad de que interaccionen con nuestras células o incluso integren sus genes en nuestro genoma. Frente a esto ha de recordarse que los humanos estamos expuestos a los bacteriófagos desde el mismo momento del nacimiento (y probablemente antes) y que los consumimos constantemente tanto en aguas (las aguas libres de contaminación contienen hasta 2 x 10^8 bacteriófagos por mililitro) como en alimentos (yogur, quesos, sauerkraut, salami, etc.), se encuentran de un modo natural en la piel, boca, orina y otras partes del cuerpo y son inocuos para nosotros, son enemigos naturales de las bacterias y nosotros lo único que hacemos en esta estrategia bacteriofágica es «SER AMIGOS DE LOS ENEMIGOS DE NUESTROS ENEMIGOS».

Ha de tenerse en cuanta que el uso masivo de antibióticos convencionales ha provocado la aparición de microorganismos resistentes a un amplio espectro de fármacos, por lo que la efectividad de terapias antibacterianas se ha visto mermada. Esto hace necesario la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el control de infecciones causadas por microorganismos multirresistentes. Una alternativa es así el empleo de sustancias enzibióticas. Existen dos tipos de enzibióticos: lisinas (incluyendo las lisozimas) y holinas.

Las lisozimas son β-1,4-acetilmuramidasas que actúan rompiendo enlaces entre el ácido N-acetilmurámico y La N-acetilglucosamina del peptidoglucano que forma la pared bacteriana.

Las holinas forman poros en la membrana para que las lisinas fágicas puedan acceder a la pared bacteriana.

Aunque se conocen desde principios del siglo XX, los enzibióticos quedaron olvidados cuando se descubrieron los antibióticos convencionales, pero ahora resurgen debido a las amplias posibilidades que nos presenta la Biotecnología en la manipulación de microorganismos.

Si el concepto de enzibiótico se extiende a aquellas enzimas capaces de actuar sobre las paredes fúngicas, como las actividades glucanásicas y las quitinasas producidas por hongos como *Trichoderma harzianum* o la bacteria *Bacillus circulans,* la batería terapéutica se amplía enormemente.

Las grandes ventajas que presenta la terapia con enzibióticos son su gran especificidad hacia la especie bacteriana que causa la infección, no producen efectos secundarios, no presentan resistencias, los costes de producción son bajos y no atacan a la microflora normal debido a su gran especificidad.

Este grupo de investigación ha estado trabajando en la aplicación de las enzimas endoglucanasa para el tratamiento de enfermedades fúngicas. Y en la actualidad prevé el inicio de trabajos destinado al estudio y el empleo de holinas.

Por último reseñar que este grupo realiza colaboraciones con diversos grupos de investigación así como con varias empresas:

- Catedrático Miquel Viñas Ciordi. Universidad de Barcelona. Dpto. de Patología y Terapéutica Experimental.
- Catedrático José Pedro Martínez García. Universidad de Valencia. Dpto. Microbiología.
- Catedrático Germán Larriba Calle. Universidad de Extremadura. Dpto. de Microbiología.
- Profa. Patricia Veiga Crespo. Universidad de Lund.
- Agroaxis y Curaxys: producción de fármacos.
- Feiraco: producción de derivados lácteos.

BIBLIOGRAFÍA

Vallejo JA, Sánchez-Pérez A, Martínez JP, Villa TG. (2013) Cell aggregations in yeasts and their applications. Appl Microbiol Biotechnol 97: 2305-2318.

Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M, Villa TG. (2012) A comparative analysis of recombinant chymosins. J Dairy Sci 95: 609-613.

Alvarez-Rivera G, De Miguel T, Llompart M, Garcia-Jares C, Villa TG and Lores M. (2012) A novel outlook on detecting microbial contamination in cosmetic products: analysis of biomarker volatile compounds by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. Anal Methods 5: 384-393.

Fusté E, Galisteo GJ, Jover L, Vinuesa T, Villa TG, Viñas M. (2012) Comparison of antibiotic susceptibility of old and current *Serratia*. Future Microbiol 7: 781-786.

Veiga-Crespo P, Sánchez-Pérez A, Villa TG. (2012) Cloning and characterization of the beer-foaming gene CFG1 from *Saccharomyces pastorianus*. J Agr Food Chem 60: 10796-10807.

Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG. (2011) Oily yeasts as oleaginous cell factories. Appl Microbiol Biot 90: 1219-1227.

Araya-Garay JM, Feijoo-Siota L, Veiga-Crespo P, Villa TG (2011) cDNA cloning of a novel gene codifying for the enzyme lycopene β-cyclase from *Ficus carica* and its expression in *Escherichia coli*. Appl Microbiol Biotech 92: 769-777.

Feijoo-Siota L, Villa TG. (2011) Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. Food Bioprocess Tech, 4: 1066-1088.

Veiga-Crespo P, Fuste E, Vinuesa T, Vinas M, Villa TG. (2011) Synergism between outer membrane proteins and antimicrobíals. Antimicrob Agents Chemother 55: 2206-2211.

Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Advantages and Disadvantages in the use of antibiotics or phages as therapeutic agents, in Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.

Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Phylogeny of enzybiotics, in Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.

Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Concluding remarks: the future of enzybiotics, in Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.

Sieiro C, Sestelo ABF, Villa TG. (2009) Cloning, Characterization, and Functional Analysis of the EPG1-2 Gene: A New Allele Coding for an Endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. J Agr Food Chem 57: 8921-8926.

Fenosa A, Fusté E, Ruiz L, Veiga-Crespo P, Vinuesa T, Guallar V, Villa TG, and Viñas M. (2009) Role of TolC in *Klebsiella oxytoca* resistance to antibiotics. J Antimicrob Chemother 63: 668-74.

Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M, Villa TG. (2008) Cloning and Expression of Buffalo Active Chymosin in *Pichia pastoris*. J Agr Food Chem 56: 10606-10610.