

Armi virali contro i batteri

A lungo ignorati dai ricercatori, i virus che attaccano i batteri potrebbero avere un ruolo cruciale nella lotta alle infezioni

Intervista di Brendan Borrell

AYonkers, nello Stato di New York, a qualche isolato di distanza dal fiume Hudson, una piccola azienda di biotecnologie chiamata ContraFect si prepara a testare un nuovo, interessante metodo per uccidere i batteri negli esseri umani. Dopo decenni di uso e abuso, gli antibiotici hanno perso efficacia contro i batteri, che si evolvono rapidamente, e di conseguenza patologie che vanno dall'infezione da stafilococco alla tubercolosi diventano sempre più devastanti, letali e difficili da trattare. Mentre gli antibiotici tradizionali sono stati ricavati principalmente da sostanze prodotte da batteri del suolo e funghi, ContraFect ha scoperto un'alternativa nei batteriofagi: virus che infettano i batteri assumendo il controllo del loro macchinario interno. In natura, i fagi producono enzimi, chiamati lisine, che causano la distruzione dei batteri e l'uscita di centinaia di fagi. ContraFect pensa di sfruttare queste lisine per trattare le infezioni batteriche negli umani.

L'inizio dei primi trial per la valutazione della sicurezza nei pazienti è previsto per quest'anno. Ma sono decenni che Vincent Fischetti, microbiologo di 71 anni alla Rockefeller University, si prepara a questo momento. Nato in una famiglia operaia di Long Island, un tempo credeva che sarebbe diventato dentista, prima di rimanere affascinato dalla microbiologia durante gli studi universitari. Mentre studiava per la sua tesi di laurea (la notte) e faceva il tecnico per un progetto sulla scarlattina per procurarsi il denaro per pagare le bollette (di giorno), è rimasto affascinato dai fagi. Dopo anni di lavoro ha dimostrato, nel 2001, che le lisine possono aiutare i topi a combattere l'infezione faringea da streptococco. Anche i militari vedono un potenziale nelle lisine, che potrebbero essere somministrate prima di interventi chirurgici per prevenire

infezioni o essere applicate sulle superfici per pulire un'area contaminata da un attacco di antrace.

Più in generale, i ricercatori mostrano un rinnovato interesse nella somministrazione di cocktail di fagi per trattare infezioni ostinate. Questa strategia era stata promossa nell'ex Unione Sovietica, ma ignorata negli Stati Uniti. Alcune sfide tecniche e pratiche risiedono nel modo in cui i fagi possono essere adottati diffusamente a scopo terapeutico nell'uomo, sebbene diverse aziende statunitensi abbiano avuto l'approvazione della Food and Drug Administration (FDA) per l'aggiunta di fagi che uccidono *Salmonella* ed *Escherichia coli* in carne in scatola e altri prodotti alimentari. Abbiamo intervistato Fischetti per scoprire quali sono le promesse e i pericoli derivanti dall'uso dei fagi per la salute umana.

In che modo si è interessato alla scienza per la prima volta?

Sono cresciuto a Long Island, dove la mia famiglia aveva un'attività di progettazione di giardini proprio vicino a un laghetto. Quando avevo 12 anni i miei genitori mi comprarono un microscopio. Non c'era Internet né altro che potesse distrarmi; quindi prendevo campioni di acqua dal laghetto e passavo le serate guardando i microbi che nuotavano qua e là: *Euglena*, *Paramecium* e così via. Passavo ore e ore giocherellando con il mio microscopio. Quando frequentai il mio primo corso di microbiologia al Wagner College di Staten Island mi resi conto che era proprio ciò che amavo fare, e non lasciai più quella strada.

Quando è stata la prima volta che ha sentito parlare dei fagi?

Nel mio primo lavoro. Facevo il tecnico di laboratorio alla Rockefeller University e lavoravo con John Zabriskie, medico e scienziato. A quel tempo gli scienziati dell'Università di New York avevano scoperto da poco che la tossina della pertosse, ovvero la tossina che causa la tosse asinina, era prodotta da un batteriofago portato da un batterio. Perciò ci chiedemmo se anche la tossina che causa la scarlattina era controllata da un batteriofago. Scoprii che era proprio così. Nel nostro caso, il batterio *Streptococcus* porta un batteriofago che ha un gene per la tossina della scarlattina. Quando il fago si replica all'interno dello streptococco che ha infettato la persona produce la tossina che causa l'arrossamento della pelle e la febbre alta associati alla scarlattina. Oggi sappiamo che i fagi sono responsabili della maggior parte delle malattie associate alle tossine.

Quanto sono importanti i fagi nell'ambiente?

Ogni grammo di suolo, ogni centimetro cubo di acqua contiene da 10 a 100 milioni di fagi. I fagi sono l'entità biologica più numerosa sulla Terra. Sono in ogni cosa che tocchiamo, che mangiamo, che beviamo. Ingeriamo fagi di continuo. Si trovano nel nostro stomaco, nelle nostre membrane mucose, in qualsiasi parte del nostro organismo. I batteriofagi infettano e uccidono i batteri continuamente. Quindi batteri resistenti crescono di nuovo e il processo continua. Ogni due giorni, la metà dei batteri della Terra viene uccisa dai batteriofagi.

È un processo estremamente dinamico, in cui i batteri e i batteriofagi hanno bisogno l'uno dell'altro per sopravvivere. E, secondo il mio punto di vista (non so se qualcun altro, in effetti, condivida la mia opinione), poiché vi sono dieci volte più batteriofagi che batteri, quello che controlla veramente il pianeta sono i batteriofagi. Controllano ogni cosa.

Gli scienziati quando hanno capito che i fagi potevano essere usati in medicina?

Circa 100 anni fa, quando i batteriofagi vennero identificati per la prima volta, gli antibiotici non esistevano, e si ebbe la sensazione di avere finalmente trovato la sostanza che uccide i batteri e che si poteva sfruttare per eliminare i batteri che causano le infezioni. Negli Stati Uniti, Pfizer fu una delle prime aziende a sviluppare i fagi come sostanza terapeutica; aveva uno stabilimento a Brooklin in cui faceva crescere batteriofagi per il controllo delle infezioni. Ma

proprio in quel periodo furono scoperti gli antibiotici, e l'uso dei batteriofagi per il controllo delle infezioni venne abbandonato, qui negli Stati Uniti. Seguimmo la strada degli antibiotici.

E i ricercatori dell'Unione Sovietica presero l'altra strada...

Esatto. Qualche istituto, tra cui uno a Tbilisi, in Georgia, ha ancora un programma attivo sui batteriofagi. I pazienti con infezioni, principalmente ulcere da piede diabetico, non guarite dai comuni antibiotici, possono andare lì ed essere trattati con un cocktail di batteriofagi. Funziona, ma è veramente un trattamento mirato. Al contrario degli antibiotici, che possono uccidere un gran numero di organismi diversi, i batteriofagi sono unici, nel senso che uccidono solo batteri specifici. Sostanzialmente quando vai a Tbilisi coltivano i batteri del tuo piede, sviluppano un cocktail di fagi che agiscono in maniera mirata su quei batteri e sei trattato per diverse settimane. Anche negli Stati Uniti Randall Wolcott del Southwest Regional Wound Care Center di Lubbock, nel Texas, ha usato i batteriofagi per trattare i batteri resistenti nelle infezioni da ferita.

L'incremento della resistenza agli antibiotici sta contribuendo al rinnovato interesse verso le terapie con fagi?

Sì, la resistenza agli antibiotici è un problema molto grave, che ha due aspetti principali. Anzitutto i batteri stanno diventando resistenti a un gran numero di antibiotici. In questo momento il problema più grave è *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina, o MRSA, e stanno emergendo stafilococchi resistenti alla vancomicina. Questo fenomeno è già un problema per i pazienti sottoposti a interventi chirurgici che hanno un sistema immunitario compromesso. Ma non manca molto al momento in cui persone come me e lei andranno all'ospedale per un intervento di routine, verranno infettate da uno di questi microrganismi e si ammalano gravemente. Non c'è molto che si possa usare per il trattamento, e questo tipo di infezione sta diventando più frequente non solo negli ospedali ma anche nella comunità.

La seconda questione è che le grosse case farmaceutiche non stanno più investendo negli antibiotici. È troppo costoso sviluppare un antibiotico a cui l'organismo diventerà resistente molto rapidamente. E questo è un problema, perché sono loro a essere meglio equipaggiati per sviluppare antibiotici, e credo sia loro dovere continuare a farlo.

Quali sono gli ostacoli alla terapia con i fagi?

Prima di tutto i successi in Russia ed ex Unione Sovietica non sono stati ben documentati. Se due persone hanno un tipo di ferita simile, le ferite non sono per forza trattate con lo stesso fago. È quindi difficile documentare un successo in maniera scientifica.

Un altro problema è che è necessario un cocktail di fagi per uccidere un unico organismo. L'approvazione di miscele complesse da parte dell'FDA presenta alcune difficoltà. Inoltre i batteriofagi possono prelevare DNA dai batteri, e quindi l'FDA vorrà sapere qual è il DNA che è stato prelevato. Le aziende che si occupano di terapia basata su fagi ci stanno provando, e non è detto che ci riusciranno, ma stanno lottando per ottenere l'approvazione della terapia basata su fagi per uso umano.

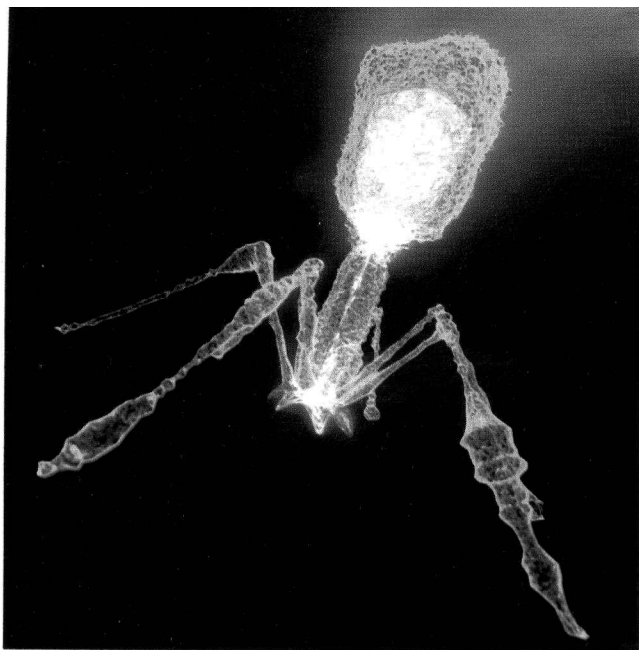
IN BREVE

Chi: Vincent Fischetti
Professione/hobby:
Microbiologo

Dove: Rockefeller University
Obiettivo delle ricerche:
Trovare un'alternativa agli antibiotici,

ormai troppo usati.
Quadro generale:
I batteriofagi, o fagi, cioè virus che

attaccano i batteri, potrebbero essere
utili per curare e prevenire le
infezioni?



Il fago è un virus che infetta i batteri. Ha un capsido, o testa (*in alto*), una coda (*in rosa*) e le fibre della coda (*in blu*).

Ci sono altri modi che permettono di trarre benefici dai fagi in medicina?

Stiamo sviluppando un approccio che usa gli enzimi litici del fago. Quando i fagi entrano in un batterio prendono il controllo della cellula per produrre nuove particelle virali. Alla fine del ciclo i batteriofagi devono uscire dal batterio, e lo fanno producendo un enzima litico che degrada la parete batterica, causando l'esplosione dei batteri. Abbiamo purificato quell'enzima e lo abbiamo aggiunto nuovamente alle nostre cellule batteriche. La lisina produce un buco nella parete cellulare, causando la morte praticamente istantanea dei batteri. Negli esseri umani le lisine possono essere applicate direttamente sulla pelle o sulle membrane mucose oppure iniettate nel sangue. Dato che vengono rapidamente eliminate dall'organismo, e non possono distruggere tessuti umani, ci aspettiamo che siano sicure.

Come si è reso conto che questi enzimi potevano essere sfruttati per fini terapeutici?

Ho purificato una di queste lisine durante il mio dottorato, circa quarant'anni fa. A quell'epoca avevo usato l'enzima per degradare le pareti cellulari dei batteri del genere *Streptococcus* allo scopo di studiare le proteine superficiali, ma la vera svolta medica è arrivata circa dieci anni fa. Avevo topi con faringite da streptococco del gruppo A. Quando ho iniettato la lisina nella gola di questi topi ho scoperto che uccidevano gli streptococchi in modo rapido. Dunque ho capito che questi enzimi potevano essere usati a scopi terapeutici. È stato un momento illuminante. Era la prima volta che qualcuno usava una lisina in un modello animale e dimostrava un effetto terapeutico.

Da allora abbiamo usato le lisine in animali da laboratorio per trattare l'endocardite, un'infezione delle valvole cardiache, e le abbiamo usate per studiare la meningite, un'infezione del cervello. Inoltre abbiamo usato le lisine per trattare la polmonite, le infezioni da streptococco del gruppo B e la batteriemia, un'infezione del sangue. Questi enzimi sono molto stabili, e possono essere congelati o liofilizzati per molto tempo, mantenendo la loro attività.

È impressionante. Anche altri scienziati vedono lo stesso potenziale terapeutico?

È stata dura. Dicevano: «È interessante ma...». Le case farmaceutiche temevano che il nostro sistema immunitario potesse sviluppare anticorpi contro queste lisine e neutralizzarle. Inoltre erano preoccupate dal fatto che gli enzimi sono molto specifici: l'enzima per lo streptococco uccide esclusivamente lo streptococco, l'enzima per lo pneumococco uccide solo *Pneumococcus* e l'enzima per l'antrace uccide solo l'antrace. Le persone dicevano: «Sai, sono troppo mirati. Abbiamo bisogno di enzimi con un ampio spettro di attività».

Adesso abbiamo enzimi con uno spettro di attività abbastanza ampio, ma non è questa la via da seguire, perché in questo modo si uccidono troppi batteri buoni. Quando elimini organismi buoni finisci per avere altri problemi. Stai meglio quando uccidi solo gli organismi che vuoi uccidere senza danni collaterali e senza eliminare organismi che sono necessari per la tua salute e il tuo benessere. Credo che tutto stia iniziando ad andare in quella direzione: provare a uccidere solo ciò che si vuole uccidere senza distruggere tutti i batteri dell'organismo.

E queste lisine potrebbero avere altre applicazioni per la protezione della salute umana?

Esatto. Abbiamo sviluppato un enzima che uccide l'antrace. Il governo degli Stati Uniti ha impiegato dieci anni per rendersi conto che se si verificasse un evento terroristico con l'antrace, in cui le spore sono liberate in una città, ci vorrebbero decenni per rimuoverle tutte in maniera sicura. E per farlo si dovrebbero usare materiali corrosivi. Quello che siamo riusciti a fare in laboratorio è prendere la lisina per l'antrace e combinarla con una sostanza naturale che induce la germinazione dell'antrace. Entro 20 minuti si può uccidere il 99,99 per cento delle spore. È una soluzione acquosa, molto sicura, e quindi si potrebbe usare per decontaminare vaste superfici contaminate dalle spore.

Si può immaginare che questo approccio possa essere sfruttato per uccidere batteri in agricoltura o per controllare l'MRSA negli ospedali lavando i pazienti con un tampone prima e dopo l'intervento chirurgico. I batteriofagi sono inoltre usati per uccidere i batteri nella carne in scatola.

I batteri potrebbero sviluppare resistenza alle lisine?

Fino a oggi non abbiamo trovato alcun batterio resistente a questi enzimi. Penso che questo sia realmente dovuto al modo in cui questi enzimi si sono evoluti nell'arco di miliardi di anni per attaccarsi a parti del batterio che il batterio non può modificare. Mai dire mai, ma lo sviluppo di forme di resistenza sarebbe un evento molto raro.

La prima sperimentazione clinica di ContraFect contro l'MRSA inizia quest'anno, usando una lisina che lei ha scoperto, CF-301. Si tratta della prima sperimentazione umana con le lisine?

È esatto, sarà la prima volta che le lisine verranno usate negli esseri umani.

Immagino che sia un momento molto emozionante...

Molto. Ci sono voluti dieci anni di duro lavoro per arrivare a questo punto.

PER APPROFONDIRE

Per vedere animazioni che mostrano il modo in cui funzionano i batteriofagi visitate la pagina web: <http://tinyurl.com/btxzr2f>.