

DESARROLLO DE ENZIBIÓTICOS PARA COMBATIR INFECCIONES HUMANAS PRODUCIDAS POR ENTEROCOCCUS FAECIUM [ANTI-ERV]

TELUM 
THERAPEUTICS



 Instituto de Salud Carlos III

Pamplona (NAVARRA)

Febrero 2022

ÍNDICE

A.	RESUMEN EJECUTIVO DEL PROYECTO	1
A.1.	RESUMEN DEL PROYECTO	1
A.2.	TABLA RESUMEN DEL PRESUPUESTO COMPLETO DEL PROYECTO	1
B.	OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS	2
B.1.	OBJETIVOS	2
B.2.	CONOCIMIENTOS Y DESARROLLOS ACTUALES	2
B.3.	ASPECTOS CLAVE DE LA PROPUESTA	6
B.4.	RESULTADOS ESPERADOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
C.	PLAN DE TRABAJO, RIESGOS Y PRESUPUESTO.....	7
C.1.	PLAN DE TRABAJO.....	7
C.2.	RIESGOS TECNOLÓGICOS	15
C.3.	PRESUPUESTO.....	15
D.	DESCRIPCIÓN DEL CONSORCIO	17
D.1.	COMPOSICIÓN DEL CONSORCIO	17
D.2.	COORDINADOR DEL PROYECTO	22
E.	IMPACTO ESPERADO.....	24
E.1.	DESCRIPCIÓN DEL IMPACTO ESPERADO.....	24
E.2.	PLANES DE DIFUSIÓN	24
E.3.	PLANES DE ACCESO ABIERTO	24
E.4.	OTROS IMPACTOS.....	24
E.5.	DIMENSIÓN INTERNACIONAL.....	25

A. RESUMEN EJECUTIVO DEL PROYECTO

Título		Acrónimo	ANTI-ERV
Fecha inicio	01/04/2022	Fecha fin	31/12/2024
Entidades participantes	TELUM THERAPEUTICS S.L, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID INSTITUTO DE SALUD CARLOS III		

A.1. Resumen del proyecto

A.2. Tabla resumen del presupuesto completo del proyecto

Participante	Amort.	Personal	Materiales	Colab. Externas	Otros	Total	%
TELUM							
UCM							
ISCI							

B. OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS

B.1. Objetivos

El presente proyecto tiene como objetivo **desarrollar un compuesto para ser utilizado en infecciones provocadas por *Enterococcus faecium*, basado en el empleo de enzimas naturales y alternativo al uso de antibióticos.**

Concretamente los **objetivos técnicos** a alcanzar son los siguientes:

- Eficacia de la enzima contra *Enterococcus* resistente a vancomicina como alternativa a los antibióticos empleados actualmente para el tratamiento de dichas infecciones (vancomicina, daptomicina y tigeciclina)
- Potencial preventivo frente a infección por estas bacterias tanto en estado planctónico (infección invasiva) como en estado de biofilm (infección crónica). Potencial terapéutico frente a estas bacterias
- Toxicidad nula del enzibiótico
- Efecto del tratamiento combinado con fármacos actualmente en uso (vancomicina, daptomicina, tigeciclina, Oxazolidinone, Linezolid, Quinupristin/dalfopristin).
- Elevada estabilidad de la enzima en las condiciones de su aplicación como fármaco final (pH, temperatura y concentración de azúcar y sales del medio).
- Pureza del enzibiótico superior al 95%

Todo ello se logrará mediante los siguientes **objetivos operativos**:

- Aislar y caracterizar los metaviromas de 3 muestras ambientales (aguas residuales, hospitales y granjas).
- Aplicar bioingeniería de proteínas para construir proteínas quimera con actividad mejorada y una mayor estabilidad frente a condiciones ambientales desfavorables / formulación / una combinación óptima de dominios en la enzima.
- Optimizar las condiciones de producción de la enzima para los ensayos de actividad.
- Realizar ensayos *in vitro* de eficacia, solubilidad, estabilidad de la enzima y en combinación con antibióticos convencionales.
- Determinar la eficacia preventiva y terapéutica de la enzima y su combinación con antibióticos convencionales frente a biofilms y cultivos planctónicos.
- Validar un modelo de sepsis provocada por una infección de *Enterococcus* resistente a vancomicina en ratones.
- Determinar la eficacia y seguridad biológica de la enzima en ratones y su combinación con fármacos actualmente en uso frente a *Enterococcus* resistente a vancomicina.

B.2. Conocimientos y desarrollos actuales

El rápido aumento y diseminación de **bacterias multiresistentes a los antibióticos**, representa una amenaza a nivel global, tanto para la salud humana, la salud animal y la cadena alimentaria. Tiene especial relevancia la resistencia antimicrobiana que han adquirido las bacterias patógenas pertenecientes al grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y Enterobacterias) ya que el tratamiento de las infecciones graves producidas por estos patógenos se ha visto reducido y dificultado. Además, se ha incrementado la carga de la enfermedad y las tasas de mortalidad debido al fracaso del tratamiento. La resistencia a antimicrobianos es, por tanto, un fenómeno que requiere una respuesta global coordinada para la vigilancia y control de dicha resistencia. Esta nueva amenaza para la salud que se avecina, ha renovado el interés en el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas, ha puesto de manifiesto la necesidad de una mejor atención al paciente y ha establecido las bases para abordar el problema a nivel global por los organismos competentes.

Actualmente, no existe un sistema íntegro de vigilancia a nivel internacional, pero aún así, los informes disponibles demuestran que, en Estados Unidos, hay más de 2 millones de infecciones producidas por bacterias resistentes a los antimicrobianos con un número de muertes de 29000 y un coste de 4,7 millones de dólares al año [1]. En Europa, más de 33000 muertes con un coste de 1,5 millones de euros se atribuyen a infecciones por bacterias multirresistentes adquiridas en el hospital (HA) y adquiridas en la comunidad (CA), cada año (5, 6). En los países en desarrollo, donde no se dispone de estimaciones de pérdidas económicas, las enfermedades transmisibles siguen siendo la principal causa de muerte, y ahora se ven agravadas por las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes [2,3]. Aunque la resistencia a antibióticos es un fenómeno natural que se lleva a cabo por mutaciones en el genoma de las bacterias, o adquisición de genes de resistencia a los antibióticos, este fenómeno se ha visto incrementado por un mal uso de los antibióticos tanto en clínica como en veterinaria en las explotaciones ganaderas.

Enterococcus faecium es uno de los mayores agentes causantes de infecciones adquiridas en los hospitales y las cepas adaptadas a este ambiente, han adquirido multirresistencia a antibióticos, incluida la vancomicina, recibiendo el nombre de *Enterococcus* vancomicina-resistentes (VREs) [4]. Se cree que la diseminación de VREs en Estados Unidos y el resto del mundo, ocurrió durante dos períodos diferentes. La primera ola comenzó en la década de 1980 cuando se empezaron a realizar tratamientos con cefalosporinas de tercera generación, que desencadenaron la aparición de resistencia frente a la vancomicina y a la ampicilina [5]. A partir de aquí, se cree que los VREs se diseminaron al resto del mundo, resultando en que en distintos países de la Unión Europea se ha reportado un aumento de la prevalencia de VREs en pacientes hospitalizados [6,7]. En particular, los VREs pertenecientes al complejo clonal CC17, son actualmente los responsables en mayor medida de las infecciones adquiridas en hospitales [8]. Las cepas CC17 son, además, muy abundantes como parte del microbiota intestinal de animales de granja y en aguas residuales [9].

En comparación con las infecciones causadas por otros microorganismos ESKAPE, las infecciones causadas por VRE tienen una mayor duración de aproximadamente 11 meses de tratamiento, y suele deberse a una exposición prolongada en el tiempo a antibióticos, lo que hace que VRE sea la especie predominante en el tracto gastrointestinal y está asociada también a las infecciones del tracto urinario debidas al uso de catéteres, infecciones intraabdominales y pélvicas, endocarditis y septicemias [10]. Además, la mortalidad asociada a una septicemia causada por una VRE está por encima de un 30% y es 2,5 veces superior a las septicemias causadas por *Enterococcus* sensibles a vancomicina [11]. El tratamiento y cuidado de estos pacientes resulta muy costoso y difícil, porque normalmente debe recurrirse a antibióticos de segunda generación como tigeclina y daptomicina, que la mayoría de las veces se asocian con un mayor coste, una disminución de la eficacia y un mayor riesgo de toxicidad en comparación con el coste.

La siguiente tabla resume las características de los procedimientos terapéuticos actualmente disponibles frente a *Enterococcus faecium*:

	Vancomicina	Tigeclina y daptomicina	Terapias fágicas
Activo frente a cepas resistentes	X	±	✓
Eficacia del tratamiento	±	±	✓
Especificidad	X	X	✓
Evita los efectos adversos	✓	X	✓
Estabilidad en fluidos humanos	✓	✓	±
Coste	✓	±	X

De hecho, en 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS), publicó una lista de patógenos en los que se encuentra *Enterococcus faecium*, como "prioritario", para los cuales existe una necesidad urgente de investigación y desarrollo de nuevas estrategias antimicrobianas [12].

En el ámbito de la lucha frente a bacterias multirresistentes, el **uso de bacteriófagos (fagos) y de sus proteínas líticas**, ha demostrado excelentes resultados por parte de diferentes

compañías tecnológicas. Los bacteriófagos son virus que infectan exclusivamente bacterias, y pueden considerarse como antimicrobianos ya que matan a la bacteria al final de su ciclo de desarrollo.

En los últimos años, el estudio de **proteínas líticas** de los fagos (VALs y endolisinas) con actividad antimicrobiana, se ha incrementado [13]. Estas proteínas líticas, juegan un papel fundamental en el ciclo de desarrollo de un fago. Por un lado, las VALs son componentes estructurales del virión que participan en los primeros pasos de replicación de un virus, formando pequeños poros en el peptidoglicano a través de los cuales entra el material genético. Las endolisinas, por su parte, se sintetizan al final del ciclo de desarrollo del fago junto con la holina. La holina se integra en la membrana interna de la bacteria formando un poro a través del cual pasa la endolisina que se une al peptidoglicano y lo degrada.

La mayoría de las proteínas líticas de los fagos de DNA de doble cadena, poseen una estructura modular y las proteínas líticas de fagos de enterococos, no son una excepción [14]. La mayoría posee una estructura modular formada por dos dominios (66%), que pueden ser un dominio de actividad peptidoglucanasa hidrolasa (Amidase_2) y un dominio de unión a peptidoglucano, que pueden ser tipo SH3 o Zoocin_A. Además, también se pueden encontrar endolisinas con un dominio catalítico muramidasa, y dos dominios de unión a peptidoglucano, LysM (18,9 %). Finalmente, existen endolisinas modulares en las que solo se identifica un dominio catalítico, ya sea muramidasa o CHAP (1,9% y 13,2%, respectivamente), pero que tienen una secuencia en C-terminal que no es conocida, posiblemente, estas secuencias se tratan de nuevos dominios de actividad o de unión al peptidoglucano, nunca descritos previamente. Adquirir un mayor conocimiento sobre estos dominios es de vital importancia ya que los dominios catalíticos son responsables de la degradación de peptidoglucanos y los de unión a pared, los responsables de reconocer el peptidoglucano, potenciando así la actividad del dominio catalítico.

El potencial antimicrobiano de las proteínas líticas de fagos (denominados enzibióticos), se basa en su capacidad de degradar el peptidoglucano, lo que conlleva la lisis osmótica, cuando las proteínas se agregan exógenamente a las bacterias Gram positivas [13]. Existen estudios que demuestran la eficacia de las endolisinas frente a especies del género *Enterococcus*, tanto *in vitro* como *in vivo* [13]. Por ejemplo, la utilización de la endolisina Lys170, mostró una muy buena actividad frente a VRE en crecimiento exponencial, pero no era tan activa frente a bacterias en fase estacionaria. Esta endolisina, está formada por un dominio catalítico amidasa y un dominio Zoocin-A. Para algunas endolisinas, se ha demostrado también su potencial antimicrobiano *in vivo*. Por ejemplo, el tratamiento con una sola dosis intraperitoneal de 5 µg de LysEF-P10 consiguió la eliminación total de la cepa VRE causante de la infección, del tubo digestivo del ratón sin causar daños colaterales en la microbiota intestinal ni efectos tóxicos en el ratón [15]. Otros estudios describen la utilización de IME-EF1, que consiguió la supervivencia del 80% de los ratones tras la administración de una dosis letal de *Enterococcus faecalis*, reduciendo además la sepsis [16].

Durante la última década, el estudio, síntesis y producción de enzibióticos ha desembocado en el uso de la **ingeniería de proteínas** como una herramienta valiosa para diseñar proteínas con mayor actividad antimicrobiana (enzibióticos de segunda generación) o con una mayor resistencia y estabilidad a condiciones ambientales nocivas (pH, temperatura), mejor actividad antibiofilm, que reducen los procesos inflamatorios o que estimulan la respuesta inmune, (enzibióticos de tercera generación) [17]. La construcción de quimeras consiste en la combinación de distintos dominios catalíticos y de unión a la pared celular, cuyo origen son los enzibióticos naturales, para modificar su actividad antibacteriana. A modo de ejemplo, en la endolisina anteriormente mencionada Lys170, su dominio de unión del peptidoglucano se fusionó a un dominio catalítico tipo peptidasa, obteniéndose una proteína quimera, denominada EC300, que mostró una mayor actividad antimicrobiana que la original Lys170 [18].

Hasta el momento, **el único método utilizado para encontrar genes que codifican para endolisinas y VALs es secuenciando genomas de fagos**. Dado que los fagos deben

aislarse, propagarse y purificarse antes de la secuenciación de su genoma, encontrar nuevos enzibióticos naturales, puede llevar mucho tiempo y ser un proceso costoso. Además, la mayoría de los nuevos fagos aislados pertenecen a las mismas familias y sus proteínas líticas a menudo comparten la misma estructura modular y secuencias de proteínas similares. Esto está intrínsecamente relacionado con el hecho de que, para el aislamiento de fagos, es necesario usar una cepa específica como hospedador, lo que implica que muchas proteínas líticas de fagos no cultivados quedan fuera del cribado y nunca llegan a testarse. En este sentido, la solución sería utilizar metagenomas virales, como método independiente de cultivo y, por lo tanto, de hospedador. Un estudio preliminar realizado en este ámbito predijo que en metagenomas virales existe una amplia variedad de dominios y nuevas arquitecturas que no se encuentran en los fagos secuenciados de las bases de datos [19].

En este contexto, y partiendo del conocimiento y experiencia de TELUM en el desarrollo de enzibióticos (proteínas fágicas con actividad antimicrobiana), el consorcio se plantea el desarrollo de un nuevo producto eficaz frente a *E. faecium*, proveniente de bacteriófagos específicos de este género de bacterias, mediante una metodología optimizada que permite un procedimiento coste-eficiente, así como la obtención de un antimicrobiano eficaz y con potencial antibiofilm.

Proyectos precedentes:

El conocimiento adquirido en este campo por el equipo de Telum desde sus orígenes como departamento de microbiología en IKAN, ha llevado a desarrollar y optimizar un sistema de búsqueda y desarrollo de nuevos enzibióticos en metagenomas virales, frente a distintas bacterias patógenas como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *K. pneumoniae* y *S. aureus*. Actualmente, la colección de TelumTherapeutics cuenta con 95 proteínas líticas naturales, de las que se han obtenido 86 dominios con actividad enzimática y 29 dominios con actividad de unión a peptidoglicano. Las proteínas parentales se han obtenido en metagenomas virales, provenientes de muestras antropogénicas en granjas de cerdos. Para ello, se ha utilizado el software bioinformático Geneus PRIME junto con softwares online para el ensamblaje y anotación de metagenomas virales (metaSPADEs, GenemarK™, JGI IMG, BLAST). A continuación, las ORFs obtenidas en estos metagenomas virales, se compararon con las secuencias de proteínas fágicas antimicrobianas que ya están presentes en las bases de datos. Finalmente, para la delineación de los dominios de actividad, se utilizaron las herramientas bioinformáticas InterproScan, HMMER, SMART and Phobius, junto con el software AlphaFold que permite determinar la estructura tridimensional de las proteínas.

Este sistema ha sido puesto a punto a lo largo de los últimos años, y aplicado en la ejecución de los diversos proyectos en los que la empresa está inmersa. Entre ellos, cabe destacar PSEUDOENTER (Nueva terapia fágica frente a *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias multirresistentes a antibióticos).

Además, fruto de los mencionados proyectos en curso, se ha desarrollado también una plataforma (APEXp™), una tecnología propia de Telum, que permite la combinación de miles de dominios con una metodología simplificada y universal facilitando la obtención de resultados rápidos. Con esta tecnología, miles de proteínas quiméricas pueden ser producidas en un solo tubo y analizadas en cortos periodos de tiempo. Por lo tanto, este enfoque de ingeniería es muy interesante para aprovechar el potencial de los enzibióticos como antimicrobianos utilizando como base de partida el análisis de los metagenomas virales.

Bibliografía:

- | |
|--|
| 1. Centers for Diseases Control and Prevention 2019. https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf |
| 2. Cassini et al 2015. Lancet Infect Dis 19:56–66. doi:10.1016/S1473-099(18)30605-4. |

3. Weit and Hogberg 2016 Euro Surveill 21(46):pii=30401. doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.46.30399.
4. Lebreton et al 2013. mBio 4:e00534-13. doi:10.1128/mBio.00534-13
5. Murray BE. 1990. Clin Microbiol Rev 3:46–65. doi:10.1128/cmr.3.1.46.
6. Pinholt M, et al. 2015. J Antimicrob Chemother
7. Gastmeier P, et al. 2014. J Antimicrob Chemother 69:1660–1664. doi:10.1093/jac/dku035.
8. Goncalves A, et al. 2011. Sci Total Environ 410-411:266–268. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.09.074.
9. Environ Microbiol. 2008 Apr;10(4):885-92. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01507.x.
10. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. 2000. Clin Microbiol Rev 13:686–707. doi:10.1128/cmr.13.4.686-707.2000.
11. O'Driscoll T, Crank CW. 2015. Infect Drug Resist 8:217–230. doi:10.2147/IDR.S54125.
12. WHO, 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29276051/>
13. Fischetti, V.A. (2010). *Int J Med Microbiol.* 300, 357-362.
14. Bolocan et al 2019. Viruses. doi: 10.3390/v11040366
15. Cheng M., et al. 2017. Sci. Rep. 2017;7:10164. doi: 10.1038/s41598-017-10755-7.
16. Zhang W., et al. 2013. PLoS ONE. 2013;8:e80435. doi: 10.1371/journal.pone.0080435.
17. Maesschalck V et al. 2020 Crit Rev Microbiol. 2020 Sep;46(5):548-564. doi: 10.1080/1040841X.2020.1809346.
18. Proença et al. 2015. Appl Microbiol Biotechnol 99(12):5137-49. doi: 10.1007/s00253-015-6483-7.
19. Fernández-Ruiz et al., 2018.

B.3. Aspectos clave de la propuesta

- **Proceso coste-eficiente** gracias al empleo de herramientas bioinformáticas y de técnicas independientes de cultivo de metagenómica viral. Los metagenomas virales y adicionalmente, los fagos puros (aislados por técnicas dependientes de cultivo), se obtendrán a partir de muestras ambientales de aguas residuales, desechos de hospital y residuos de granjas de cerdos, donde las especies enterocócicas deberían estar presentes, y por tanto los fagos que las infectan también. La metagenómica viral, permite dar un salto tecnológico y disponer de una gran cantidad de datos sin restringirse a los obtenidos a partir de aislados provenientes de cultivos particulares. Esta amplia variedad facilitará la obtención de una completa colección de potenciales enzibióticos naturales y de sus dominios de actividad y de unión al peptidoglicano.
- **Actividad antibacteriana mejorada** mediante el uso de bioingeniería de proteínas a través de la plataforma APEXp. Se seleccionarán los dominios con mayor potencial antimicrobiano, de manera que se obtengan enzibióticos de segunda generación con una mayor actividad antimicrobiana y antibiofilm, *in vitro*, ya sea utilizándolos como tratamiento único o en combinación con los antibióticos de uso convencional.
- **Mayor resistencia y estabilidad** en fluidos humanos mediante el uso de bioingeniería de proteínas a través de la plataforma APEXp mediante la fusión del enzibiótico a péptidos que reconocen la albúmina del suero humano.

C. PLAN DE TRABAJO, RIESGOS Y PRESUPUESTO

C.1. Plan de trabajo

El proyecto se ejecutará a lo largo de 33 meses entre abril de 2022 y diciembre de 2024, según las actividades plasmadas en el siguiente cronograma:

ACTIVIDADES Y TAREAS	ENTIDAD			2022												2023												2024											
	TELUM	UCM	ISCI	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
A1 Desarrollo del enzibiótico																																							
T1.1 Recogida de muestras y aislamiento de cepas	L			█																																			
T1.2 Obtención y análisis del metagenoma viral	L			█																																			
T1.3 Producción y purificación del enzibiótico	L			█																																			
T1.4 Combinación de dominios del enzibiótico	L			█																																			
A2 Evaluación in vitro																																							
T2.1 Pre-evaluación de la eficacia	L			█																																			
T2.2 Puesta a punto del biofilm con cepas de <i>E. faecium</i>		L		█																																			
T2.3 Ensayos de eficacia del enzibiótico frente a biofilms	P	L		█																																			
T2.4 Ensayos de eficacia de enzibióticos recombinantes frente a biofilm	P	L		█																																			
T2.5 Ensayos combinados con fármacos actualmente en uso	P	L		█																																			
A3 Evaluación in vivo																																							
T3.1 Puesta a punto de modelo animal con cepas de <i>E. faecium</i>			L	█																																			
T3.2 Ensayos de eficacia del enzibiótico en ratones	P		L	█																																			
T3.3 Ensayos de eficacia de enzibióticos recombinantes en ratones	P		L	█																																			
T3.4 Ensayos combinados con fármacos actualmente en uso	P		L	█																																			
A4 Conclusiones																																							
T4.1 Puesta en común de resultados y conclusiones	L	P	P	█																																			

ACTIVIDAD 1. DESARROLLO DEL ENZIBIÓTICO

Tarea 1.1. Recogida de muestras y aislamiento de cepas	
Responsable	TELUM
Objetivo	Obtener una colección de cepas enterocócicas resistentes a vancomicina, para estudiar sus mecanismos de patogenicidad y emplearlas en los ensayos in vivo e in vitro posteriores.
Metodología	
<p>Las muestras se tomarán a partir de tres ambientes. Las aguas residuales se tomarán recolectando 10 litros de agua a la entrada de una depuradora de agua residual, de manera que estas aguas no están sometidas a ningún tratamiento de químico, simplemente tras un tamizado de los restos de mayor tamaño. Las muestras hospitalarias se obtendrán también, recolectando 10 litros de aguas residuales de hospitales no tratadas. Estas muestras, por un lado, se centrifugarán para separar la fracción bacteriana (pellet) de la fracción vírica (sobrenadante). El sobrenadante se concentrará por métodos de filtración tangencial hasta obtener 5 ml de volumen final.</p> <p>Las muestras animales se tomarán en una granja de cerdos, mediante rascado de la piel de cerdos. Para obtener datos fiables, y reproducibles se tomará una muestra total de 60 cerdos. Para ello, se rasará con un hisopo detrás de la oreja de los cerdos y se sumergirá el hisopo en 5 ml de buffer salino estéril. Estas muestras se juntarán en un mismo tubo y el líquido resultante se centrifugará para separar bacterias y virus al igual que en el caso de las otras dos muestras. Se concentrará por filtración tangencial hasta 5 ml de volumen final.</p> <p>A partir de las fracciones bacterianas, se seleccionará una colección de un máximo de 100 cepas de <i>E. faecium</i>, mediante aislamiento en medios selectivos, y se realizará una caracterización que incluye determinar la variabilidad genética de las cepas (por RAPD-PCR), la producción de toxinas, la formación de biofilms, la virulencia en modelos animales y la resistencia a los antibióticos (especialmente analizando la presencia de genes de resistencia a vancomicina). A pesar de que se tomará un alto volumen de muestras, el estudio podría resultar en un bajo número de especies enterocócicas aisladas. En ese caso, ampliaremos el número de muestras con la colección obtenida en el Instituto de Salud Carlos III (ISCI).</p>	
Entregable (indicador de seguimiento)	
Colección de un máximo de 100 cepas de <i>Enterococcus faecium</i>	
Tarea 1.2. Obtención y análisis del metagenoma viral	
Responsable	TELUM

Objetivo	Identificar nuevas proteínas líticas de fagos (enzibióticos) con potencial para lisar enterococos y con diferentes dominios de actividad y de unión a la pared celular
Metodología	
<p>Se construirán tres bibliotecas de muestras virales, una para cada origen de muestra (agua residual, hospital y granja). Con el fin de obtener suficiente cantidad de ADN para la secuenciación, todas las muestras ambientales se concentrarán hasta 5 ml de volumen. Las muestras serán tratadas con DNase y RNase antes de la extracción del genoma de los virus, para eliminar el material genético de bacterias y de otros eucariotas que pueda haber previamente en la muestra ambiental. Para extraer y concentrar el ácido nucleico viral, se utilizará el Kit QIAamp UltraSens Virus (QIAGEN). Las genotecas se construirán de acuerdo con los protocolos Nextera XT (Illumina) en la compañía de ADM Biopolis (Valencia, España).</p> <p>En paralelo, para verificar la validez del método, se realizará una comparación entre las proteínas predichas por el método independiente de cultivo, y aquellas seleccionadas a partir de fagos cultivados frente a <i>E. faecium</i>. Para ello, se aislarán nuevos fagos (máximo de 50) a partir de los 3 tipos de muestras ambientales, mediante el enriquecimiento con cepas enterocócicas que han sido previamente aisladas (tanto por TELUM: Tarea 1.1 como por el ISCIII). Una vez enriquecidas, los fagos se aislarán mediante técnicas convencionales de aislamiento en doble capa y se propagarán en líquido, hasta alcanzar concentraciones >10⁹ UFP/ml. El genoma de los fagos purificados se extraerá utilizando el Kit QIAamp UltraSens Virus (QIAGEN). Mediante RAPD-PCR se estudiará la variabilidad genética de los fagos. Aquellos con la mayor variabilidad serán elegidos para la secuenciación.</p> <p>Las genotecas y el genoma de los fagos purificados se secuenciarán utilizando Next Generation Sequencing (NGS) Illumina NexteraXT en un servicio externo para obtener entre 5.000.000-10.000.000 lecturas por muestra, en una estrategia 250/300 PE (ADM Biopolis, Valencia, España). Las secuencias obtenidas serán ensambladas y anotadas posteriormente usando el Software bioinformático Geneious PRIME en combinación con los softwares metaSPADEs, GenemarkTM, JGI IMG, myRAST, BLAST. Para determinar qué ORFs pueden ser potencialmente nuevos enzibióticos frente a <i>E. faecium</i>, se realizará una comparación de proteínas con aquellas proteínas que ya están descritas en las bases de datos. Las secuencias de proteínas líticas de fagos de enterococcus, se obtendrán a través de la base de datos “PhaLP database” (https://www.phalp.org/), que incluye todas las secuencias de todas las proteínas líticas de todos los fagos que se encuentran secuenciados en todas las bases de datos. Esta base de datos de referencia se curará manualmente para eliminar todas aquellas secuencias que estén repetidas y se mantendrá mediante renovación cada 6 meses.</p> <p>Una vez realizada la comparación de las ORFs obtenidas de los metagenomas virales y de los fagos aislados, con las proteínas fágicas antimicrobianas de la base de datos PhaLP, se establece un punto de corte, seleccionando todas las proteínas que tengan una identidad por encima del 60%. Adicionalmente, se hace un BLASTP frente a todas las bases de datos de los hits obtenidos, descartando todas las proteínas que tengan una homología por encima del 40% con otras proteínas líticas que vienen de fagos de otros grupos bacterianos que no pertenezcan al grupo enterococos. Finalmente, se determinan los dominios que forman estas proteínas utilizando los softwares HMMR, SMART e INTERPROscan. Además, la estructura tridimensional de las proteínas se realizará utilizando el software AlphaFold.</p>	
Entregable (indicador de seguimiento)	
<p>Tres genotecas aisladas de tres muestras ambientales (aguas residuales, aguas residuales de hospitales y cerdos).</p> <p>Colección de un máximo de 50 fagos purificados.</p> <p>Colección de más de 100 enzibióticos naturales con potencial efecto antimicrobiano frente a <i>E. faecium</i>.</p>	

Colección de al menos 10 dominios de actividad enzimática y 10 dominios de unión a peptidoglicano diferentes.

Tarea 1.3. Producción y purificación del enzibiótico

Responsable TELUM

Objetivo Expresión, purificación y caracterización enzimática completa de enzibióticos

Metodología

A partir de los datos recogidos en la Tarea 1.2., se realizará una selección de los enzibióticos más adecuados portadores de diferentes dominios enzimáticos y se sintetizarán los genes de interés (GenScript Biotech; Holanda), se clonarán en vectores de expresión adecuados (pET21, pNIC...) que introducen una cola de His en C-terminal y se transformarán en cepas de *E. coli* derivadas de BL21 para la expresión. Inicialmente, se llevarán a cabo condiciones de expresión estándar y se realizará una purificación por cromatografía de afinidad de la cola de His con Ni. La expresión heteróloga de las proteínas se ve obstaculizada en algunos casos debido a su baja solubilidad. En estos casos, la optimización de la secuencia al uso de codones de *E. coli* podría mejorar la recuperación de proteínas. También se probará la baja temperatura y concentración de IPTG durante la inducción de las proteínas

Posteriormente, este proceso se reproducirá para las quimeras diseñadas en la tarea 1.4.

Entregable (indicador de seguimiento)

Proteínas purificadas por cromatografía de afinidad.

Tarea 1.4. Combinación de dominios del enzibiótico

Responsable TELUM

Objetivo

Metodología

En base a los resultados obtenidos en la tarea 1.2, se sintetizarán los genes que codifican los diferentes dominios (GenScript Biotech; Holanda) en el vector de clonación pUC57mini. Estas secuencias estarán flanqueadas por las secuencias universales establecidas en la plataforma APEXp para hacer combinaciones de dominios en un orden determinado (posición1, posición 2... etc).

Con los dominios se realizarán diferentes librerías con distinta ordenación de dominios utilizando el método de Shuffling de la plataforma APEXp en la que los dominios se clonan en el vector de expresión pTTEEx que introduce colas de Histidinas en N o C terminal para la posterior purificación por cromatografía de afinidad con Ni. Las librerías, pueden constar de un solo dominio de actividad enzimática, dos dominios de actividad enzimática, un dominio de actividad enzimática y uno de unión a peptidoglicano... Las combinaciones de dominios se seleccionarán en base a los resultados obtenidos en la tarea 1 en función de la estructura más habitual presente en los enzibióticos naturales. Esto significa que se puede obtener bibliotecas de proteínas quiméricas que llevan todas las combinaciones posibles de dominios de actividad y dominios de unión al peptidoglicano

Para analizar la actividad de estas proteínas se expresarán en *E. coli* utilizando placas de microtitulación de 96 pocillos y las proteínas recombinantes se probarán contra una colección de enterococos mediante un ensayo de gota (metodología puesta a punto en TelumTherapeutics). Con todos estos datos se secuenciarán los genes que codifican las proteínas más activas y a partir de los datos obtenidos, podremos establecer reglas de diseño de los dominios que se encuentran con mayor frecuencia en las proteínas más activas para simplificar futuras combinaciones.

Entregable (indicador de seguimiento)

Distintas librerías de proteínas clonadas en el vector de expresión pTTEEx.
Miles de proteínas quimeras activas frente a *E. faecium*.

ACTIVIDAD 2. EVALUACIÓN IN VITRO

Tarea 2.1. Pre-evaluación de la eficacia

Responsable	TELUM
Objetivo	Descartar los enzibióticos con menor capacidad antimicrobiana, con el fin de no incluirlos en los ensayos ulteriores.
Metodología	
<p>Se evaluará su actividad <i>in vitro</i> con ensayos clásicos de recuento de bacterias viables y ensayos de MIC realizados en distintos medios y buffers (BHI, tampón fosfato, suero humano, suero similar a la orina...)</p> <p>La caracterización de la actividad de las proteínas que han dado mayor actividad en los apartados anteriores se realizará determinando su actividad muralítica frente al peptidoglicano de la bacteria utilizando metodología clásica (turbidity reduction and halo assay). Para determinar la actividad lítica de la proteína se utilizarán técnicas clásicas (growth inhibition, time-killin, MIC/MBC). Tanto los ensayos de actividad muralítica, como los ensayos de actividad antimicrobiana, se realizarán en distintas matrices: buffer, medio, suero humano, suero glucosado y suero salino. De esta manera se emularán las condiciones de aplicación intravenosa. La utilización de las distintas matrices, permitirá la preselección de aquellas proteínas que en principio sean las más estables para una formulación y una aplicación intravenosa. La actividad lítica consistirá en ensayos de inhibición del crecimiento de la bacteria (Curvas de crecimiento midiendo =OD600 en el que se añaden distintas concentraciones de la enzima), MIC y MBC, Time-killing curves: recuentos de bacterias a distintos tiempos, normalmente de 5 min a 6 h para determinar la rapidez con que la proteína elimina a la bacteria.</p> <p>La caracterización de las proteínas también incluirá estudiar la resistencia de la proteína en un rango de temperaturas (40-90°C) y en distintos pHs (3-11). Así como, la capacidad de las bacterias de generar resistencia a estas proteínas.</p> <p>Finalmente, la actividad de las proteínas también se pondrá de manifiesto mediante ensayos de sinergismo con antibióticos utilizados actualmente para el tratamiento de <i>E. faecium</i> Checkerboard assays)</p> <p>Se estudiará la resistencia de la proteína a distintas temperaturas: se incuba la proteína a distintas temperaturas de 40°C a 90 °C durante distintos tiempos entre 10 min y 30 min y posteriormente se hace un experimento de actividad lítica, por ejemplo, una MIC, para ver si la proteína pierde actividad. Resistencia de la proteína en distintos pHs. Se hace un ensayo de actividad. En cuanto a la resistencia antimicrobiana a la proteína: se incuba durante 10 generaciones la bacteria en concentraciones sub inhibitorias de la proteína, y se determina la MIC de esas bacterias crecidas en presencia de la proteína. Se comprueba si esa MIC ha aumentado o no con respecto al control.</p>	
Entregable (indicador de seguimiento)	
Tarea 2.2 Puesta a punto del biofilm con cepas de E faecium	
Responsable	UCM
Objetivo	Obtener una plataforma de biofilms de <i>E. faecium</i> vancomicina resistentes robusta para poder testar enzibióticos y combinaciones en soporte plástico y vidrio
Metodología	
<p>La formación de biofilm de <i>E. faecium</i> se determinará por la capacidad de las células para adherirse a placas multipocillo de poliestireno de 96 pocillos utilizando una modificación de un protocolo previamente descrito (Domenech M et al. 2013. Environ Microbiol 15: 502–16; Domenech M et al. 2016. Sci Rep 6: 36424). Se empleará una cepa bien conocida de <i>E. faecium</i>, como es la cepa E1162 (Paganelli FL et al., mBio. 2013;4(2):e00154) y otros aislados clínicos resistentes a vancomicina. En principio, las cepas de <i>E. faecium</i> se inocularán en medio TSB con 0.25% de glucosa a 37°C hasta una absorbancia a 550 nm (A550) de 0,5. A continuación, se sedimentarán por centrifugación, se resuspenderán en medio TSBG y se diluirán 100 veces. Se inocularán 4–5 × 10⁶ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml en cada pocillo. Las placas se incubarán a 37°C durante 24 h y el crecimiento bacteriano (bacterias adheridas y no adheridas) se determinará midiendo la A595 usando un lector de absorbancia de microplacas. La formación de biofilm se determinará usando un ensayo con cristal violeta (CV). Brevemente, a cada pocillo se añadirán 50 µl de una solución al 1% de CV. Las placas se incubarán a temperatura ambiente durante 15 min, se lavarán y se secarán al aire. La formación de biofilm se cuantificará solubilizando el biofilm con etanol al 95% y se medirá la A595. Dada la falta de datos previos precisos en la bibliografía, es razonable suponer</p>	

que la adecuación del protocolo mencionado requiera modificaciones hasta lograr una formación óptima de biofilm por parte de *E. faecium*, algo que resulta necesario conseguir para llevar a cabo los siguientes experimentos con garantías de éxito.

Entregable (indicador de seguimiento)

Un biofilm de *E. faecium* E1162 sobre placas multipocillo de poliestireno y placas con fondo de vidrio.

Un biofilm individual al menos con 3 aislados clínicos de *E. faecium* vancomicina resistentes sobre placas multipocillo de poliestireno y vidrio

Tarea 2.3 Ensayos de eficacia del enzibiótico frente a biofilms

Responsable UCM

Objetivo Determinar el efecto preventivo y terapéutico de los enzibióticos seleccionados frente al biofilm de *E. faecium* vancomicina resistentes

Metodología

La dinámica de formación de los biofilms constituye, en sí misma, una estrategia simple de supervivencia microbiana que facilita la transmisión de los patógenos proporcionando un ambiente protector estable. Las bacterias que constituyen un biofilm pueden ser hasta 1000 veces más resistentes a los agentes antimicrobianos que las formas planctónicas; en este sentido, encontrar nuevas terapias antibiofilm tanto de tipo profiláctico como alternativas al tratamiento antibiótico, como pueden ser los denominados enzibióticos es importante.

Por ello, mediante ensayos de inhibición y de disgregación del biofilm se analizarán los distintos enzibióticos,

Se llevarán a cabo ensayos de inhibición, donde el compuesto a evaluar se añadirá (en concentraciones sub-MIC y MIC) al comienzo del proceso de formación del biofilm junto con el inóculo bacteriano. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se procesará el biofilm tal y como se ha descrito previamente en la tarea 2.2. Se cuantificará también la viabilidad por recuento de viables. Por otro lado, se evaluará si estos enzibióticos son capaces de destruir el biofilm ya formado mediante ensayos de disgregación. Para ello, se formará el biofilm, se retirará el cultivo planctónico del biofilm, se lavará y se añadirá el compuesto a ensayar y se procederá a su incubación en las condiciones óptimas de actuación del compuesto. Se cuantificará la viabilidad por recuento de viables.

Para poner de manifiestos las posibles modificaciones de los enzibióticos en la arquitectura del biofilm, se observarán estos biofilms tratados y sus controles mediante microscopía confocal láser de barrido (CLSM), los biofilms se formarán sobre placas de fondo de vidrio siguiendo una metodología descrita (Domenech et al., 2011. doi: 10.1128/AAC.00492-11).

Entregable (indicador de seguimiento)

Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando los enzibióticos desarrollados y seleccionados.

Tarea 2.4 Ensayos de eficacia de enzibióticos recombinantes frente a biofilms

Responsable UCM

Objetivo Reproducir los ensayos realizados con el enzibiótico parental, en este caso sobre los enzibióticos generados por recombinación de dominios.

Metodología

Se reproducirán los ensayos de la tarea 2.3., en este caso con el enzibiótico recombinante.

Entregable (indicador de seguimiento)

Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando enzibióticos recombinantes.

Tarea 2.5 Ensayos combinados con fármacos actualmente en uso

Responsable UCM

Objetivo Reproducir los ensayos realizados con el enzibiótico aislado, incluyendo en esta ocasión también otros fármacos

Metodología

Se estudiará el efecto de las distintas combinaciones efectivas que desarrollen en la tarea 2.1 por TELUM. Los ensayos serán los mismos que en la tarea 2.3

Entregable (indicador de seguimiento)

Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando enzibióticos y tigeclina

ACTIVIDAD 3. EVALUACIÓN IN VIVO

Tarea 3.1 Puesta a punto del modelo animal	
Responsable	ISCIII
Objetivo	Confirmar la virulencia de diferentes aislados clínicos de <i>E. faecium</i> en un modelo murino de sepsis.
Metodología	
<p>Determinación de la dosis letal 100 (DL₁₀₀) y dosis letal 50 (DL₅₀) para conocer la virulencia de aislados clínicos de ERV en modelos de sepsis y neumonía utilizando ratones BALB/c</p> <p>Esta tarea se realizará en modelos de ratón de la especie CD-1 que son los más utilizados en modelos de infección sistémica por <i>E. faecium</i> resistentes a vancomicina para estudiar compuestos con actividad antimicrobiana (Ref Antimicrob Agents Chemother. 2021 Aug 17;65(9):e0070921. doi: 10.1128/AAC.00709-21; Front Microbiol. 2020 Aug 4;11:1556. doi: 10.3389/fmicb.2020.01556).</p> <p>Para este objetivo, se utilizarán grupos de 5 ratones que serán infectados con dosis crecientes de cada uno de los aislados clínicos seleccionados procedentes de la colección de cepas del Centro Nacional de Microbiología.</p> <p>Se probarán inóculos bacterianos desde 10 ufc/ratón hasta 10⁷ ufc/ratón diluidos en solución salina o buffer fosfato que se administrarán por vía intraperitoneal. Los animales serán observados durante 7 días, y se tomará 6 µl de sangre de la vena de la cola del animal de forma diaria para conocer el nivel de bacteria a nivel sistémico.</p> <p>Aquellos animales que presenten signos severos de infección serán sacrificados de forma humanitaria y se anotará la fecha de eutanasia.</p> <p>Se tomarán muestras del pulmón para conocer si la bacteria también afectó el tracto respiratorio.</p> <p>También se realizará una cinética de infección en las primeras 24 h de infección para conocer cuál es el tiempo mínimo en el que la bacteria inoculada por vía intraperitoneal, pasa a circulación sanguínea. Esta determinación es fundamental para conocer en qué momento se puede comenzar el tratamiento con el enzibiótico y los antimicrobianos. En el caso de neumococo, nuestra experiencia es que en cuestión de 30 min o 1 h es suficiente ya que la zona peritoneal está muy irrigada y la diseminación a sangre es muy rápida (J Antimicrob Chemother. 2001 Oct;48(4):594-5. doi: 10.1093/jac/48.4.594; Clin Exp Immunol. 2002 Jun;128(3):411-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.2002.01860.x)</p> <p>Para los experimentos de protección con enzibióticos, se elegirá el aislado clínico que presente una menor DL₁₀₀.</p>	
Entregable (indicador de seguimiento)	
Se realizarán determinaciones de al menos 5 aislados clínicos diferentes en grupos de 5 ratones y se probará el rango infectivo de 10 ufc/ratón a 10 ⁷ ufc/ratón para conocer las dosis letales de cada cepa	
Tarea 3.2 Ensayos de eficacia del enzibiótico en ratones	
Responsable	ISCIII
Objetivo	Determinar la actividad protectora frente a la sepsis utilizando enzibióticos parentales con gran variedad de dominios de actividad, con actividad antimicrobiana y antibiofilm frente a enterococos y activos en distintos fluidos humanos
Metodología	
<p>Caracterización de la Mínima Dosis Protectora 100 (MDP₁₀₀) de cada uno de los compuestos antimicrobianos a probar frente a sepsis en cepas ERV que sean letales.</p> <p>Esta tarea se realizará en modelos de ratón de la especie CD-1 previamente infectados por vía intraperitoneal con <i>E. faecium</i> siguiendo protocolos publicados con anterioridad en los que el Dr. Yuste tiene amplia experiencia (Antimicrob Agents Chemother. 2002 May;46(5):1340-4. doi: 10.1128/AAC.46.5.1340-1344.2002; Antimicrob Agents Chemother. 2002 Dec;46(12):4043-4. doi: 10.1128/AAC.46.12.4043-4044.2002; J Antimicrob Chemother. 2001 Oct;48(4):594-5. doi: 10.1093/jac/48.4.59; PLoS One. 2010 Aug 10;5(8):e12041. doi: 10.1371/journal.pone.0012041)</p>	

Para este objetivo, se utilizarán grupos de 5 ratones que serán infectados con la MDL₁₀₀ por vía intraperitoneal. Los compuestos con actividad antimicrobiana se administrarán por vía subcutánea al menos 1 h tras la infección. El tiempo exacto de administración del enzibiótico dependerá de los resultados obtenidos en el apartado anterior cuando se conozca la cinética de infección de la cepa infectiva seleccionada. Se probarán al menos 3 concentraciones diferentes de cada enzibiótico para conocer la MDP₁₀₀.

Se utilizará la vía subcutánea para administrar los enzibióticos en lugar de la vía intraperitoneal que es la usada para infectar con la bacteria para evitar que el posible efecto antimicrobiano que podamos ver sea por actividad directa del antimicrobiano sobre la bacteria que aún sigue en la cavidad peritoneal, y por tanto, en el sitio de inyección (acción local) y así demostrar que si se observa efecto sinérgico es porque está mostrando actividad bactericida a nivel sistémico y no a nivel local.

Entregable (indicador de seguimiento)

Se realizarán determinaciones de al menos 3 dosis diferentes de cada compuesto que tenga actividad *in vitro*, en grupos de 5 ratones para conocer la MDP₁₀₀

Tarea 3.3 Ensayos de eficacia de enzibióticos recombinantes en ratones

Responsable | ISCIII

Objetivo | Reproducir los ensayos realizados con el enzibiótico parental, en este caso sobre los enzibióticos generados por recombinación de dominios.

Metodología

Caracterización de la Mínima Dosis Protectora 100 (MDP₁₀₀) de cada uno de los compuestos antimicrobianos generados por recombinación de dominios, frente a sepsis en cepas ERV que sean letales. Se utilizará el mismo enfoque con este tipo de compuestos que en la tarea 3.2. El objetivo será determinar la MDP₁₀₀ de cada enzibiótico generado por recombinación de dominios y así demostrar que es un compuesto antimicrobiano con potencial terapéutico.

Entregable (indicador de seguimiento)

Se realizarán determinaciones de al menos 3 dosis diferentes de cada compuesto que tenga actividad *in vitro*, en grupos de 5 ratones para conocer la MDP₁₀₀

Tarea 3.4 Ensayos combinados con fármacos actualmente en uso

Responsable | ISCIII

Objetivo | Reproducir los ensayos realizados con el enzibiótico aislado, incluyendo en esta ocasión también otros fármacos

Metodología

Estudio de la actividad sinérgica obtenida por la combinación de los distintos antimicrobianos frente a sepsis por ERV. Para esta tarea, habrá que determinar en primer lugar la MDP₁₀₀ de los antibióticos u otros fármacos con actividad antimicrobiana que hayan mostrado efecto aditivo o sinérgico con los enzibióticos seleccionados. Esta parte del estudio será similar a la explicada en el apartado 3.2.

Para determinar el efecto sinérgico, se utilizarán grupos de 5 ratones que serán infectados con la MDL₁₀₀ por vía intraperitoneal. Los enzibióticos y los compuestos antimicrobianos que hayan mostrado efecto aditivo y sinérgico en los ensayos *in vitro*, se administrarán por vía subcutánea al menos 1 h tras la infección. El tiempo exacto de administración del enzibiótico dependerá de los resultados obtenidos en el apartado 3.1 cuando se conozca la cinética de infección de la cepa infectiva seleccionada. Se probarán concentraciones subterapéuticas de cada enzibiótico y subterapéuticas de cada antibiótico o compuesto antimicrobiano para conocer si la combinación del enzibiótico y el compuesto antimicrobiano a niveles no protectores por sí mismos, es capaz de generar una respuesta que sí es 100% protectora.

Entregable (indicador de seguimiento)

Se realizarán determinaciones de dosis subterapéuticas de cada compuesto (enzibiótico y antibiótico o compuesto con actividad antimicrobiana) de las dosis obtenidas en los apartados 3.2 y 3.3 en grupos de 5 ratones para conocer la MDP₁₀₀ de la combinación

C.1.1. Subcontrataciones

Ninguna de las entidades participantes subcontratará servicios.

C.1.2. Indicadores

Entregable		Responsable
1	Colección de un máximo de 100 cepas de <i>Enterococcus faecium</i>	TELUM
2	Tres genotecas aisladas de tres muestras ambientales (aguas residuales, aguas residuales de hospitales y cerdos). Colección de un máximo de 50 fagos purificados. Colección de más de 100 enzibióticos naturales con potencial efecto antimicrobiano frente a <i>E. faecium</i> . Colección de al menos 10 dominios de actividad enzimática y 10 dominios de unión a peptidoglicano diferentes.	TELUM
3	Proteínas purificadas por cromatografía de afinidad.	TELUM
4	Distintas librerías de proteínas clonadas en el vector de expresión pTTE _x . Miles de proteínas quimeras activas frente a <i>E. faecium</i> .	TELUM
5	Un biofilm de <i>E. faecium</i> E1162 sobre placas multipocillo de poliestireno y placas con fondo de vidrio. Un biofilm individual al menos con 3 aislados clínicos de <i>E. faecium</i> vancomicina resistentes sobre placas multipocillo de poliestireno y vidrio	UCM
6	Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando los enzibióticos desarrollados y seleccionados.	UCM
7	Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando enzibióticos recombinantes.	UCM
8	Efectos en el desarrollo del biofilm y su posible erradicación empleando enzibióticos y tigeciclina	UCM
9	Se realizarán determinaciones de al menos 5 aislados clínicos diferentes en grupos de 5 ratones y se probará el rango infectivo de 10 ufc/ratón a 10 ⁷ ufc/ratón para conocer las dosis letales de cada cepa	ISCIII
10	Se realizarán determinaciones de al menos 3 dosis diferentes de cada compuesto que tenga actividad <i>in vitro</i> , en grupos de 5 ratones para conocer la MDP ₁₀₀	ISCIII

11	Se realizarán determinaciones de al menos 3 dosis diferentes de cada compuesto que tenga actividad <i>in vitro</i> , en grupos de 5 ratones para conocer la MDP ₁₀₀	ISCIII
12	Dosis subterapéuticas de cada compuesto	ISCIII

C.2. Riesgos tecnológicos

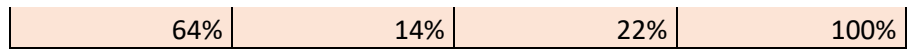
- **Variedad y/o cantidad insuficiente de las endolisinas** secuenciadas a partir de las muestras ambientales. El riesgo de que ocurra es bajo, porque las muestras para la secuenciación del metagenoma viral se tomarán de 3 ambientes distintos y muy proclives a la existencia de *Enterococcus* y sus bacteriófagos correspondientes: hospitales, depuradoras y granjas. Plan de contingencia: Además de la secuenciación masiva (técnica independiente de cultivo), se aplicarán también técnicas dependientes de cultivo, con el fin de garantizar la identificación de al menos una proteína lítica con potencial antimicrobiano. Si aun así, en las muestras ambientales no hay supuestos nuevos enzibióticos contra enterococos, entonces la búsqueda se realizará utilizando metagenomas virales ya disponibles en bases de datos (preferiblemente relacionadas con hospitales o animales de granja). Para lograr esto, se puede ejecutar el software Prodigal para identificar genes que codifican proteínas de genomas de fagos no cultivados.
- **Inactivación de la endolisina en contacto con fluidos humanos.** La probabilidad de esta incidencia es alta porque las condiciones del tracto digestivo, del suero y de la orina no son las idóneas para que las proteínas se mantengan en su conformación estructural original y activa. Pese a ello, los ensayos *in vitro* para seleccionar los enzibióticos más activos, se realizarán con un gran número de candidatos frente a fluidos humanos. Si ninguno de los candidatos fuese activo en fluidos humanos, pero sí en medio o en buffer, entonces, esas proteínas más activas, se fusionarían a un péptido de unión a la albúmina, ya que esto favorece la estabilidad y difusión de la proteína en suero humano.
- **Imposibilidad de formación de biofilms por parte de las bacterias seleccionadas.** La capacidad de formación de biofilm de una bacteria depende múltiples factores tanto genotípicos como fenotípicos. En este proyecto se van a realizar biofilms de aislados clínicos resistentes o multiresistentes y cabe la posibilidad de obtener biofilms poco robustos para realizar los ensayos de prevención y tratamiento con el enzibiótico correspondiente, por ser bacterias resistentes. Como plan de contingencia se pondrá a punto un sistema de biofilm con una cepa de *E. faecium* cuya capacidad de formación de biofilm ya haya sido descrita independientemente del sistema utilizado para su estudio.
- **Ausencia de virulencia en ratones de las cepas empleadas.** Si las cepas seleccionadas no provocan enfermedad en el modelo animal a emplear, no se podrá evaluar el efecto terapéutico del enzibiótico. Plan de contingencia: recurrir a cepas estándar usadas comercialmente

C.3. Presupuesto

	TELUM	UCM	ISCIII	
Personal	310.129 €	92.550 €	146.000 €	548.679 €
Materiales	279.800 €	40.000 €	64.000 €	383.800 €
Colaboraciones	- €	- €	- €	- €
Viajes	21.600 €	2.000 €	4.000 €	27.600 €
Auditoría	3.600 €	3.600 €	3.600 €	10.800 €
Gestión proyecto	20.000 €			
Costes indirectos	63.513 €	13.210 €	19.260 €	95.983 €
TOTAL	698.642 €	151.360 €	236.860 €	1.086.862 €



ANTI-ERV



D. DESCRIPCIÓN DEL CONSORCIO

D.1. Composición del consorcio

D.1.1. TELUM

TELUM THERAPEUTICS es una empresa de investigación en el área de la biotecnología fundada en noviembre de 2019 a partir de una línea de investigación de la empresa IKAN BIOTECH. La idea de negocio consiste en buscar y desarrollar productos terapéuticos como agentes líticos directos que representan un cambio de paradigma en el enfoque para el tratamiento de infecciones bacterianas, incluidas las causadas por agentes patógenos resistentes a los medicamentos. Por ello, el proyecto global de TELUM THERAPEUTICS trata de ser una solución a la problemática actual y futura que se presenta a nivel mundial con el escaso arsenal de antibióticos con los que contamos para eliminar y proteger frente a infecciones provocadas por patógenos resistentes.

La resistencia a los medicamentos ocurre cuando los microbios, como las bacterias y los virus, cambian de manera que les permite crecer a pesar del tratamiento con antibióticos y antivirales. El uso excesivo de antibióticos ha contribuido a un aumento dramático en la prevalencia de bacterias resistentes a los medicamentos, que requieren cursos de tratamiento más largos y costosos y están asociados con una morbilidad y mortalidad sustanciales.

Por ello, la propuesta de TELUM THERAPEUTICS trata de ser una vía de desarrollo inicial que permita a empresas farmacéuticas especializadas del sector, licenciar y llevar a mercado esta nueva tecnología.

Con esta idea TELUM THERAPEUTICS afronta su consolidación en el **sector biotecnológico** gracias al desarrollo y descubrimiento de nuevas alternativas a los antibióticos.

NOMBRE	RESUMEN CV
Roberto Díez	Doctor en Bioquímica, biología molecular y biomedicina. Executive MBA. CEO de la empresa. Experiencia de más de 14 años en la dirección y gestión de equipos, en los últimos 5 años ha sido director de otra empresa biotecnológica, Ikan Biotech. Papel en el proyecto: coordinador
Diana Gutiérrez Fernández	Doctora en Biología Funcional y Molecular. MSc Food Biotechnology. Jefa del Área de bioinformática de la empresa. Experiencia de más de 14 años en el desarrollo de compuestos antimicrobianos y antibiofilm basados en bacteriófagos y proteínas fágicas. Experiencia en manejo de Softwares bioinformáticos para el análisis de genomas y metagenomas. Papel en el proyecto: coordinadora
Irene de Miguel	Doctora en Química Orgánica (garantía de calidad). Experiencia de más de 10 años en el área de desarrollo de pequeñas moléculas así como su control bajo los más altos estándares de calidad. Papel en el proyecto: Dirección, control y gestión del cumplimiento tanto interno como externo de las normativas específicas de las agencias reguladoras de medicamentos. Trabaja en paralelo con la directora científica para analizar todos los procesos y evaluar cualquier desvío que se pueda producir para aplicar medidas correctivas en los procesos y no presentar desviaciones. Participa en todas las tareas.
Paula Gimenez	Doctora en Bioquímica (investigador junior). Experiencia en purificación y producción de proteínas así como pre-formulaciones. Cuenta con más de 5 años de experiencia en el campo de las proteínas con altos conocimientos en cristalización, modelados, etc. Papel en el proyecto: postdoc de laboratorio
Leticia Arroyo	Ingeniero Forestal, MsC en Sistemas y Productos Forestales. Research assistant en la empresa. Experiencia de más de 4 años en laboratorio de microbiología (bacteriología, biología de bacteriófagos, y biología molecular). Y Experiencia de más de 10 años en manejo de bases de datos, como por ejemplo SQL. Papel en el proyecto: personal técnico

Ester Murube Torcida	Doctora en ingeniería química Ambiental y Bioalimentaria. Puesto en la empresa Investigadora Postdoctoral en el Departamento de bioinformática. Experiencia de más de 6 años en el estudio genómico de caracteres fenotípicos importantes para la mejora genética aplicando para ello herramientas bioinformáticas basadas en lenguaje de programación, Python y entornos R, así como sistemas operativos Unix. Funciones en el proyecto: Desarrollo de pipelines bioinformáticos enfocados al descubrimiento de regiones genómicas de interés y genes codificantes para proteínas con potencial aplicación como fármacos sintéticos antimicrobianos partir de datos ómicos obtenidos en laboratorio.
Incorporación 1	Técnico FP con experiencia en el uso de bacterias, es decir, experiencia en métodos microbiológicos. Esta persona hará las labores de técnico de laboratorio, llevando a cabo ensayos con material genético (ADN, ARN), técnicas cromatográficas en agarosa y poliacrilamida, espectrofotometría, microscopía electrónica y óptica, cultivos celulares, identificación bioquímica, identificación fenotípica, diseño y optimización de protocolos, análisis de resultados y generación de informes, siempre bajo la supervisión de los doctores del grupo. Las actividades consistirán en labores de apoyo al diseño y purificación del enzibiótico, la aplicación de protocolos para el estudio de eficacia de las enzimas frente a diferentes al patógeno de estudio, Enterococcus vancomycin resistente.
Incorporación 2	Doctora en Biotecnología (investigador junior). Aplicación de protocolos para el estudio de eficacia de las enzimas, con alta experiencia en biología. Molecular y técnicas de PCR. Las actividades consistirán en labores de optimización de la actividad del enzibiótico y la aplicación de protocolos para este fin.

Recursos materiales e instalaciones

TELUM THERAPEUTICS cuenta con unas instalaciones productivas situadas en el Centro Europeo de Empresas e Innovación de Navarra S.L. (CEIN) perteneciente Departamento de Economía, Hacienda, Industria y Empleo del Gobierno de Navarra. Consta de dos laboratorios diferenciados. El primero de ellos, se dedica en exclusividad al manejo de muestras ambientales, aislamiento y enriquecimiento de bacteriófagos y extracción de genomas y metagenomas virales. El segundo laboratorio es el laboratorio de biología molecular e ingeniería y purificación de proteínas, en el que se lleva a cabo los procesos de clonación, ensamblaje, purificación y caracterización de la actividad antimicrobiana de las proteínas. Entre los equipos a disposición de la empresa, cabe destacar: ultracongelador, congelador, estufas, agitadores, espectrofotómetro, cabinas de flujo laminar tipo II, equipos de PCR, Äkta, incubadores termostatzados, centrífugas, Equipos Bioteck (Biospa robotizado, LionHeart, Synergy), Biomek 400, autoclaves y equipos pequeños de manejo de líquidos, entre otros.

Además, cuenta con espacio de oficinas en donde se realiza todo el análisis bioinformático utilizando como software de soporte y análisis el programa Geneious PRIME y dos ordenadores Lenovo ThinkPad P15 Gen 2.

Últimos desarrollos tecnológicos

Año	Proyecto
2020-2021	Título: APEXp™ (Advanced Phage Enzybiotics from eXploration platform) Organismo financiador: Telum Therapeutics
2018-2019	Título: Nuevas herramientas antimicrobianas alternativas al uso de antibióticos en el sector avícola Organismo financiador: Gobierno de Navarra Socios: Grupo AN

2019-2020	Título: Mejora de la biodisponibilidad de enzimas que puedan ser usadas como nuevos antibióticos frente a infecciones humanas intestinales provocadas por <i>E. coli</i> Organismo financiador: Gobierno de Navarra Socios: NUCAPS
2020-2022	Título: Nueva terapia fágica frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y entorobacterias multirresistentes a antibióticos Organismo financiador: Gobierno de Navarra
2020-2022	Título: Nueva terapia fágica frente a infecciones de <i>E. coli</i> en humanos Organismo financiador: Gobierno de Navarra Socios: Universidad de Navarra

D.1.2. UCM

Presentación de la entidad

El laboratorio de biofilms bacterianos: prevención y erradicación. Esta liderado por la Dra. Miriam Domenech, que tiene una trayectoria de más de 10 años dedicada a la caracterización de biofilms bacterianos (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophylus influenzae* no tipificable, *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a meticilina, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*), especialmente patógenosh. Además, ha realizado distintos estudios con diferentes antimicrobianos: antibióticos, esteres de aminas biclicicas, antioxidantes, mucoliticos y enzibioticos, para la prevención y erradicación de biofilms mono-especificos y mixtos de bacterias respiratorias patógenas. Por otro lado, desarrolla su labor como docente en la Unidad de Microbiología del Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid.

Equipo

NOMBRE	RESUMEN CV
Miriam Domenech Lucas	Doctora en Biología. Actualmente, profesora e investigadora en la Unidad Docente Microbiología en el Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología de la UCM. Papel en el proyecto: Dirigir, diseñar y realizar la experimentación de los ensayos y puesta a punto del biofilm de ERV. Diseño de los ensayos de inhibición y de disgregación de los biofilm de ERV con los enzibióticos desarrollados y combinaciones de estos. Análisis y discusión de todos los resultados obtenidos. Elaboración de informes y estrategias de abordaje para el correcto desarrollo del proyecto.
Contratado, titulado superior	Licenciad@ en Biología, Bioquímica o Farmacia. Máster en Microbiología o relacionados. Papel en el proyecto: Llevar a cabo toda la parte experimental de puesta a punto de los biofilms de ERV y su prevención y erradicación con los enzibióticos desarrollados.

Recursos materiales e instalaciones

En el laboratorio de biofilms bacterianos: prevención y erradicación de la UCM contamos con el equipamiento básico para desarrollar las técnicas necesarias para el correcto desarrollo del proyecto. [Ampliar información](#)

Últimos desarrollos tecnológicos

Año	Proyecto
-----	----------

2016	Study of various compounds for the treatment of mixed biofilms formed by respiratory pathogens such as <i>Streptococcus pneumoniae</i> and nontypeable <i>Haemophilus influenzae</i> CIBERES. INVESTIGACION Y PROYECTOS MICROBIOLÓGICOS SL.
2021	Anti-biofilm therapy of respiratory pathogens. Tedec Meiji Farma, S.A..

D.1.3. ISCIII

Presentación del socio

La Unidad de Neumococos se encarga de dos aspectos muy importantes relacionados con las infecciones por neumococo como son la vigilancia epidemiológica y la investigación básica y traslacional de las enfermedades producidas por este patógeno.

Nuestra unidad de vigilancia epidemiológica contribuye a la vigilancia epidemiológica de la ENI, caracterizando los serotipos y genotipos de neumococos invasivos que circulan en España. El serotipado se realiza mediante la técnica de Dot-blot y PCR-secuenciación. El genotipado para el estudio de brotes y caracterización de clones asociados a cepas hipervirulentas y/o multirresistentes, se realiza mediante la técnica de MLST. Además, se determina la susceptibilidad antibiótica siguiendo los criterios EUCAST. Nuestra unidad pertenece a la red IBD-labnet del ECDC y notifica anualmente todos los casos de ENI al ECDC.

La unidad de investigación básica y traslacional se encarga de estudiar y caracterizar diferentes mecanismos moleculares de patogenicidad y protección relacionados con la infección neumocócica. Entre los principales objetivos destacan la caracterización molecular de factores de virulencia, el estudio de diferentes proteínas candidatas a vacunas y determinar el posible impacto que tiene el humo de tabaco y la formación de biofilms en la colonización del tracto respiratorio.

Equipo

NOMBRE	RESUMEN CV
Jose Enrique Yuste Lobo	<p>Titulación: Doctor en Farmacia (año 2002)</p> <p>Experiencia previa: El doctor José Yuste realizó su tesis doctoral desde el año 1999 hasta el año 2002 en el laboratorio de neumococos del Centro Nacional de Microbiología (CNM) perteneciente al Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). La tesis fue galardonada con premio de Doctorado. Durante el trabajo de Tesis Doctoral se identificó la existencia de un sinergismo entre antibióticos y anticuerpos frente a la infección neumocócica invasiva. Durante este periodo se publicaron 7 artículos científicos en revistas internacionales. Posteriormente se trasladó al Centro de Microbiología Molecular e Infección de Imperial College en Londres donde trabajó como Research Associate contratado hasta Julio de 2003. Su etapa investigadora en Londres continuó durante algo más de 4 años más (desde Agosto de 2003 hasta Septiembre de 2007) como Research Fellow en el Centro de Investigación Respiratoria de University College de Londres. Durante su periodo en Londres trabajó en mecanismos moleculares de patogenicidad de <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> así como diversos mecanismos de defensa del hospedador frente a las infecciones causadas por estos patógenos. Como consecuencia de sus diversos hallazgos fue galardonado con el premio de mejor científico joven del año 2006 por la sociedad británica de investigación pulmonar. Durante el periodo posdoctoral realizado en Reino Unido, se publicaron 11 artículos científicos en revistas internacionales siendo en uno de ellos, el autor de correspondencia. Tras estos casi 5 años de etapa posdoctoral en Reino Unido se</p>

	<p>trasladó al Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC con un contrato de investigador senior financiado por el CIBER de enfermedades respiratorias desarrollando su labor profesional desde Septiembre de 2007 hasta Julio de 2010. Durante este periodo se obtuvieron 4 publicaciones científicas. Su aportación científica se basó en la caracterización molecular de diferentes hidrolasas de pared celular de neumococo en patogénesis. En Agosto de 2010 se incorporó como científico titular de OPI al CNM del ISCIII liderando el grupo de patogénesis molecular dentro del laboratorio de referencia de neumococos (LRN). Desde el año 2018 es el responsable científico del LRN. Actualmente forma parte de la red europea para la vigilancia epidemiológica de las infecciones bacterianas invasivas (IBD-labnet) coordinada por el Prof. Matthias Frosch y financiada por Centro Europeo para el Control de las Enfermedades (ECDC). Como parte de sus obligaciones profesionales dentro del laboratorio de neumococos, se encarga de la epidemiología molecular de aislados invasivos emergentes así como de acudir anualmente a las reuniones europeas del ECDC como representante español para todos aquellos aspectos relacionados con la infección neumocócica invasiva.</p> <p>Papel en el proyecto: Desarrollar la caracterización de la actividad in vivo de los compuestos antimicrobianos que se generen de forma individual y en combinaciones para estudiar efectos sinérgicos. Se realizarán modelos de sepsis en ratón.</p>
<p>Contratado Titulado Superior</p>	<p>Titulación: Titulación en ciencias biomédicas o de la Salud</p> <p>Experiencia previa: Trabajo Fin de Máster y experiencia en procedimientos científicos con animales de experimentación. Homologación categoría B y C será recomendable</p> <p>Papel en el proyecto: Participará en la realización de los modelos animales para caracterizar los compuestos antimicrobianos</p>
<p>Técnico de laboratorio</p>	<p>Titulación: Titulación como formación profesional tipo II</p> <p>Experiencia previa: Experiencia en microbiología general, cultivos bacterianos, determinación de antibiogramas,</p> <p>Papel en el proyecto: Participará en la preparación de los cultivos de neumococo para su inoculación en modelos animales y ayudará en la manipulación de las muestras procedentes de animales para determinar los niveles de bacteria en sangre</p>

Recursos materiales e instalaciones

El Centro Nacional de Microbiología dispone de un animalario en el que se pueden desarrollar infecciones con patógenos de nivel tipo II y que se utilizará para los modelos de infección de este proyecto. Este animalario, cuenta además con un sistema IVIS para poder monitorizar infecciones con bacterias bioluminiscentes.

Actualmente, el Dr. Yuste dispone de la autorización necesaria para realizar este tipo de procedimientos experimentales. Concretamente disponemos del PROEX 063.1/21 que nos faculta para poder realizar modelos de sepsis en ratones para probar compuestos con actividad antimicrobiana. Este certificado está expedido por la Dirección General de Agricultura, Ganadería y Alimentación de la Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio y Sostenibilidad de la Comunidad Autónoma de Madrid con fecha 12-02-2021.

También se dispone de una unidad de citometría de flujo, una unidad de microscopía confocal y otra unidad de histología, que podrán utilizarse para analizar poblaciones celulares de ratones infectados y tratados con los compuestos antimicrobianos.

Últimos desarrollos tecnológicos

Año	Proyecto
2013-2016	Título del proyecto: Pneumococcal colonization and carrier state. Molecular basis, prophylaxis and therapeutic measures. IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia Financiadora: Plan Nacional. Ministerio de Ciencia e Innovación. Financiación (en euros): 97,110. Duración: 2013–2016. Expediente contrato/proyecto: SAF2012-39444-C02.
2018-2021	Título del proyecto: Mecanismos de patogenicidad y protección en bacterias Gram-positivas causantes de enfermedad respiratoria y bacteriemia. IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia financiadora: Plan Nacional. MINECO. Financiación (en euros): 145,200. Duración (periodo de financiación): 2018–2021. Expediente contrato/proyecto: SAF2017-83388-R / MPY299/18
2021-2023	Título del proyecto: Mecanismos de virulencia de serotipos de neumococo emergentes. IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia financiadora. Ministerio de Ciencia e Innovación. Proyectos I+D+i. Financiación (en euros): 121,000. Duración (periodo de financiación): 2021–2023. Expediente contrato/proyecto: PID2020-119298RB-I00
2021-Actualidad	Título del proyecto: CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES). IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia financiadora. Instituto de Salud Carlos III Financiación (en euros): 49,000/año. Duración (periodo de financiación): 2021–actualidad. https://www.ciberes.org/grupos/grupo-de-investigacion?id=18143
2018-2020	Título del proyecto: Impact of clinical isolates of serotypes 22F and 33F in the epidemiology and pathogenesis of S. pneumoniae. IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia financiadora: MISP Call USA. Financiación (en dólares USA): 176,145. Duración (periodo de financiación): 2018–2020. Expediente contrato/proyecto: MISP#57320 / MVE 213/18
2020-2022	Título del proyecto: Caracterización de la sensibilidad antibiótica a cefditoren de aislados clínicos de Streptococcus pneumoniae resistentes a penicilina. IP: José Enrique Yuste Lobo. Agencia financiadora: Meiji Pharma Spain. Financiación (en euros): 76,517. Duración (periodo de financiación): 2020–2022. Expediente contrato/proyecto: MVP 119/20.
2020-2024	Título del proyecto: Efectividad de la vacuna antineumocócica conjugada 13-valente (PCV13) frente a la hospitalización por neumonía adquirida en la comunidad en adultos de 60 años o mayores, mediante un estudio de casos y controles modificado (test negativo) en un área bien definida del sur de la Comunidad de Madrid Estudio CIBELES. IP: José Enrique Yuste Lobo, Juan Emilio Losa, Juan Hinojosa. Agencia financiadora: Pfizer S.L.U. Financiación (en euros): 168,000. Duración (periodo de financiación): 2020–2024. Expediente contrato/proyecto: Código Pfizer: B1851202; Código AEMPS: PFI-VAC-2020-01
2014-2021	Título del Proyecto: Laboratory surveillance and external quality assurance (EQA) of invasive bacterial diseases in EU (IBD-labnet). IP: Matthias Frosch (coordinador). Agencia financiadora: ECDC. Duración: 2014–Actualidad Expediente contrato/proyecto: OJ/S S39. 39-052740.

D.2. Coordinador del proyecto

El Director de TELUM THERAPEUTICS (Roberto Díez) actuará como coordinador técnico del proyecto.

Es Doctor en Bioquímica, biología molecular y biomedicina, y Executive MBA. Tiene una experiencia de más de 14 años en la dirección y gestión de equipos, en los últimos 5 años ha sido director de otra



ANTI-ERV



empresa biotecnológica, Ikan Biotech, a partir de cuyo departamento de microbiología surgió IKAN. Desde los inicios de su carrera investigadora durante la tesis doctoral en el CSIC, ya comenzó a especializarse en el desarrollo de enzibióticos y terapias fágicas. Su estancia investigadora en Rockefeller University fue el origen de una fructífera relación profesional con el grupo de Chad Euler. 14 publicaciones científicas y 3 patentes avalan su trayectoria en el área de antimicrobianos. En cuanto a su trayectoria como empresario, ha sido galardonado como Mejor Emprendedor de Navarra (2018) y Mejor idea innovadora (2017) en su fase como director de IKAN.

D.3. Complementariedad del consorcio

E. IMPACTO ESPERADO

E.1. Descripción del impacto esperado

E.2. Planes de difusión

E.3. Planes de acceso abierto

Dado que los resultados del proyecto se protegerán mediante patente de producto como de procedimiento, no se prevé publicar resultados en acceso abierto.

E.4. Otros impactos

Dimensión de género

TELUM apuesta por la conciliación de la vida personal, familiar y laboral que permita la posibilidad de equilibrar los distintos ámbitos de la vida de las personas; de forma que se protejan y garanticen los derechos individuales, se aporte al logro de una vida más plena y se impacte de forma positiva la calidad de vida de las personas, sus familias y con ello, la sociedad donde opera, están dentro del ADN de Telum Therapeutics.

Es por ello que en Telum, está acreditado por la Fundación Más Familia como “Empresa Familiarmente Responsable”. Y para ello, cuento con un catálogo de servicios de apoyo a la conciliación que Telum Therapeutics ofrece a sus empleados/as con el objetivo de hacer más compatible y equilibrada su vida personal, familiar y laboral; en un marco de sostenibilidad y competitividad necesario para la propia entidad, favoreciendo la igualdad de género y evitando cualquier tipo de discriminación.

La UCM es la coordinadora del proyecto SUPERA Supporting the Promotion of Equality in Research and Academia, cuyo objetivo principal es implementar 6 Planes de Igualdad de Género de pleno derecho para articular una comprensión estructural de las desigualdades de género, los estereotipos y los sesgos en la investigación como una cuestión transversal a abordar en sus complejas y múltiples dimensiones y la inclusión de una perspectiva de género en la investigación y el mundo académico, con un conjunto holístico de medidas que aborden los objetivos de la estrategia de la Comisión Europea: 2) Transformar la toma de decisiones hacia la rendición de cuentas, la transparencia y la inclusión; 3) Lograr la excelencia mediante el fortalecimiento de la dimensión de género en la investigación y la transferencia de conocimientos. <https://www.ucm.es/plan-de-igualdad/>

El Instituto de Salud Carlos III acaba de lanzar su Plan Estratégico 2021-2025, una de cuyas líneas estratégicas transversales incluye el compromiso con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y la Agenda 2030 y, en concreto, con el ODS número 5, que se propone conseguir la igualdad de género. La aplicación de la perspectiva de género viene determinada, además, por las leyes españolas de Igualdad, de Ciencia y de Salud Pública, y por diferentes acuerdos y convenios de organismos internacionales ratificados por España.

El ISCIII está comprometido con la incentivación del papel de la mujer en la ciencia, para lo cual quiere trabajar con una visión de género, estimulando la participación de las mujeres en los equipos de investigación y en sus puestos de liderazgo, y promoviendo medidas que corrijan las trabas que para sus carreras suponen los roles socialmente destinados a las mujeres. Para acabar con las desigualdades de género, las mujeres tienen que poder participar plenamente de la planificación y toma de decisiones, en igualdad con los hombres. <https://www.isciii.es/Noticias/Noticias/Paginas/Noticias/GrupoIgualdadDíaInternacionaldeMujer2021.aspx>

Creación de empleo

En TELUM se incorporarán dos trabajadores nuevos a lo largo del proyecto, con perfil técnico: uno de formación profesional y otro con grado de doctor.

En UCM se contratará un licenciado para el proyecto, durante 30 meses.

En ISCIII se contratará un licenciado y un técnico de laboratorio para el proyecto, durante 24 meses.

E.5. Dimensión internacional

Desde TELUM existe una colaboración permanente con la Universidad de Hunter/Cornell (EEUU) para ensayos de proteínas, que llevará en un futuro próximo a la creación de un laboratorio nuevo. Dicha colaboración surgió gracias a la estancia investigadora del CEO Roberto Díez en el laboratorio de Chad Euler, que actualmente participa como CSO de la empresa. Adicionalmente, se colabora de manera efectiva con la empresa LEANBIO, con la que se realizan estudios de viabilidad.

Por su parte la UCM mantiene una colaboración con la farmacéutica Tedec Meiji en el desarrollo del uso de dos compuestos de forma individual y combinada para la prevención y erradicación de biofilms neumocócicos.

En cuanto al ISCIII, el laboratorio de Referencia de Neumococos participa en la Red IBD-LABNET del ECDC en la vigilancia epidemiológica de la enfermedad neumocócica invasiva desde el año 2014. Recientemente nos hemos incorporado a la Red Internacional IRIS (Invasive Respiratory Infections Surveillance Network) en la que se caracterizarán neumococos de todo el mundo para conocer la situación epidemiológica a nivel mundial. Este proyecto está liderado por la Prof. Angela Brueggemann de la Universidad de Oxford.

Los contactos y alianzas de los 3 socios del proyecto, especialmente por parte de TELUM, garantizan el posicionamiento del producto a desarrollar en los mercados internacionales. Sobre todo, cabe destacar la visibilidad del proyecto en EEUU, donde la problemática de resistencias a antibióticos convencionales es notable, y por tanto la salida comercial del producto tiene altas probabilidades de éxito.