



# FAGOTERAPIA: ALTERNATIVA TERAPÉUTICA ESPERANZADORA CONTRA LAS SUPERBACTERIAS

Memoria Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2024

**Autor:** Itziar Montesinos Micó

**Tutor:** Francisco Navarrete Rueda

**Modalidad:** Revisión bibliográfica

## ÍNDICE

1. RESUMEN .....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1. La resistencia a antibióticos.....	4
2.2. Mecanismos de resistencia a los antibióticos.....	5
2.3. Abordaje actual de la resistencia a los antibióticos.....	7
2.4. Nuevas líneas de investigación ante las resistencias.....	9
2.5. Potencial terapéutico de la fagoterapia en la lucha contra las superbacterias .....	10
2.6. Métodos de detección de fagos .....	14
3. OBJETIVOS .....	16
4. METODOLOGÍA.....	16
5. RESULTADOS .....	18
5.1. Estado actual de la terapia con fagos .....	19
5.1.1. Terapia con fagos en trasplantes.....	20
5.1.2. Terapia con fagos en infecciones respiratorias .....	20
5.1.3. Terapia con fagos en infecciones cutáneas.....	24
5.1.4. Terapia con fagos en infecciones urinarias .....	26
5.2. Resistencia a los bacteriófagos.....	28
5.3. Desarrollo de las terapias con bacteriófagos.....	31
5.3.1. Terapia sinérgica entre antibióticos y bacteriófagos .....	31
5.3.2. Terapia de cóctel de fagos.....	34
5.3.3. Bioingeniería de fagos .....	35
6. DISCUSIÓN.....	36
7. CONCLUSIONES .....	39
8. BIBLIOGRAFÍA.....	40

## 1. RESUMEN

Debido al uso indebido y excesivo de antibióticos, en los últimos años la resistencia a antibióticos se ha convertido en una importante amenaza a nivel mundial para la salud pública, lo que preocupa para el tratamiento de infecciones en un futuro. Este fenómeno ha obligado a la búsqueda de nuevas estrategias para combatir infecciones bacterianas cuando estos fármacos no tengan efecto. Una alternativa que ha surgido es el uso de bacteriófagos, virus capaces de infectar y matar bacterias de forma natural. La fagoterapia o terapia con bacteriófagos se presenta como una opción eficaz y selectiva para tratar infecciones bacterianas multirresistentes, ya que estos virus suelen atacar solo bacterias específicas, minimizando así el daño a células humanas.

La presente revisión bibliográfica se ha basado en estudios de la base de datos de Medline utilizando PubMed. En estos estudios son varios los que demuestran que la fagoterapia presenta éxito al revertir infecciones bacterianas cuando se utiliza sola. Sin embargo, al igual que ocurre con los antibióticos, se ha evidenciado que el riesgo de que las bacterias desarrollen resistencia a los fagos también está presente. Con el fin de hacer frente a este riesgo, se está explorando el uso de fagos en combinación con antibióticos, así como el uso de fagos en combinación, lo conocido como cóctel de fagos, lo que podría ofrecer un enfoque más robusto para el tratamiento de infecciones difíciles.

Además de su potencial como terapia directa, los fagos también están siendo utilizados en bioingeniería genética. Gracias a su capacidad para modificar el ADN bacteriano, los investigadores están explorando formas de personalizar tratamientos y desarrollar nuevas estrategias para combatir bacterias resistentes.

Estos estudios sugieren que la utilización de fagos en monoterapia presenta desventajas frente a la utilización de cóctel de fagos o combinación de fagos con antibióticos, lo cual podría ser clave para abordar la resistencia bacteriana. Es importante señalar la necesidad de más investigación para entender completamente la seguridad y eficacia de esta terapia en contextos clínicos variados.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. La resistencia a antibióticos**

Los antibióticos son medicamentos que combaten las infecciones causadas por bacterias. Un buen uso de antibióticos puede salvar vidas, curan infecciones que de lo contrario podrían ser mortales. El problema viene cuando se hace un mal uso de los antibióticos, ya que entonces las bacterias se modifican y se hacen resistentes a estos. Como consecuencia se encuentran infecciones que cada vez son más difíciles de tratar.

Alexander Fleming, en su discurso de aceptación del premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1945 ya advirtió de que, si no se usaban los antibióticos de manera adecuada, las bacterias se harían resistentes y estos dejarían de ser efectivos. La prescripción indiscriminada de antibióticos en salud humana y animal, así como el mal uso de los mismos han favorecido a lo largo de las últimas décadas la selección de bacterias resistentes a los antibióticos. Estas son especialmente preocupantes en los ámbitos clínicos porque la ineficacia de los antibióticos puede convertir cirugías menores en un riesgo mortal y puede afectar a pacientes inmunodeprimidos.

Las bacterias resistentes son capaces de propagarse entre personas y desarrollar infecciones para las que no existe tratamiento. Una bacteria desarrolla resistencia a un antibiótico cuando se produce algún cambio en ella, que puede proteger a la bacteria de la acción del medicamento o neutralizar el efecto de este. El problema es que cualquier bacteria que sobrevive a un tratamiento con antibióticos puede multiplicarse y transmitir sus propiedades de resistencia. Es un fenómeno natural y esperable que las bacterias desarrollen resistencia, pero la forma en la que se usan los antibióticos acelera esta propagación. Cada vez que se ha empleado un nuevo antibiótico para el tratamiento contra bacterias, estas se han adaptado a él, cada vez con mayor rapidez, ya que necesitan de dos a cuatro años para desarrollar un nuevo mecanismo de defensa contra los antibióticos creando así una resistencia a estos.

En 2020, más de 800 000 personas fueron infectadas en Europa por bacterias resistentes a los antibióticos, que causaron neumonías, septicemias e infecciones intrabdominales, entre otras enfermedades. Algunas infecciones que tenían cura en el pasado se han vuelto difíciles o incluso imposibles de tratar. Si la resistencia sigue aumentando, un pequeño corte, una infección leve o una intervención quirúrgica puede llegar a ser mortal. El coste estimado de la resistencia a los antimicrobianos para los sistemas sanitarios en Europa es de 1.100 millones de euros anuales<sup>1</sup>.

Para hacer frente a este problema, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda<sup>2</sup>:

- Tomar antibióticos únicamente cuando los prescriba un profesional de la salud.
- No exigir antibióticos si el profesional de la salud no los considera necesarios.
- Seguir las indicaciones del médico sobre el uso de los antibióticos.
- No utilizar los antibióticos que le hayan sobrado a otras personas.
- Lavarse las manos con regularidad.
- Preparar alimentos en condiciones higiénicas.
- Vacunarse.

Desde hace ya años existe una pandemia silenciosa que acaba con miles de personas, causada por las superbacterias: cepas de bacterias con genes de resistencia a fármacos. Una de cada cinco infecciones bacterianas resiste al tratamiento con antibióticos en la actualidad, esta resistencia es la responsable de alrededor de 79.000 muertes cada año. La resistencia a los antibióticos representa una amenaza a nivel mundial para la salud. De hecho, se espera que para 2050 la resistencia a los antibióticos provoque la muerte de 10 millones de personas en el mundo<sup>3</sup>.

## **2.2. Mecanismos de resistencia a los antibióticos**

La resistencia antibiótica puede ser natural o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano, y su aparición es previa a la

exposición al antibiótico mientras que la resistencia adquirida es variable, y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana<sup>4</sup>.

Los mecanismos por los que las bacterias desarrollan estas resistencias son variados, algunos de los principales son:

- **Impermeabilidad:** algunos antibióticos acceden al interior de las bacterias a través de las porinas que son proteínas de membrana de la bacteria que están especializadas en el transporte de sustancias al interior. Cuando las bacterias sufren ciertas modificaciones o mutaciones en los genes que codifican las porinas pueden alterar su estructura y así impedir al antibiótico acceder al interior de la bacteria o directamente disminuir su expresión.
- **Modificación enzimática del antibiótico:** las bacterias son capaces de producir una reacción enzimática capaz de inactivar el antibiótico y que pierda su efecto. Por ejemplo, los antibióticos beta-lactámicos, los cuales pueden ser inactivados al ser hidrolizados por las beta-lactamasas.
- **Expulsión del antibiótico por un mecanismo activo de bombeo:** las bombas de eflujo son proteínas de membrana presentes en las bacterias que se encargan de expulsar al exterior de la bacteria compuestos tóxicos o metabolitos. Si se produce una mutación, estas proteínas pueden identificar el antibiótico como extraño y expulsarlo, reduciendo su concentración en el interior de la bacteria.
- **Modificación de la diana o sitio de acción del antibiótico:** algunas bacterias tienen la capacidad de modificar el sitio de acción del antibiótico para ejercer su acción, esto hace que el antibiótico no tenga afinidad por el sitio al que se une, ya que este ha disminuido o directamente ha desaparecido.
- **Producción de una enzima alternativa que evita el efecto inhibitor:** al producir una enzima diferente que deja sin efecto la enzima normal de la propia bacteria. Esto ocurre en el caso de la trimetoprima, ya que las bacterias desarrollan resistencia a esta al producir una dihidrofolato-reductasa diferente<sup>5</sup>.

Entre las bacterias superresistentes están incluidas *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter* (denominadas colectivamente ESKAPE).

La resistencia a todos los antibióticos estudiados en *Escherichia coli* ha aumentado desde 2001 hasta 2020. Alrededor de una cuarta parte de las cepas aisladas de sangre presentan resistencia a tres o más familias de antibióticos.

La resistencia a cefalosporinas de 3ª generación en *Klebsiella pneumoniae* ha aumentado del 10,2% en 2010 al 30% en 2020. Este incremento se ha acompañado del aumento significativo de la resistencia a otras familias de antibióticos como fluoroquinolonas (30% de resistencia a ciprofloxacino en 2020) y aminoglucósidos (17% de resistencia a gentamicina en 2020)<sup>6</sup>.

### **2.3. Abordaje actual de la resistencia a los antibióticos**

La resistencia a los antibióticos se produce con el uso indebido y excesivo de estos fármacos, por lo que se pueden abordar diferentes medidas para frenar y reducir el impacto de este fenómeno.

En primer lugar, la población debe tomar conciencia de la importancia del correcto uso de los medicamentos y tomarlos únicamente cuando un profesional sanitario lo prescriba y seguir las indicaciones de uso. No deben usar antibióticos que hayan sobrado de otros tratamientos anteriores. Además, hay que mantener una buena higiene de manos, evitar el contacto con enfermos, adoptar medidas de protección en las relaciones sexuales y mantener las vacunaciones al día. Es importante preparar alimentos en condiciones higiénicas y elegir aquellos en cuya producción no se hayan utilizado antibióticos con el fin de estimular el crecimiento ni de prevenir enfermedades en animales sanos.

Por parte de los organizadores de políticas se pueden poner en práctica planes nacionales de acción para hacer frente a las resistencias, mejorar la vigilancia de las infecciones resistentes, reforzar las políticas, programas y aplicación de medidas de prevención y control e informar sobre el impacto de la resistencia a los antibióticos.

Los profesionales de salud deben prescribir y dispensar antibióticos solo cuando sean necesarios y notificar las infecciones resistentes a los antibióticos a los equipos de vigilancia. Sobre todo, deben informar a los pacientes de la toma correcta de los antibióticos y la importancia de terminar el tratamiento, así como concienciarlos de cómo se pueden prevenir las infecciones (vacunas, lavándose las manos, protección en las relaciones sexuales, etc.).

El Plan Nacional frente a la Resistencia de Antibióticos 2022-2024 (PRAN) es una apuesta de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) en respuesta a la creciente aparición y propagación de las infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos. El PRAN es una iniciativa “One Health” que incluye salud humana, sanidad animal y medioambiente, y está estructurada en seis líneas estratégicas<sup>7</sup>:

- Línea 1: Vigilancia del consumo de antibióticos y de la resistencia a los antibióticos.
- Línea 2: Control de la resistencia a los antibióticos
- Línea 3: Prevención de la necesidad del uso de los antibióticos
- Línea 4: Estrategia en investigación.
- Línea 5: Desarrollo de formación específica.
- Línea 6: Comunicación y sensibilización de la población.

El abordaje terapéutico empleando la combinación de antibióticos para potenciar su efecto mediante diferentes mecanismos de acción, así como antibióticos de uso restringido, es indispensable para la lucha contra las superbacterias. Los antibióticos de uso restringido son aquellos que se utilizan para el tratamiento de cuadros infecciosos determinados, están reservados cuando el tratamiento de primera elección no ha funcionado. La utilización de estos antibióticos debe estar visada por el infectólogo a través de un Protocolo de Antibióticos de Uso Restringido que rellena el médico para justificar su uso y así asegurarse de que se utilizan correctamente. Asimismo, es crucial poder emplear terapias dirigidas mediante el uso de antibiogramas que indiquen la sensibilidad específica de la bacteria(s) que esté causando una infección complicada o resistente.



#### 2.4. Nuevas líneas de investigación ante las resistencias

Hasta hace unos años, la industria farmacéutica actuaba desarrollando fármacos más caros frente a la aparición de bacterias superresistentes incrementándose así el coste de atención sanitaria y la carga económica para la sociedad.

Es necesario afrontar nuevas líneas de investigación frente a lo que parece ser la nueva pandemia silenciosa por la falta de sensibilización internacional de esta problemática. Los grupos de investigación públicos, ya concienciados del problema impulsan el desarrollo de nuevas herramientas y estrategias que exploran, con más o menos éxito<sup>8</sup>.

- **Trasplante de microbiota fecal:** la microbiota más abundante del ser humano reside en el tracto intestinal, y consta de numerosas bacterias, virus y hongos que viven en el contenido intestinal. Estos microorganismos confieren resistencia ante infecciones, así como ante procesos inflamatorios y frente al desarrollo de neoplasias o autoinmunidad. Esta terapia se basa en la introducción de una suspensión de microbiota fecal, debidamente procesada y derivada de un donante sano, que es inoculada en el tracto gastrointestinal de un individuo enfermo<sup>9</sup>.
- **Vacunación:** se han indicado beneficios significativos de la vacunación en la reducción de la carga de resistencia a los antimicrobianos para patógenos específicos. La disminución de la carga de morbilidad debida a patógenos susceptibles y resistentes debería disminuir el uso de antimicrobianos, y como consecuencia aumentar la proporción de organismos susceptibles aislados<sup>10</sup>.
- **Anticuerpos IgY:** Esta terapia se basa en la inmunización de pollos con antígenos específicos, esto permite crear anticuerpos específicos dirigidos a una amplia gama de bacterias resistentes a los antibióticos.

Los anticuerpos están dirigidos a varios antígenos del mismo microorganismo, lo que reduce la posibilidad de desarrollar resistencia a todos estos antígenos al mismo tiempo, ya que precisa de muchos genes para su síntesis. Esta aproximación puede resultar ventajosa frente a los

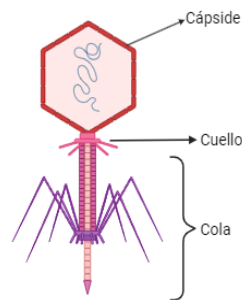
antibióticos y, además, no causa alteración de la flora del huésped porque los tratamientos se dirigen a patógenos específicos que causan enfermedades<sup>11</sup>.

- **Inhibidores de bombas de eflujo:** Una de las posibilidades para reducir la aparición y propagación de la resistencia a los antibióticos es el uso de compuestos antirresistencia capaces de resensibilizar los microorganismos resistentes a los antimicrobianos actuales. Para ello, han surgido como objetivos adecuados las bombas de eflujo de múltiples fármacos, cuya inhibición puede aumentar la susceptibilidad bacteriana a varios antibióticos<sup>12</sup>.
- **Nanotecnología:** La nanotecnología utiliza materiales y estructuras que miden de 1 a 100 nanómetros. Los nanomateriales confieren mecanismos que matan las bacterias sin usar antibióticos, los cuales pueden generar daños letales a los patógenos a través de procesos predominantemente físicos o bioquímicos. Hay nanoestructuras que toman una forma afilada a modo de cuchillas: cuando las superficies cierran a las bacterias, estas estructuras las perforan y crean poros que destruyen las células de los agentes infecciosos<sup>13</sup>.
- **Terapia con fagos:** La fagoterapia es una alternativa terapéutica prometedora frente a la resistencia a los antibióticos. Los bacteriófagos son depredadores naturales de las bacterias, estos reconocen e infectan a sus bacterias objetivo, lo cual les permite producir nuevos bacteriófagos. Al final, las bacterias estallarán y liberarán nuevos bacteriófagos en la zona, que a su vez pueden infectar a otras bacterias reiniciando el proceso<sup>14</sup>.

## **2.5. Potencial terapéutico de la fagoterapia en la lucha contra las superbacterias**

Un bacteriófago (o fago) es un virus que infecta a las bacterias. Los bacteriófagos varían mucho en su forma y material genético. El material genético está contenido dentro de una cubierta proteica o cápside como se puede observar en la figura 1, la cual está conectada a la cola a través del collar. La cola, en su

extremo más distal, está en contacto con espículas que reconocen lugares de acoplamiento en los receptores de la superficie bacteriana celular<sup>15</sup>.



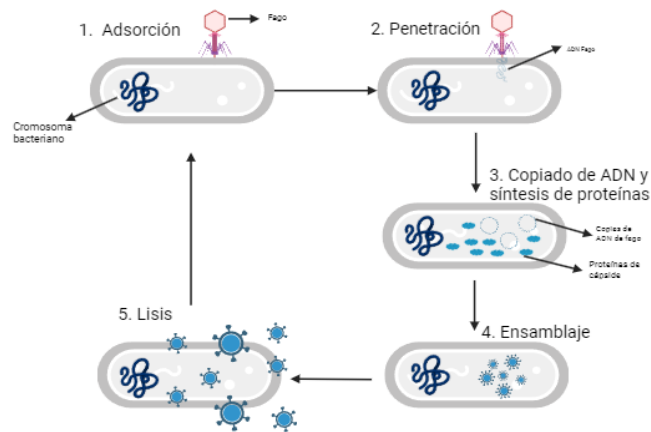
**Figura 1:** Estructura de un bacteriófago. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

El ciclo de vida de los bacteriófagos comienza con el llamado paso de “adsorción” que se basa en el acoplamiento a los receptores de la pared celular bacteriana, con el fin de que el fago pueda entrar a la bacteria. La mayoría se adsorben por la pared bacteriana, pero hay algunos que lo hacen sobre el flagelo o los pili sexuales.

Después de unirse al receptor, los fagos crean un poro en la pared celular para inyectar su material genético mientras la cápside viral permanece en el exterior.

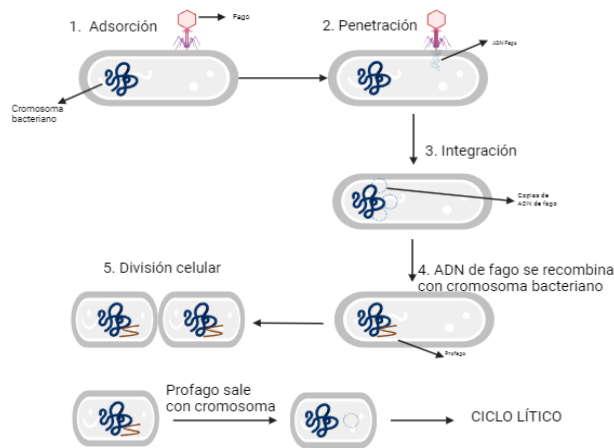
A partir de aquí, los fagos pueden actuar mediante 4 ciclos diferentes para infectar la bacteria hospedadora: lítico, lisogénico, pseudo-lisogénico e infección crónica.

- **Ciclo lítico:** Tras unirse al receptor, se produce la activación de genes fágicos de expresión rápida, lo que deriva en la reproducción de material genético y proteínas virales. Después, se puede observar un proceso de empaquetado de fagos. Finalmente, enzimas tardías de los fagos se emplean para la liberación de viriones hacia el entorno extracelular, que ocurre tras la lisis de la bacteria [Figura 2].



**Figura 2:** Ciclo lítico de un bacteriófago. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

- **Ciclo lisogénico:** En este ciclo, después de que el fago se una al receptor de la bacteria, integra su contenido en forma de profago endógeno, y permanece dentro del ADN de la bacteria por largos períodos. El profago se transmite en cada división celular, y los factores ambientales pueden estresar la bacteria e inducir la evolución del fago hacia un ciclo lítico. Por lo tanto, esto provoca que los fagos lisogénicos no sean aptos para la terapia fágica convencional, sin embargo, este proceso puede ser utilizado de manera terapéutica usando los fagos para la transferencia de genes de forma que provoquen que las bacterias sean más sensibles a determinados antibióticos [Figura 3].



**Figura 3:** Ciclo lisogénico de un bacteriófago. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

- **Ciclo pseudo-lisogénico:** Este ciclo ocurre cuando el ADN viral aparece en forma de plásmido en la bacteria, pero de forma independiente, por lo que no hay multiplicación del genoma fágico. Esto puede ser causado por factores que son desfavorables para la replicación del fago, pero cuando estos factores mejoran, el fago evoluciona a su ciclo lisogénico o lítico
- **Infección crónica:** Ocurre cuando el fago muta, y su material genético forma parte del cromosoma bacteriano. La bacteria estaría infectada, pero ocurre de manera que se libera la progenie del fago sin lisar la bacteria <sup>15</sup>.

Por lo tanto, los bacteriófagos son capaces de eliminar superbacterias que han sido resistentes a otros antibióticos, lo que hace que esta nueva terapia, la fagoterapia, sea altamente prometedora ante esta lucha que tanto amenaza a la salud actualmente. A diferencia de los antibióticos, los bacteriófagos permanecen en el cuerpo por más tiempo y su multiplicación depende de la bacteria huésped, por lo tanto, no se necesitan dosis repetidas ya que la cantidad de bacteriófago aumenta en el sitio de la infección debido a su proliferación en el huésped bacteriano. Los bacteriófagos se encuentran en nuestro ecosistema, por lo tanto, los humanos presentan una continua exposición a estos, lo que los hace más seguros a nivel inmunológico.

En definitiva, la fagoterapia se presenta como una alternativa terapéutica bastante esperanzadora frente a las terapias actuales, ya que se está viendo como cada vez son más los casos en los que las terapias actuales contra las

infecciones no presentan los resultados esperados. Sin embargo, todo apunta a que la fagoterapia podría acabar con las infecciones por bacterias superresistentes que no responden a ningún tratamiento. En cambio, el empleo de bacteriófagos todavía no es una realidad total, ya que son muy pocos los centros en España que se dedican a la preparación de cócteles de fagos, por lo que eso presenta una limitación bastante importante respecto a su uso. Además, al ser altamente específicos, es complicado encontrar un bacteriófago para la bacteria a tratar.

## **2.6. Métodos de detección de fagos**

Como ya se ha comentado, los fagos presentan una alta especificidad, por lo que a menudo, encontrar un fago que se dirija a una cepa de bacterias concreta puede ser complicado. Para ello se han desarrollado una serie de métodos de identificación de fagos:

- Método de agar de doble capa: es el más tradicional. Consiste en colocar el bacteriófago en un césped de la bacteria original. Puede llegar a tardar 48 horas, por lo que en los casos en los que un diagnóstico rápido es crucial no es conveniente.
- Metodologías de PCR en tiempo real: este método requiere un conjunto de cebadores y condiciones optimizadas para casi todos los fagos, lo cual cuando se trata de colecciones de fagos grandes no es de alto rendimiento ni factible.
- Citometría de flujo: es rápido, pero tiene un rendimiento bajo y probablemente no sea universal.
- Liberación de enzimas: se mide la liberación de enzimas de las células bacterianas debido a la lisis celular inducida por fagos. Esta liberación se detecta mediante la generación de una bioluminiscencia o señal de color después de la escisión de un sustrato específico. Se trata de una técnica de alto rendimiento y en teoría funciona con cualquier fago, pero posiblemente sea necesario optimizarlos para cada especie bacteriana.
- Técnicas de resonancia de plasmones superficiales: las bacterias se inmovilizan en chips sensores de oro utilizando avidina-biotina y la unión

de los fagos a las bacterias y la consiguiente lisis bacteriana se puede detectar y medir con alta sensibilidad en dos horas. Pero presenta bajo rendimiento.

- Respiración celular: la respiración celular se mide mediante química redox con la reducción de un tinte de tetrazolio que produce un cambio de color medido en placas de microtitulación. Cuando hay una infección por fagos se detecta una reducción del color debido a la reducción del crecimiento bacteriano. Es simple y de alto rendimiento, pero podría limitarse a bacterias aeróbicas.
- Análisis de la cinética de densidad óptica en cultivos bacterianos para la detección y cuantificación de fagos: este método detecta fagos en cantidades bajas con un tiempo de respuesta de 3,5 horas y es susceptible de miniaturización y automatización para aplicaciones de alto rendimiento que pueden implementarse en análisis de rutina. El inconveniente es que no siempre es observable para los fagos líticos, ya que se basa en un cambio en la densidad óptica del cultivo bacteriano.

Por lo tanto, es necesario implementar un método simple, rápido y de alto rendimiento para la detección de fagos, con el fin de que se utilice como opción de tratamiento<sup>16</sup>.

En esta presente revisión bibliográfica, se expondrán los resultados obtenidos por diferentes estudios para tratar de concluir si el uso de bacteriófagos puede llegar a ser beneficioso para el tratamiento de infecciones resistentes a antibióticos.

### 3. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo consiste en reflejar los resultados basados en diferentes estudios acerca del potencial terapéutico de los bacteriófagos en el tratamiento de infecciones resistentes a antibióticos. Para ello se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Reunir los estudios más recientes en los que se refleje el uso de la terapia con bacteriófagos.
- Exponer las posibles resistencias de las bacterias a los fagos, así como su forma de abordarlas.
- Valorar las combinaciones terapéuticas de bacteriófagos con antibióticos, así como otras terapias que puedan ser de utilidad.
- Determinar las estrategias terapéuticas de los fagos derivadas de la bioingeniería de estos.

### 4. METODOLOGÍA

Con el fin de recopilar artículos empleados en la presente revisión bibliográfica, la base de datos empleada ha sido Medline a través del buscador Pubmed. Debido al amplio tema a tratar se han realizado dos búsquedas diferenciadas:

- ★ Resistencia a antibióticos y fagoterapia
- ★ Bioingeniería de fagos

Los descriptores utilizados en la primera búsqueda han sido los siguientes:

<b>Términos</b>	<b>Descriptores DeCS</b>	<b>Mesh</b>
Farmacorresistencia	Resistencia a medicamentos	Drug Resistance
Fagoterapia	Terapia de Fagos	Phage Therapy
Antibióticos	Antibacterianos	Anti-Bacterial Agents

**Tabla 1:** Términos y descriptores utilizados en la búsqueda

Estos descriptores han sido combinados de las siguientes formas:



- ("Phage Therapy/trends"[Mesh]) AND ("Drug Resistance"[Mesh] AND "Anti-Bacterial Agents"[Mesh])) Filters: English, Spanish
  - 2 artículos
  - Al acceder a la caja de búsqueda "Phage Therapy" se ha seleccionado dentro de esta "Phage Therapy/trends" para ver las tendencias actuales de la fagoterapia. Se ha añadido el operador booleano "AND". Se ha agrupado "Drug Resistance" junto a Anti-Bacterial Agents" para centrar en la resistencia de antibacterianos
- (("Drug Resistance, Bacterial"[Mesh]) OR "Drug Resistance, Multiple, Bacterial"[Mesh]) AND "Phage Therapy"[Mesh] Filters: English, Spanish
  - 125 artículos
  - Al buscar el término "Drug Resistance" se han seleccionado dos términos concretos del tema a los que se les ha añadido el operador booleano "OR" (entre la "Drug Resistance, Bacterial" y "Drug Resistance, Multiple Bacterial")
- ("Anti-Bacterial Agents"[Mesh]) AND "Phage Therapy"[Mesh]
  - 281 resultados

En la segunda búsqueda, la caja de búsqueda que se ha utilizado con la combinación de dos términos (Tabla 2) es la siguiente:

<b>Términos</b>	<b>Descriptores DeCS</b>	<b>Mesh</b>
Fagoterapia	Terapia de Fagos	Phage Therapy
Bioingeniería	Bioingeniería	Bioengineering

**Tabla 2:** Términos y descriptores usados en la búsqueda

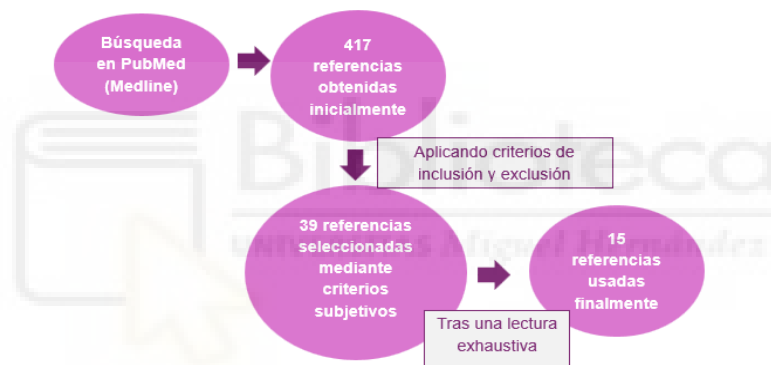
- ("Phage Therapy"[Mesh]) AND "Bioengineering"[Mesh]
  - 9 artículos

Finalmente, se han empleado los siguientes criterios de exclusión e inclusión durante la búsqueda y selección de artículos:

- Criterios de inclusión:

- Artículos publicados en los últimos 4 años
- Artículos originales preclínicos y clínicos
- Centrados en el tratamiento de bacterias multirresistentes con fagoterapia en combinación o no con antibióticos
- Criterios de exclusión
  - Fuera de la temática del estudio.
  - Idioma diferente a inglés o español.
  - No accesible a través del acceso personalizado de la UMH.

En la figura 4 se representa el diagrama de flujo que se ha seguido en la búsqueda bibliográfica hasta la obtención de las referencias que se analizan en el apartado de resultados.



**Figura 4:** Esquema de la búsqueda bibliográfica realizada

## 5. RESULTADOS

Las investigaciones sobre el uso de la fagoterapia como alternativa terapéutica frente a las bacterias superresistentes basan sus esfuerzos en averiguar y demostrar su eficacia, efectividad y seguridad, así como sus ventajas selectivas frente a las terapias ya existentes. Para la presente revisión bibliográfica se han seleccionado una serie de infecciones más comunes (aunque no las únicas) por las que se han llevado a cabo una serie de ensayos clínicos y preclínicos, *in vivo* e *in vitro* evaluando así la eficacia de la fagoterapia en estas infecciones. Finalmente, se expondrán las combinaciones terapéuticas o variaciones

terapéuticas que se han llevado a cabo para mejorar y optimizar la eficacia de esta terapia.

### **5.1. Estado actual de la terapia con fagos**

Actualmente, la mayoría de ensayos clínicos no han logrado proporcionar evidencia inequívoca de la eficacia de la terapia con fagos, aun así, está aumentando el número de estudios de casos en los que la terapia con fagos se utiliza para tratar infecciones potencialmente mortales.

Es evidente el creciente interés de la fagoterapia por parte de pacientes y médicos, sobre todo en aquellos casos en los que las alternativas son escasas o nulas. Es por esto que ya se han creado algunos bancos de fagos. Los investigadores de fagos deben alimentar estos bancos para tener una mayor cobertura de especies bacterianas.

Entre el éxito para las terapias con fagos es muy importante garantizar calidad y seguridad. Por lo tanto, actualmente la terapia con fagos presenta desafíos como:

- Cumplir con los requisitos actuales de calidad y seguridad.
- Garantizar la estabilidad de las preparaciones de fagos durante largos períodos de tiempo.
- Desarrollar un ensayo de alto rendimiento para la detección de fagos.
- Superar la actividad limitada de los fagos en las biopelículas.
- Controlar y superar el desarrollo de resistencia bacteriana a los fagos.
- Establecer un marco regulatorio más adecuado a los productos de los fagos.

De igual forma, también es importante ir desarrollando nuevos enfoques mejorados en la terapia con bacteriófagos:

- Terapias combinadas antibióticos y bacteriófagos
- Explotación de herramientas de biología sintética para diseñar fagos con características mejoradas<sup>16</sup>.

### **5.1.1. Terapia con fagos en trasplantes**

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes en pacientes sometidos a trasplantes representan un desafío crítico. Los trasplantes implican la introducción de un órgano extraño al cuerpo, lo que requiere supresión inmunológica para evitar el rechazo del órgano trasplantado. Esta supresión inmunológica debilita las defensas del paciente, haciéndolo especialmente vulnerable a las infecciones, y si además son causadas por bacterias multirresistentes, la situación se vuelve aún más compleja y peligrosa.

En un estudio realizado en marzo de 2023, se trató con terapia con fagos inhalados a una mujer con fibrosis quística y sepsis grave por *Burkholderia multivorans* 3 años después de un trasplante de pulmón que, a pesar del tratamiento con antibióticos, continuó deteriorándose. La paciente recibió el fago Bch7 inhalado (día 0) bajo uso compasivo a  $3,33 \times 10^9$ UFP por dosis (3 ml por dosis, donde cada dosis contenía 1543 unidades de endotoxina) tres veces al día (para un total de  $1 \times 10^{10}$  UFP/día, es decir, 9 ml administrados por día) a través de un circuito de ventilación mecánica utilizando un nebulizador de chorro AirLife (Vyaire Medical, Mettawa, IL) según los procedimientos habituales de la unidad de cuidados intensivos, además de antibióticos. La administración inicial de fagos fue bien tolerada y no se observaron efectos secundarios inmediatos. Para el día +1, la paciente comenzó a mejorar durante los siguientes 4 días. Sin embargo, el día 5 comenzó a empeorar. Se tomó la decisión de administrar una única dosis intravenosa de fagos, se infundieron 0,5 ml de fagos diluidos en 100 ml de solución salina normal durante un período de 3 h. La condición de la paciente, continuó empeorando. La paciente finalmente falleció el día +8. En esta paciente, aunque no hubo eventos adversos inmediatos relacionados con la terapia con fagos, no se puede excluir la posibilidad de que el empeoramiento clínico y la eventual muerte estuvieran relacionados con la administración de fagos, tal vez al facilitar la liberación de citocinas<sup>17</sup>.

### **5.1.2. Terapia con fagos en infecciones respiratorias**

El estudio de la fagoterapia en infecciones respiratorias es un área de investigación cada vez más relevante, especialmente frente al creciente desafío

que representa la resistencia a los antibióticos. Las infecciones respiratorias tienen una importancia particular frente a otras infecciones debido a varios factores críticos porque combinan alta transmisibilidad, impacto significativo en la salud pública, escasez de opciones de tratamiento y un costo económico y social elevado.

*Acinetobacter baumannii* es un patógeno oportunista gramnegativo que causa neumonía grave y exhibe cierta resistencia intrínseca a múltiples clases de antiinfecciosos como por ejemplo los beta-lactámicos (penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos), quinolonas y fluoroquinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas... Por lo que las opciones terapéuticas para tratar *Acinetobacter baumannii* son limitadas y a menudo implican el uso de antibióticos “antiguos” como la colistina o tigeciclina que pueden tener efectos secundarios significativos.

En el año 2021 se realizó un estudio con el fago vB\_AbaM\_Acibel004 de la familia *Myoviridae*, para valorar la capacidad de acabar con la infección en ratones. Se utilizaron ratones hembras C57BL/6N, libres de patógenos que presentaban de 8 a 10 semanas de edad. Fueron infectados por vía intranasal con  $5 \times 10^8$  UFC de *A.baumannii* y entonces se controlaron parámetros como la temperatura y el peso corporal. Tras doce horas infectados, se administró una aplicación única de  $5 \times 10^6$  UFP/mL de fagos o solución de control mediante aerosolización intratraqueal después de la intubación orotraqueal bajo anestesia con isoflurano. La elección del fago a utilizar se hizo a partir de un aislado clínico de *Acinetobacter baumannii* de un brote anterior para determinar la susceptibilidad contra un panel de bacteriófagos previamente aislados y caracterizados. Una vez que estaba elegido, se empleó un proceso secuencial para reducir los niveles de endotoxinas en la suspensión de fagos preparada. Finalmente se evaluó su uso terapéutico contra la infección pulmonar por *Acinetobacter baumannii* en ratones inmunocompetentes y pulmones humanos en cuanto a eficacia y posibles efectos adversos, al demostrarse que el fago elegido era eficaz y no provocaba efectos adversos detectables, se confirmó su utilización en el estudio.

Se demostró una mejora de la condición clínica y una reducción de la carga bacteriana de los pulmones de los ratones infectados que fueron tratados con fagos. El tratamiento con fagos se asoció con recuentos bacterianos más bajos en pulmones y bazo.

Dichos hallazgos mencionados fueron validados en un modelo *ex vivo* utilizando tejidos pulmonares humanos extirpados. Después de dos horas de tratamiento no se pudo aislar ninguna bacteria viable. Tras dos horas adicionales la viabilidad de las bacterias estuvo comprometida excepto en dos muestras que mostraron crecimiento detectable.

Finalmente, los resultados del estudio demostraron que el resultado de la neumonía tras una infección pulmonar por *A. baumannii* en ratones inmunocompetentes es mejorable mediante la administración de una dosis única de fagos. Es importante destacar la falta de efectos inflamatorios u otros efectos adversos, lo que fomenta mayores esfuerzos para desarrollar fagos para aplicación clínica contra infecciones pulmonares *A. baumannii*<sup>18</sup>.

Por otro lado, en otro estudio realizado en 2022 se revelaron los éxitos de una terapia de fagos, en este caso en combinación con antibióticos. Trata de un hombre de 52 años que presentaba fiebre, tos, debilidad generalizada y disminución del apetito, lo cual reveló una infección por *Acinetobacter baumannii*. El paciente estuvo 19 días en terapia con antibióticos. El pronóstico de estos pacientes es malo, y la tasa de mortalidad suele acercarse al 50% o más. En base a estos hallazgos y con pocas opciones de antibióticos para continuar otra terapia, se decidió iniciar una terapia con bacteriófagos en combinación con la terapia de antibióticos. Para seleccionar el bacteriófago, se enviaron 23 aislados previamente sensibles a *Acinetobacter baumannii* desde el Instituto de Salud para Investigación y Desarrollo del Desarrollo Humano y Rehabilitación, de los cuales se identificaron dos perfiles de sensibilidad. Se cogió un aislado de la muestra de esputo del paciente y se envió al laboratorio para determinar si alguno de los dos bacteriófagos sería candidato, y el aislado AbW4878ø1 inhibió el crecimiento de la muestra del paciente durante aproximadamente 40 horas, por lo que fue el seleccionado. En este momento se procedió a la administración

de bacteriófagos, continuando con la terapia de antibióticos la cual se administraba fuera de un período mínimo de 2 horas antes y después de la infusión de bacteriófagos intravenosos y nebulizados, así se conseguía que las bacterias residuales fueran lo suficientemente robustas como para soportar la replicación exponencial de los bacteriófagos. Respecto a los efectos adversos, fueron controlados y al no observarse nada alarmante la terapia continuó. Se observó que la carga de *Acinetobacter baumannii* se redujo significativamente, por lo que se aprobó continuar con el tratamiento. Después del tratamiento con nebulización y terapia con bacteriófagos intravenosos junto con antibióticos durante un total de 35 días, la condición del paciente mejoró significativamente. Finalmente, el paciente fue dado de alta y se derivó a un centro de rehabilitación a largo plazo para continuar con la atención médica. La mejoría clínica del paciente sugiere que la terapia con bacteriófagos en combinación con antibióticos puede ser un método eficaz para atacar a los patógenos. El resultado es alentador y proporciona un enfoque alternativo para tratar a pacientes con *Acinetobacter baumannii* resistentes a antibióticos<sup>19</sup>.

Por otro lado, en los pacientes con fibrosis quística cada vez es más común la infección por *Mycobacterium abscessus*, una micobacteria no tuberculosa que, debido a su resistencia intrínseca a los antibióticos y a sus mecanismos de defensa, presenta desafíos significativos para el tratamiento. Algunos ejemplos de antibióticos que suelen ser ineficaces contra *Mycobacterium abscessus* son los beta-lactámicos, las quinolonas y fluoroquinolonas (aunque a veces presenta sensibilidad con el ciprofloxacino), algunos aminoglucósidos, macrólidos... La resistencia significativa de esta bacteria resalta la necesidad de desarrollar nuevos enfoques para tratar infecciones resistentes.

En un estudio realizado en 2023, se administraron fagos a 20 pacientes con infección por *Mycobacterium abscessus* por vía intravenosa, mediante aerosolización o ambos, con carácter compasivo y se monitorizó a los pacientes para detectar efectos adversos. Finalmente, no se observaron efectos adversos que fueran atribuidos a la terapia en ningún paciente, las dosis fueron bien toleradas, y se observaron respuestas clínicas o microbiológicas favorables en 5 pacientes y respuestas parciales en 6 pacientes. Se identificaron anticuerpos

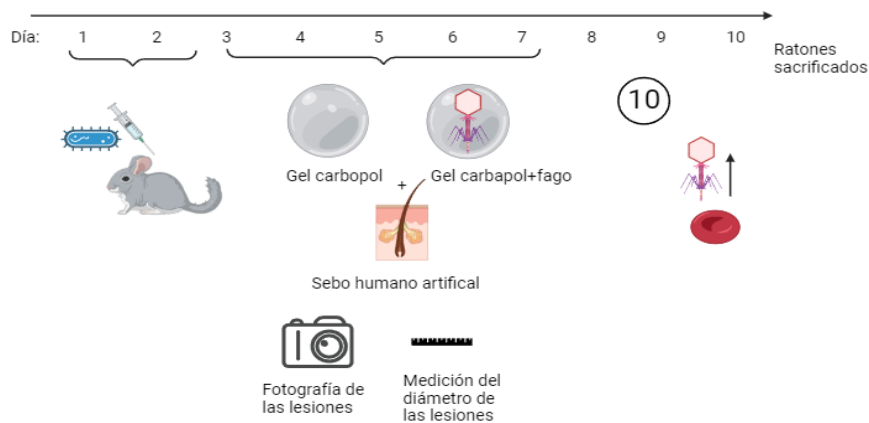
neutralizantes en el suero después del inicio de la administración de fagos por vía intravenosa en 8 pacientes, lo que contribuyó a la falta de respuesta al tratamiento en 4 casos, pero no se asociaron consistentemente con respuestas desfavorables en otros. Aunque sigue siendo un desafío la terapia con fagos, se concluyó que puede ser una opción para pacientes que carecen de otras opciones de tratamiento<sup>20</sup>.

### **5.1.3. Terapia con fagos en infecciones cutáneas**

El acné vulgar es un trastorno inflamatorio crónico que afecta al 80% de la población durante la adolescencia, así como a algunos adultos. *Cutibacterium acnes* es una bacteria gram positiva, lipófila, anaeróbica y miembro del microbioma de la piel que desempeña un papel importante en el desarrollo del acné. En las últimas dos décadas se ha documentado un aumento global alarmante de cepas de *C.acnes* resistentes a los antibióticos.

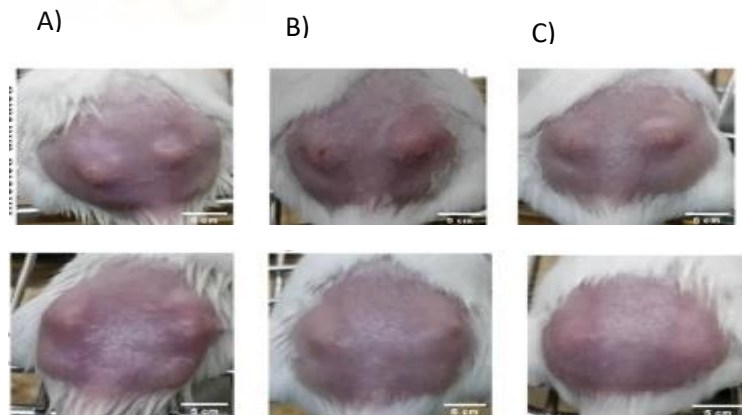
En un estudio realizado en 2023 se evaluó el potencial de la terapia con fagos en un modelo de lesiones similares al acné inducidas por *C.acnes* en 38 ratones ICR hembras de 8 semanas de edad. Se seleccionó el fago FD3, tras valorar en primer lugar su estabilidad en gel de carbopol durante 30 días a 4°C, este fue el más estable, ya que no presentó una reducción significativa del título durante los 30 días. En primer lugar se les administraron dos inyecciones intradérmicas de la cepa 27 de *C.acnes* o solución salina en ratones, seguida de la aplicación tópica de sebo humano artificial. Tal y como se ve en la figura 5, aproximadamente en el día 3, se establecieron las lesiones, por lo que se dividieron en dos grupos, uno tratado con fago FD3 en gel de carbopol y otro tratado únicamente con gel de carbopol. Ningún ratón mostró ningún evento adverso durante este experimento. Finalmente, al décimo día los ratones fueron sacrificados. Respecto a la capacidad de los fagos FD3 de atravesar la piel de espesor total de ratones, se observó que efectivamente era capaz de cruzar la piel de ratón ya que se pudieron detectar niveles crecientes de UFC con el tiempo, hasta 6 horas después en gel de carbopol.





**Figura 5:** Infección por *C.acnes* en ratones hembra ICR y posterior tratamiento y evaluación de la eficacia de los fagos. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

Respecto a las lesiones inducidas por *C.acnes*, la aplicación diaria de FD3 durante cinco días consecutivos mejoró significativamente la gravedad de las lesiones, basándose en su diámetro, población/elevación y presencia y gravedad de escaras sobre las lesiones. En la figura 6 se observa la mejora significativa en las lesiones de acné antes de ser tratados por el fago y después. En resumen, se observaron mejoras significativas entre el grupo de los tratados y no tratados.



**Figura 6:** Infección por *C.acnes* en ratones previamente a ser tratados por el fago y una vez que se han observado los resultados del fago. Se trata de 3 ratones diferentes, en las imágenes de arriba (A-C) encontramos imágenes de las marcas de acné previas a ser tratadas por fagos, mientras que las imágenes de abajo hacen referencia a esos mismos ratones una vez tratados con fagos. Comparando las imágenes de arriba con las de abajo, se puede observar claramente una mejora

significativa. Imagen extraída de Rimon A et al. 2023. doi: 10.1038/s41467-023-36694-8. PMID: 36813793; PMCID: PMC9947178.

Finalmente, se demostró el potencial de la terapia con fagos como una herramienta adicional a los antibióticos, dada la creciente resistencia a estos<sup>21</sup>.

#### **5.1.4. Terapia con fagos en infecciones urinarias**

En el año 2021, se realizó una terapia experimental con bacteriófagos en un hombre de 60 años que desarrolló una infección crónica del tracto urinario (ITU) con *Klebsiella pneumoniae* resistente a múltiples fármacos, después de un trasplante de riñón. El paciente, antes de ser receptor de tratamiento con bacteriófagos se sometió a varias intervenciones, que llevaron hasta a 10 episodios graves de ITU con hospitalizaciones. El paciente fue remitido a la Unidad de Terapia con Fagos (PTU) ante pocas otras opciones de tratamiento. Se inició una aplicación intrarrectal del preparado de fagos específico contra la cepa, a una dosis de 10 mL dos veces al día. Al quinto día el paciente empezó a tener dolor en el área lumbar acompañado de aumento de la temperatura corporal, lo que llevó a detectar quistes en los riñones del paciente, por lo que se decidió empezar tratamiento con meropenem junto a los bacteriófagos. No se observaron reacciones adversas específicas del bacteriófago y no se produjeron intolerancias durante todo el período de tratamiento combinado. El tratamiento duró 29 días en total, pero debido a los episodios infecciosos recurrentes previos, los riñones presentaban quistes con contenido sospechoso de carácter infeccioso, las cuales probablemente fueran no penetrables en un grado óptimo ni por antibióticos ni por fagos, por lo que fue calificado para una resección planificada de su riñón poliquístico izquierdo. El paciente finalmente fue dado de alta el cuarto día después de la cirugía, sin signos de infección. Aunque no se haya podido observar la eficacia de los fagos, sí se confirma que estos han sido seguros, ya que no causó efectos secundarios ni afectó negativamente a la función renal<sup>22</sup>.

A continuación, se presenta una tabla [Tabla 3] con el resumen de este primer bloque, con el fin de llegar a entender y visualizar mejor los resultados de los estudios presentados.

TIPO DE INFECCIÓN	SUJETOS	DISEÑO DEL ESTUDIO	METODOLOGÍA	RESULTADOS	REFERENCIA
Asociada a trasplante de órgano	Mujer 32 años con fibrosis quística y sepsis grave por <i>B. multivorans</i>	Estudio de la sensibilidad para elección del fago 3 mL del fago Bch7 inhalado tres veces al día y tras 5 días 0,5 mL de fagos diluidos en 100 mL durante 3 h	Para valorar la eficacia de la fagoterapia se midió la ventilación, hemodinámica y leucocitosis. Además de recogerse cultivos respiratorios	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No EA (efectos adversos).</li> <li>- Al 8 día el paciente falleció</li> </ul>	Haidar G et al. 2023. PMID: 36864824; PMCID: PMC10085838
Respiratoria	Ratones hembra C57BL/6N infectados por <i>A.baumannii</i>	1º Fueron infectados por vía intranasal por <i>A.baumannii</i> 2º Aplicación única de 5x10 <sup>6</sup> UFP/mL de cB_AbaM_Acibel004 de la familia Myoviridae	Se estudiaron muestras de los pulmones y bazo para valorar la carga bacteriana así como la condición clínica	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No EA</li> <li>- El resultado de la neumonía mejoró</li> </ul>	Wienhold SM et al. 2021 doi: 10.3390/v14010033. PMID: 35062236; PMCID: PMC8778864.
	Hombre de 52 años infectado por <i>A.Baumannii</i>	Administración de antibióticos en combinación con el fago AbW4878ø1. Los antibióticos se administraban en un período mínimo de 2 horas antes y después de los bacteriófagos	La bilirrubina, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y daño total se controlaron diariamente. No pareció dar ninguna disfunción de ningún órgano.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓carga bacteriana</li> <li>- 35 días después, el paciente mejoró</li> </ul>	Rao S et al. 2022. PMID: 34662188; PMCID: PMC876527
	20 pacientes infectados por <i>M.abscessus</i>	Administración de fagos por vía intravenosa, mediante aerosolización o ambos, con carácter compasivo	Se monitorizó a los pacientes para detectar efectos adversos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No EA</li> <li>- Respuesta favorable 5 pacientes</li> <li>- Respuesta parcial 6 pacientes</li> </ul>	Dedrick RM et al. 2023. doi: 10.1093/cid/ciac453. PMID: 35676823; PMCID: PMC9825826
Cutánea	38 ratones ICR hembras de 8 semanas de edad infectados por <i>C.acnes</i>	Infección por <i>C.acnes</i> , seguida de la aplicación tópica de sebo humano artificial. Administración del fago FD3 en gel Carbopol aplicado diariamente durante cinco días consecutivos	Se monitorizó a los ratones para controlar los efectos adversos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mejora en la gravedad de lesiones</li> <li>- No EA</li> </ul>	Rimon A et al. 2023. doi: 10.1038/s41467-023-36694-8. PMID: 36813793; PMCID: PMC9947178.
Urinaria	Hombre de 60 años tras un trasplante de riñón infectado por <i>K.pneumoniae</i>	Estudio de la sensibilidad para la elección del fago. Administración intrarrectal de 10 mL de fagos dos veces al día durante 29 días	Control periódico de la temperatura, así como del estado de los riñones	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No demuestra eficacia fagos</li> <li>- Sí demuestra tratamiento seguro</li> <li>- Sin consecuencias negativas</li> </ul>	Rostkowska OM. 2021. doi: 10.1111/tid.13391. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32599666.

**Tabla 3:** Recopilación de las características principales de los estudios revisados

## 5.2. Resistencia a los bacteriófagos

A pesar de que se plantea el tratamiento con bacteriófagos en las bacterias resistentes a antibióticos, también existe la posibilidad de que la bacteria huésped desarrolle resistencia contra la infección por fagos, así como en cada paso crucial del desarrollo lítico (mecanismo de acción del fago) mediante diferentes mecanismos que incluyen:

- Mutaciones o modificaciones en el receptor del fago: Las bacterias desarrollan resistencia mutando el receptor o modificándolo (añadiendo un grupo acetil o metil) al que se unen los bacteriófagos, evitando que el fago se adhiera, o en el caso de la modificación, que lo reconozca, impidiendo así la infección.
- Sistemas de inmunidad adaptativa bacteriana (CRISPR-Cas): Las bacterias que presentan inmunidad adaptativa, “recuerdan” infecciones previas por fagos, por lo que almacenan fragmentos del ADN del fago y usan esos fragmentos para identificar y destruir el ADN del fago en futuros ataques.
- Sistemas de restricción-modificación: Las bacterias pueden presentar enzimas que reconocen y cortan secuencias específicas de ADN del fago, lo que puede permitir que la bacteria degrade el ADN del fago antes de que este pueda replicarse.
- Producción de proteínas anti-fago: Algunas bacterias tienen la capacidad de producir proteínas que interfieren en el ciclo de vida de los fagos, evitando la transcripción, traducción o ensamblaje del fago.
- Abortar la infección: Se trata de un mecanismo por el que las bacterias desencadenan una muerte celular programada (apoptosis bacteriana) o cese de crecimiento cuando son infectadas. Significa la muerte de la bacteria, pero también impide la propagación del fago.

En un estudio realizado en el año 2021, se utilizaron ratones C57BL/6J de tipo salvaje, a los cuales se les inyectó por vía intraperitoneal  $5 \times 10^7$  UFC de *Klebsiella pneumoniae* secuencia tipo 258 (ST258), lo cual provocó una enfermedad sistémica aguda. Los ratones infectados con ST258 fueron tratados con dos

fagos líticos o la combinación de los dos: un podófago pharr (P1) y  $\phi$ KpNIH-2 un sífago (P2), dichos fagos fueron inyectados vía intraperitoneal 1 hora después de la infección. Todos los ratones en un grupo de control tratado con solución salina progresaron rápidamente a una enfermedad grave, sin embargo, los que recibieron una dosis de fagos sobrevivieron notablemente mejor. Una supervivencia del 93% los que fueron tratados con P1, del 80% los que fueron tratados con P2 y 100% los que fueron tratados con P1+P2 y un 0% del grupo control. Tras cuantificar las bacterias y fagos en sangre y tejido de ratón se observó que los títulos de fagos circulantes a las 24 y 48 horas fueron notablemente mayores en ratones infectados que en no infectados tratados con P1+P2, lo que proporciona una evidencia indirecta de la replicación de fagos in vivo. En comparación, hubo una disminución en el número de bacterias asociadas a tejidos en los ratones tratados con fagos respecto a los ratones control tratados con solución salina dentro de las 24 horas posteriores. Estos resultados señalan que el tratamiento con fagos disminuye la carga bacteriana en ratones infectados con ST258 así como se correlaciona con la capacidad de los fagos para multiplicarse en animales infectados y prevenir la mortalidad.

Tras este resultado, se evaluó la resistencia a fagos en las bacterias que fueron recuperadas de los ratones. Para ello, se cogieron colonias ST258 recuperadas de sangre de ratón y muestras de tejido homogeneizadas y se cruzaron con fagos P1 y P2. Se clasificaron como sensibles a fagos, parcialmente resistentes a fagos, o completamente resistentes a fagos y los resultados fue que en general, hubo una alta frecuencia de colonias con al menos algún grado de resistencia a los fagos, siendo las más predominantes las bacterias parcialmente resistentes. Esto indica que el desarrollo de resistencia a los fagos es una posible advertencia del enfoque de la terapia con fagos. Se necesita más trabajo para comprender mejor los mecanismos por los cuales se desarrolla la resistencia a los fagos in vivo y en qué medida la resistencia a los fagos altera los resultados clínicos<sup>23</sup>.

Para evitar e incluso prepararse para la aparición de resistencias a los fagos durante el tratamiento, existen diferentes enfoques. Algunas estrategias para contrarrestar las resistencias son<sup>24</sup>:

- Uso de cóctel de fagos: Se realiza una mezcla de diferentes fagos, cada uno con un espectro de acción distinto, lo que reduce la posibilidad de que la bacteria desarrolle resistencia a todos los fagos del cóctel.
- Desarrollo de fagos modificados genéticamente: Se pueden diseñar fagos mediante ingeniería genética para evitar los mecanismos de resistencia bacteriana.
- Uso combinado con otros agentes antimicrobianos: Combinar fagos con antibióticos (sinergia fago-antibiótico) u otros tratamientos para tener un efecto sinérgico y reducir la velocidad de desarrollar resistencia.
- Rotación de fagos: Implica el uso secuencial de diferentes fagos para evitar que las bacterias tengan tiempo suficiente para desarrollar resistencia a un solo tipo de fago.
- Mejora de la identificación y selección de fagos: El uso de métodos de secuenciación y bioinformática puede mejorar la identificación y selección de fagos con alta afinidad y menor probabilidad de desarrollo de una resistencia, lo que lleva a un tratamiento más eficaz y personalizado.

En la Tabla 4 se pueden observar de forma más clara los posibles mecanismos de resistencia a fagos junto a sus abordajes o estrategias para minimizarlos

POSIBLES MECANISMOS DE RESISTENCIA A FAGOS	ABORDAJES/ESTRATEGIAS PARA MINIMIZARLOS O EVITARLOS
Mutaciones o modificaciones en el receptor del fago	Uso de cóctel de fagos
Sistemas de inmunidad adaptativa bacteriana (CRISPR-Cas)	Desarrollo de fagos modificados genéticamente
Sistemas de restricción-modificación	Uso combinado con otros agentes antimicrobianos
Producción de proteínas anti-fago	Rotación de fagos
Abortar infección	Mejora de la identificación y selección de fagos

**Tabla 4:** Mecanismos de resistencia a bacteriófagos y sus posibles abordajes o estrategias para minimizarlos o evitarlos.

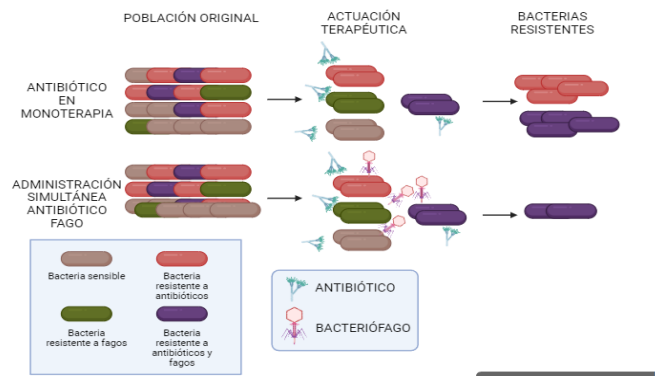
### **5.3. Desarrollo de las terapias con bacteriófagos**

El desarrollo es prometedor en cuanto a las terapias con bacteriófagos, ya que se han demostrado en numerosos estudios como estos han conseguido mejorar la clínica de pacientes que ya habían probado multitud de alternativas antibióticas. Sin embargo, existen diferentes terapias de bacteriófagos que todavía resultan más prometedoras, ya que se plantean como abordajes que evitan o minimizan las resistencias a bacteriófagos como se ha visto anteriormente. A continuación, se detallan algunas de estas terapias más en profundidad.

#### **5.3.1. Terapia sinérgica entre antibióticos y bacteriófagos**

Es evidente que las bacterias resistentes a los antibióticos presentan una gran amenaza para la salud humana, por ello la terapia con fagos se presenta como alternativa a los antibióticos, sin embargo, una preocupación importante es que las bacterias también pueden crear resistencias a fagos como ya se ha comentado anteriormente, por ello se propone el PAS (sinergia fago-antibiótico), un enfoque potencial para el manejo de bacterias resistentes tanto a antibióticos como a fagos. El término “sinergia fago-antibiótico” (PAS) fue acuñado por primera vez por Comeau AM et al en 2007. Esta terapia puede ser de utilidad cuando la bacteria causante de la infección sea resistente al antibiótico o cuando la difusión del antibiótico hasta la diana no sea correcta, suponiendo una mejor supresión de la reproducción bacteriana o una penetración en los biofilms más eficiente. Al administrar antibióticos en monoterapia, es muy común la reproducción de las bacterias resistentes al administrar el antibiótico, sin embargo, cuando la administración de fagos y antibióticos es simultánea, las resistencias que aparecen provocan que las bacterias tengan un crecimiento más lento, y en muchos casos, sean menos patogénicas [Figura 7].





**Figura 7:** Comparación de la actuación terapéutica de un antibiótico en monoterapia con la actuación terapéutica de una administración simultánea entre antibióticos y fagos. Imagen de elaboración propia creada con la ayuda de BioRender.com.

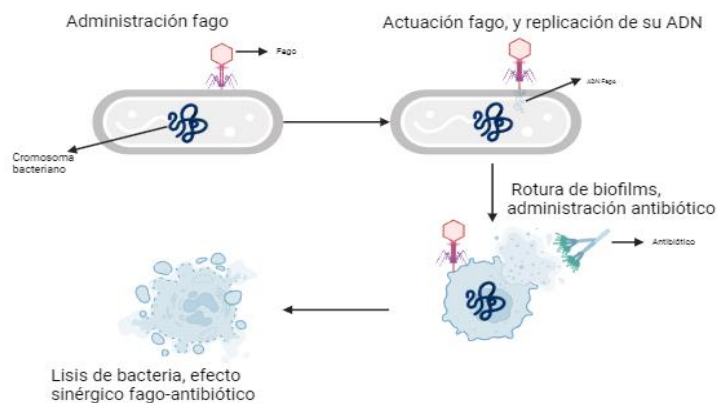
Se ha demostrado que los antibióticos afectan significativamente las tasas de adsorción de fagos y al período de latencia, el cual se ve reducido en presencia de fagos. Ryan et al realizó un estudio sobre el tratamiento de *Escherichia coli* con el fago T4 y con una combinación de fago T4 y cefotaxima, los resultados demostraron que el fago T4 en ausencia de la cefotaxima presentaba un período de latencia de 24 minutos, sin embargo, cuando estaba presente la cefotaxima, el período de latencia se veía reducido a 18 minutos. Además, otra evidencia que se pudo observar fue que la concentración inicial del fago T4 aumentó de  $5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^7$  unidades formadoras de placa/ml, lo que demuestra que presenta una mejor replicación y mayor tasa de absorción del fago.

Respecto a los estudios in vivo, Bao et al informó de un paciente con una infección recurrente del tracto urinario (ITU) provocada por *Klebsiella pneumoniae* resistente a antibióticos, excepto a la tigeciclina y la polimixina B. Tras la administración de estos medicamentos la ITU no se curó y se volvió persistente. Primero se comprobó in vitro una combinación de cóctel de fagos III (KP152, KP154, KP155, KP164, KP6377 y HD 001) y SMZ-TMP que podía suprimir el crecimiento bacteriano. Por lo tanto, se le administró de forma oral trimetoprim-sulfametoxazol dos veces al día seguido de una irrigación de la vejiga con cóctel de fagos III. Tras cinco días de tratamiento continuo, no se pudo aislar la bacteria en la orina, y los síntomas desaparecieron por completo. Tras 6 meses del acta no hubo síntomas de recurrencia<sup>25</sup>.



Los fagos ejercen una presión contra las bacterias que está asociada a la llamada “compensación evolutiva”. Las compensaciones genéticas se entienden cuando las bacterias muestran alteraciones en uno de sus rasgos y al mismo tiempo presentan una disminución del rendimiento en otro rasgo. Por lo tanto, asumimos que la inducción progresiva de resistencia en las bacterias puede resultar en una acumulación de efectos de compensación, lo que colocaría la supervivencia de la bacteria en desventaja. Por ejemplo, en el caso de una mutación en el gen *epaR* perteneciente a la bacteria *Enterococcus faecalis* se producen dos efectos contrapuestos. Por una parte reduce la capacidad de los bacteriófagos para adsorberse (unirse) a las bacterias *Enterococcus faecalis* y, por otro lado hace que las bacterias sean más susceptibles al antibiótico, en este caso la daptomicina. Esto es conocido como el efecto balancín fago-antibiótico, la observación de que ciertas resistencias a antibióticos pueden hacer a las bacterias más susceptibles a fagos, y viceversa<sup>26</sup>.

Algunos estudios han demostrado que la administración de fagos antes de los antibióticos presenta elevadas ventajas respecto a cuándo son los antibióticos los que se administran antes o cuando se hacen de forma simultánea. Esto podría explicarse ya que la forma de replicación de los fagos está dentro de las bacterias, por lo que, si administramos antes los antibióticos, y a la hora de llegar el fago, la bacteria ya está muerta, se podría reducir su efecto. Al administrar primero el bacteriófago, se pueden debilitar las defensas bacterianas y crear más puntos de acceso al antibiótico hacia aquellas bacterias que estaban protegidas por el biofilm, y de esta forma los antibióticos penetran mejor y debilitan la bacteria haciéndolas más susceptibles a los fagos, y que finalmente el fago la destruya, tal y como se observa en la figura 8.



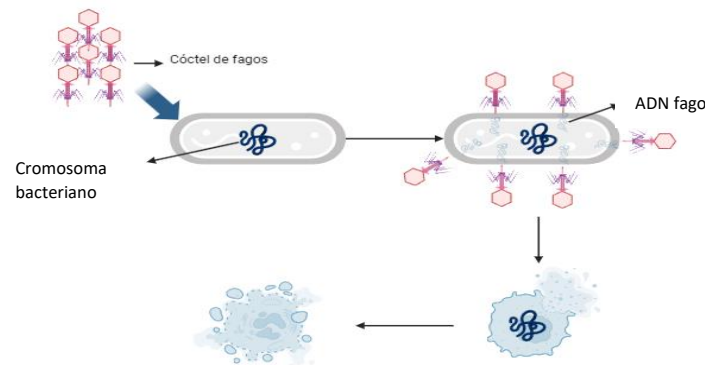
**Figura 8.** Terapia sinérgica fago-antibiótico. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

Por lo tanto, los efectos terapéuticos máximos están relacionados con una administración secuencial, aunque se desconoce exactamente el momento óptimo de administración de antibióticos tras la administración de fagos, es probable que dependa del patógeno, fago y antibiótico<sup>26</sup>.

### 5.3.2. Terapia de cóctel de fagos

El cóctel de fagos es una mezcla de diferentes fagos que se espera que supriman la resistencia de los fagos y tengan una gama de huéspedes más amplia que un solo fago. Con una combinación de fagos se puede dirigir el tratamiento a múltiples cepas de una sola especie bacteriana o varias especies. Una combinación apropiada de fagos amplía el espectro de actividad contra los organismos objetivo específicos y minimiza el desarrollo de bacterias resistentes a fagos, ya que si la bacteria desarrolla mecanismos por los que se vuelve resistente a un fago, el resto de fagos del cóctel de fagos podría seguir actuando, manteniendo así el efecto antimicrobiano. En cambio, una mezcla de fagos al azar exhibe efectos bactericidas fluctuantes debido a la interacción entre los fagos que componen el cóctel, ya que cuando hay varios fagos que reconocen la misma molécula de superficie, estos pueden actuar como antagonistas entre sí y no lograr infectar bacterias, por ello es esencial seleccionar fagos que reconozcan diferentes moléculas de superficie. En la figura 9, se observa como al administrar un cóctel de fagos donde cada fago actúa sobre una molécula de superficie, se evitan los efectos antagonistas y la competitividad entre los fagos

por un mismo sitio de acción, lo que hace mucho más rápida la lisis de la bacteria<sup>27</sup>.



**Figura 9:** Cóctel de fagos. Imagen de elaboración propia creada con ayuda de BioRender.com

### 5.3.3. Bioingeniería de fagos

La bioingeniería de fagos consiste en el uso de fagos genéticamente modificados o genomas de fagos construidos de novo, consiguiendo así fagos con las cualidades deseadas, lo que podría ser una posible herramienta para abordar la resistencia de los fagos en la terapia con fagos. Las técnicas utilizadas para la bioingeniería de fagos se basan en la recombinación homóloga.

La recombinación homóloga tradicional, el plásmido con una mutación diseñada que flanquea secuencias homólogas se transforma en la célula y luego la célula se infecta con fagos, posteriormente se analizan los fagos recombinantes con las mutaciones diseñadas. Este método presenta una serie de desventajas ya que puede llevar mucho tiempo y resultar laborioso, además las tasas de recombinación son bastante bajas.

Otro método es la recombinación de bacteriófagos de ADN electroporado (BRED). Son sistemas de recombinación codificados por fagos que aumentan las tasas de recombinación, por ejemplo, el sistema Rec del fago lambda. El ADN del fago y el ADN del donante se coelectroporan en células que se inducen a expresar funciones de recombinación de fago. La primera vez que se desarrolló fue en micobacteriófagos y posteriormente también se utilizó para construir mutantes de colifagos.

La ingeniería basada en CRISPR-Cas también se ha utilizado ampliamente para la edición del genoma de fagos, aquí se identifican secuencias complementarias al ARN CRISPR (ARNc) y la proteína Cas escinde la diana induciendo una rotura de la doble cadena de ADN. A veces en este caso también se utiliza la recombinación homóloga para introducir mutaciones.

Por último, una posibilidad también es transformar células con ADN de fago desnudo de longitud completa que ya contiene las mutaciones deseadas, produciendo partículas maduras después de la replicación, transcripción y traducción, lo que lleva a la formación de viriones maduros.

En definitiva, la bioingeniería de fagos puede ser una terapia muy útil, además de para abordar las resistencias, también para eliminar la respuesta inmune contra los fagos terapéuticos<sup>28</sup>.

## **6. DISCUSIÓN.**

La fagoterapia fue descubierta hace más de un siglo, pero la aplicación de esta terapia natural se ha visto obstaculizada a lo largo de los años. Los antibióticos han ido ganando importancia con el paso del tiempo, convirtiéndose en la terapia principal para el tratamiento de infecciones. Sin embargo la relevancia clínica de esta clase de fármacos se está viendo comprometida ante la rápida evolución de los organismos multirresistentes, lo que hace que la eficacia de los antibióticos vaya disminuyendo y las opciones terapéuticas para abordar infecciones resistentes sean muy escasas. La adopción de la terapia con bacteriófagos en la práctica clínica habitual se plantea como una alternativa prometedora, aunque requerirá una inversión más amplia y comprometida por parte de los laboratorios de investigación y los sistemas hospitalarios.

Una parte importante de la posible aplicación de esta terapia con éxito está en encontrar las condiciones óptimas de formulación y preparación de los fagos, ya que a día de hoy todavía no existen unas pautas claras de posología y preparación, debido a que al tratarse de entidades biológicas naturales hay que prestar especial atención a las condiciones de tratamiento. También se deben ampliar los conocimientos respecto a las oscilaciones en las concentraciones

que pueden sufrir los bacteriófagos una vez están dentro del organismo, ya que todavía no se controla con exactitud cuál es su funcionamiento para asegurar el mantenimiento de la actividad de los fagos<sup>29</sup>.

Por otro lado, también es importante continuar la investigación respecto a la selección de los fagos ideales, ya que no todos presentan la misma eficacia terapéutica y se trata de especies con actividad muy específica sobre determinadas bacterias. Es muy importante a la hora de elegir las preparaciones ideales tener en cuenta que se deben excluir fagos que sigan el ciclo lisogénico, que codifican factores de virulencia o que impliquen desarrollo de resistencias bacterianas. Para hacer frente a esto último, se presentan algunas alternativas como la ingeniería de fagos. Se ha demostrado que los fagos modificados genéticamente ofrecen mayores ventajas en la lucha contra las infecciones bacterianas, ya que de esta manera se incluirá una actividad bactericida mejorada, además activan el sistema inmune activando así eficazmente el sistema inmunológico y provocando respuestas inmunitarias. Asimismo, estos fagos son elegibles para la protección de patentes, lo que atrae las inversiones en el mercado de capitales, promoviendo el avance en la investigación por parte de los laboratorios. Sin embargo, a día de hoy las tecnologías por las que se modifican genéticamente los fagos no son adecuadas para las terapias de pacientes graves debido al tiempo requerido de preparación<sup>27</sup>. Otra opción para hacer frente a las resistencias a los fagos es la terapia de administración de fagos y antibióticos. La infección por fagos puede ejercer una presión selectiva sobre las bacterias, produciéndose pérdida o regulación negativa de algunos de los componentes importantes de la bacteria huésped relacionados con la toxicidad bacteriana, la sensibilidad a los fármacos y los factores de crecimiento. Además, esto podría ser una solución a uno de los problemas que presenta la terapia con fagos, las resistencias a estos. La combinación de las dos terapias aporta aspectos positivos en ambas partes, lo que puede resultar beneficioso para el tratamiento de estas infecciones<sup>30</sup>. La combinación de varios fagos, lo que se conoce como cóctel de fagos, también presenta ventajas para abordar la resistencia bacteriana, pero todavía son escasos los centros de investigación que disponen de bibliotecas de bacteriófagos previamente formadas, por lo que

de cara al futuro y a la implantación de este tipo de terapias, sería importante plantear un plan para aumentar la creación de estas bibliotecas<sup>31</sup>. El Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de España ha presentado un nuevo Plan Estratégico de Biomedicina en el que incorpora la iniciativa “Fagoteca One Health” donde pretenden fomentar la investigación y la colaboración multidisciplinar para avanzar en el conocimiento sobre fagos. La idea central es crear un recurso o banco de fagos, una fagoteca, para su estudio, desarrollo y aplicación en la lucha contra las infecciones bacterianas<sup>32</sup>.

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la vía de administración, todavía no se ha llegado a un consenso claro sobre cuál es la vía de administración que más eficacia presenta y más útil es. En la administración con antibióticos se sabe que tiene importancia la secuencialidad en las administraciones así como el orden de administración cuando se trata de varios fagos para evitar las resistencias, pero no se tiene una respuesta clara sobre el protocolo clínico para estas administraciones, ni se conoce el espacio de tiempo entre las administraciones para obtener los mejores resultados terapéuticos, ya que se sospecha que depende de cada una de las combinaciones, por lo que será necesario ampliar los estudios de cada caso con el fin de optimizarlos<sup>26</sup>.

Respecto a los datos mostrados en la presente revisión bibliográfica, la terapia con fagos podría ser implantada en primera instancia en las infecciones respiratorias, debido a la alta importancia que estas presentan y a los escasos tratamientos que ahora hay presentes. Además los datos clínicos que se han mostrado han sido en su mayoría favorables para estas infecciones, por lo que la utilidad clínica aparente de la terapia con fagos podría ser en primer lugar para las infecciones respiratorias.

Por tanto, a pesar de que existen numerosos estudios muy recientes que demuestran la efectividad de la fagoterapia en infecciones por bacterias superresistentes, y la innegable necesidad de encontrar una alternativa terapéutica, todavía no se vislumbra un escenario cercano donde podamos considerar la terapia con bacteriófagos como una estrategia coadyuvante o alternativa a los antibióticos. Los bacteriófagos deben seguir siendo investigados

con el fin de asegurar que no producen ningún efecto nocivo, así como asegurarse de las condiciones óptimas de tratamiento para abordar las esperadas resistencias y tolerancias que son capaces de crear. Asimismo, son escasos los centros de distribución que trabajan con fagos, lo que hace muy difícil el acceso de los pacientes a este tratamiento. Son evidentes los obstáculos que encontramos para el establecimiento de la terapia con fagos en el siglo XXI, sin embargo, la gran amenaza sanitaria mundial actual que supone la resistencia a los antibióticos, pone en evidencia lo necesario que es ampliar las investigaciones y estudios de esta terapia.

## **7. CONCLUSIONES**

- La fagoterapia es una estrategia prometedora frente a las infecciones resistentes que no presentan otra opción de tratamiento.
- La gran especificidad contra una bacteria en concreto es lo que más atrae del uso de bacteriófagos en infecciones recurrentes, pero también se plantea como una principal limitación debido a la dificultad para conseguir encontrar el bacteriófago ideal para una determinada bacteria.
- La combinación de varios bacteriófagos (cóctel) presenta ventajas importantes frente a la utilización de uno solo, con el fin de hacer frente a las resistencias con la mayor eficacia y seguridad.
- El uso sinérgico de bacteriófagos y antibióticos presenta mejores resultados clínicos que su uso de forma individual, ya que además de ser beneficioso para las resistencias, entre ellos se potencian los mecanismos de acción para conseguir un resultado óptimo.
- A pesar de tener resultados positivos y esperanzadores en la terapia con bacteriófagos, todavía hace falta ampliar la investigación tanto básica como clínica para optimizar el abordaje terapéutico con esta estrategia.
- Una limitación importante del uso de bacteriófagos es que existen escasos centros que investiguen y dispongan de fagos (fagotecas), por lo que se hace muy complicado utilizarlos para el tratamiento de infecciones resistentes limitando en gran medida la evidencia clínica disponible.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Consejo de la Unión Europea. Resistencia antimicrobiana [Internet]. [citado 1 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.consilium.europa.eu/es/infographics/antimicrobial-resistance/>
2. Atalab. ¿Qué causa resistencia a los antibióticos? [Internet] Asunción: Atalab; [citado 2024 May 1] Disponible en: <https://atalab.com.py/que-causa-resistencia-a-los-antibioticos/>
3. Redacción. Superbacterias: la pandemia silenciosa que suponen para la salud sanitaria [Internet]. Sevilla: Diario de Sevilla; 2023 Sep 17 [citado 2024 May 1] Disponible en: [https://www.diariodesevilla.es/salud/investigacion-tecnologia/Superbacterias-pandemia-silenciosa-suponen-sanitaria\\_0\\_1863413804.html](https://www.diariodesevilla.es/salud/investigacion-tecnologia/Superbacterias-pandemia-silenciosa-suponen-sanitaria_0_1863413804.html)
4. Navarro L, Cerpa J. Evolución y contexto de la resistencia bacteriana: una visión histórica [Internet]. Santiago de Chile: Revista Chilena de Infectología; 2009 [citado 2024 May 1];26(2):117-122. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-48162009000200014](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-48162009000200014)
5. Tejedor R. Acción de los antibióticos: perspectivas para la medicación antimicrobiana [Internet]. Elsevier Offarm; 2003 [citado 2024 May 1] Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
6. Instituto de Salud Carlos III. Memoria EARS-Net 2020 [Internet]. Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2020 [citado 2020 May 1] Disponible en: <https://www.isciii.es/QuienesSomos/CentrosPropios/CNM/ResistenciasAntibacterianas/Investigacion/SiteAssets/Paginas/OtrosResultados/Memoria%20EARS-Net-2020.pdf>
7. Plan Nacional de Resistencia a los Antibióticos. Plan Nacional de Resistencia a los antibióticos (PRAN) 2022-2024 [Internet] Madrid: PRAN; 2022 [citado 2024 May 1] Disponible en: <https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/2022-09/Plan%20Nacional%20Resistencia%20Antibi%C3%B3ticos%20%28PRAN%29%202022-2024.pdf>
8. Monclús MJ. Tratamientos prometedores contra las bacterias resistentes: investigación de nuevos antibióticos y alternativas para las infecciones microbianas [Internet]. Barcelona: ISGlobal; 2022 Sep 30 [citado 2024 May 1] Disponible en: <https://www.isglobal.org/healthisglobal/-/custom-blog-portlet/tratamientos-prometedores-contras-las-bacterias-resistentes-investigacion-de-nuevos-antibioticos-y-alternativas-para-las-infecciones-microbianas>
9. Avendaño CE, Castaño A. Resistencia bacteriana y el uso de antibióticos [Internet] Medellín: Revista Colombiana de Gastroenterología; 2020 [citado 2024 May 1];35(3):329-338. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcgv/v35n3/0120-9957-rcg-35-03-329.pdf>



10. Prendergast AJ, Hartley JC. Infecciones neonatales y resistencia a los antimicrobianos: un problema creciente [Internet]. *Clinical Infectious Diseases*; 2023 [citado 2024 May 1];77(Supplement 7):S597-603. Disponible en: [https://academic.oup.com/cid/article/77/Supplement\\_7/S597/7481752?login=false](https://academic.oup.com/cid/article/77/Supplement_7/S597/7481752?login=false)
11. Bosman KJ, Dootfuijn DJ, Meijlink SW, Schimmel KJMG, Kampinga GA, Kraneveld AD. Infección crónica, inflamación y su relación con enfermedades neurodegenerativas [Internet] *Frontiers in Immunology*; 2023 [citado 2024 May 1]; 14:1065353. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1065353/full>
12. Li Z, Lu Y, Zhou H, Xu J, Xu P, Zheng X. Aplicaciones de bacteriófagos en el control de infecciones resistentes a los antibióticos [Internet]. *Expert Opinion on Drug Discovery*; 2018 [citado 2024 May 1];13(9):783-797. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17460441.2018.1514386>
13. CAEME. Nanotecnología antimicrobiana: beneficios y aplicaciones [Internet]. Buenos Aires: Cámara Argentina de Especialidades Medicinales; [citado 2024 May 1]. Disponible en: <https://www.caeme.org.ar/nanotecnologia-antimicrobiana-beneficios/>
14. UZ Leuven. Bacteriophage therapy [Internet]. Leuven: UZ Leuven; [citado 2024 May 1]. Disponible en: <https://www.uzleuven.be/en/bacteriophage-therapy>
15. Microbiologia.net. Bacteriófagos: virus que infectan bacterias [Internet]. [citado 2024 May 1]. Disponible en: <https://microbiologia.net/virus/de-bacterias/>
16. Pires DP, Costa AR, Pinto G, Meneses L, Azeredo J. Current challenges and future opportunities of phage therapy. *FEMS Microbiol Rev*. 2020 Nov 24;44(6):684-700. doi: 10.1093/femsre/fuaa017. PMID: 32472938.
17. Haidar G, Chan BK, Cho ST, Hughes Kramer K, Nordstrom HR, Wallace NR, Stellfox ME, Holland M, Kline EG, Kozar JM, Kilaru SD, Pilewski JM, LiPuma JJ, Cooper VS, Shields RK, Van Tyne D. Phage therapy in a lung transplant recipient with cystic fibrosis infected with multidrug-resistant *Burkholderia multivorans*. *Transpl Infect Dis*. 2023 Apr;25(2):e14041. doi: 10.1111/tid.14041. Epub 2023 Mar 2. PMID: 36864824; PMCID: PMC10085838.
18. Wienhold SM, Brack MC, Nouailles G, Krishnamoorthy G, Korf IHE, Seitz C, Wienecke S, Dietert K, Gurtner C, Kershaw O, Gruber AD, Ross A, Ziehr H, Rohde M, Neudecker J, Lienau J, Suttorp N, Hippenstiel S, Hocke AC, Rohde C, Witzenrath M. Preclinical Assessment of Bacteriophage Therapy against Experimental *Acinetobacter baumannii* Lung Infection. *Viruses*. 2021 Dec 24;14(1):33. doi: 10.3390/v14010033. PMID: 35062236; PMCID: PMC8778864.
19. Rao S, Betancourt-Garcia M, Kare-Opaneye YO, Swierczewski BE, Bennett JW, Horne B, Fackler J, Suazo Hernandez LP, Brownstein MJ. Critically Ill Patient with Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Respiratory Infection Successfully Treated with Intravenous and Nebulized Bacteriophage Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Jan 18;66(1):e0082421. doi: 10.1128/AAC.00824-21. Epub 2021 Oct 18. PMID: 34662188; PMCID: PMC8765271.

20. Dedrick RM, Smith BE, Cristinziano M, Freeman KG, Jacobs-Sera D, Belessis Y, Whitney Brown A, Cohen KA, Davidson RM, van Duin D, Gainey A, Garcia CB, Robert George CR, Haidar G, Ip W, Iredell J, Khatami A, Little JS, Malmivaara K, McMullan BJ, Michalik DE, Moscatelli A, Nick JA, Tupayachi Ortiz MG, Polenakovik HM, Robinson PD, Skurnik M, Solomon DA, Soothill J, Spencer H, Wark P, Worth A, Schooley RT, Benson CA, Hatfull GF. Phage Therapy of Mycobacterium Infections: Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant Mycobacterial Disease. *Clin Infect Dis*. 2023 Jan 6;76(1):103-112. doi: 10.1093/cid/ciac453. PMID: 35676823; PMCID: PMC9825826.
21. Rimon A, Rakov C, Lerer V, Sheffer-Levi S, Oren SA, Shlomov T, Shasha L, Lubin R, Zubeidat K, Jaber N, Mujahed M, Wilensky A, CopenhagenGlazer S, Molho-Pessach V, Hazan R. Topical phage therapy in a mouse model of *Cutibacterium acnes*-induced acne-like lesions. *Nat Commun*. 2023 Feb 22;14(1):1005. doi: 10.1038/s41467-023-36694-8. PMID: 36813793; PMCID: PMC9947178.
22. Rostkowska OM, Międzybrodzki R, Miszewska-Szyszkowska D, Górski A, Durlik M. Treatment of recurrent urinary tract infections in a 60-year-old kidney transplant recipient. The use of phage therapy. *Transpl Infect Dis*. 2021 Feb;23(1):e13391. doi: 10.1111/tid.13391. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32599666.
23. Hesse S, Malachowa N, Porter AR, Freedman B, Kobayashi SD, Gardner DJ, Scott DP, Adhya S, DeLeo FR. Bacteriophage Treatment Rescues Mice Infected with Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* ST258. *mBio*. 2021 Feb 23;12(1):e00034-21. doi: 10.1128/mBio.00034-21. PMID: 33622728; PMCID: PMC8545083.
24. Laanto E. Overcoming Bacteriophage Resistance in Phage Therapy. *Methods Mol Biol*. 2024;2738:401-410. doi: 10.1007/978-1-0716-3549-0\_23. PMID: 37966611.
25. Hitchcock NM, Devequi Gomes Nunes D, Shiach J, Valeria Saraiva Hodel K, Dantas Viana Barbosa J, Alencar Pereira Rodrigues L, Coler BS, Botelho Pereira Soares M, Badaró R. Current Clinical Landscape and Global Potential of Bacteriophage Therapy. *Viruses*. 2023 Apr 21;15(4):1020. doi: 10.3390/v15041020. PMID: 37113000; PMCID: PMC10146840.
26. Morrisette T, Kebriaei R, Lev KL, Morales S, Rybak MJ. Bacteriophage Therapeutics: A Primer for Clinicians on Phage-Antibiotic Combinations. *Pharmacotherapy*. 2020;40(2):153-68.
27. Sanchez-Torres V, Kirigo J, Wood TK. Implications of lytic phage infections inducing persistence. *Curr Opin Microbiol*. 2024 May 6;79:102482. doi: 10.1016/j.mib.2024.102482. Epub ahead of print. PMID: 38714140.
28. Lewis JM, Williams J, Sagona AP. Making the leap from technique to treatment - genetic engineering is paving the way for more efficient phage therapy. *Biochem*

- Soc Trans. 2024 May 8;BST20231289. doi: 10.1042/BST20231289. Epub ahead of print. PMID: 38716972.
29. Nang SC, Lin YW, Petrovic Fabijan A, Chang RYK, Rao GG, Iredell J, Chan HK, Li J. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of phage therapy: a major hurdle to clinical translation. *Clin Microbiol Infect.* 2023 Jun;29(6):702-709. doi: 10.1016/j.cmi.2023.01.021. Epub 2023 Feb 2. PMID: 36736661.
  30. Loganathan A, Bozdogan B, Manohar P, Nachimuthu R. Phage-antibiotic combinations in various treatment modalities to manage MRSA infections. *Front Pharmacol.* 2024 Apr 9;15:1356179. doi: 10.3389/fphar.2024.1356179. PMID: 38659581; PMCID: PMC11041375.
  31. Yoo S, Lee K-M, Kim N, Vu TN, Abadie R, Yong D. Designing phage cocktails to combat the emergence of bacteriophage-resistant mutants in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol Spectr.* 2024 Jan 11;12(1):e0125823. doi: 10.1128/spectrum.01258-23. Epub 2023 Nov 29. PMID: 38018985; PMCID: PMC10783003.
  32. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). El CSIC incorpora los retos de la robótica, nanotecnología e inteligencia artificial en el nuevo plan estratégico de biomedicina [Internet]. 2023 [citado 2024 May 9]. Disponible en: <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/el-csic-incorpora-los-retos-de-la-robotica-nanotecnologia-e-inteligencia-artificial-en-el-nuevo-plan-estrategico-de-biomedicina>