

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Fagoterapia: una alternativa emergente en la era de la multiresistencia antibiótica

Leda Guzzi 

RESUMEN

La creciente resistencia antimicrobiana asociada a la crisis en la producción de nuevos antibióticos y las consecuencias humanas y económicas de este fenómeno constituyen un complejo escenario que requiere el urgente desarrollo de estrategias antimicrobianas alternativas. Los bacteriófagos son virus que infectan y lisan bacterias. Si bien se conocen desde hace más de un siglo, en las últimas dos décadas la administración de bacteriófagos ha ganado popularidad en todo el mundo. Existe un extenso cuerpo de evidencia preclínica y clínica que posiciona a la fagoterapia como una de las principales herramientas para el tratamiento de infecciones difíciles de tratar. Aunque esto es conceptualmente promisorio, su implementación está limitada por la escasez de datos clínicos de seguridad y eficacia, obtenidos acorde a los estándares científicos actuales. Esta revisión describe los datos más relevantes acerca de la biología de los fagos, los aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos conocidos hasta la actualidad, los temas regulatorios y los resultados clínicos más relevantes.

Palabras clave: fagoterapia, bacteriófagos, fagos, infecciones difíciles de tratar, resistencia antimicrobiana.

Clínica Olivos, Swiss Medical Group, Vicente López, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
Hospital Maternidad Santa Rosa, Vicente López, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
Sociedad Argentina de Infectología.

Autora para correspondencia: Leda Guzzi. Av Maipú 1660, Florida, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
ledaguzzi@hotmail.com

Recibido: 26/1/23 **Aceptado:** 6/6/23

La autora notifica que no existen conflictos de interés a declarar. Sin fuentes de financiamiento.

Introducción

El fenómeno de resistencia a los antimicrobianos (RAM), advertido por primera vez por Sir Alexander Fleming, poco tiempo después del descubrimiento de la penicilina, se agravó seriamente en las últimas dos décadas y se aceleró de manera muy preocupante con la pandemia por COVID-19 (1-3). Esto supone una amenaza a la esencia misma de la medicina moderna y a la sostenibilidad de una respuesta de salud pública mundial frente a las enfermedades infecciosas (4). Los antimicrobianos eficaces son imprescindibles para curar, prevenir y proteger a los pacientes frente a enfermedades infecciosas potencialmente mortales y para garantizar que se puedan llevar a cabo procedimientos complejos como cirugías y quimioterapia con menores riesgos (4). Se estima que solo en 2019 se produjeron 1.27 millones de muertes directamente atribuibles a la RAM y que de no mediar intervenciones para 2050 ocasionará 50 millones de muertes anuales (5, 6).

Pero las consecuencias de la RAM van más allá del aumento de los riesgos para la salud y tienen implicancias directas en las posibilidades de desarrollo de las sociedades. La resistencia a los antimicrobianos erosiona la economía mundial, con pérdidas económicas secundarias por la menor productividad a causa de la enfermedad de los seres humanos y también de los animales, y por el incremento de los costos del tratamiento (4). Este escenario, ya de por sí complejo, se ve oscurecido por la crisis en la producción de nuevos antibióticos, dado el alto costo del desarrollo de nuevas moléculas, el tiempo que esto demanda y la escasa vida útil de las mismas, por la rápida emergencia de resistencia (7). En este contexto, la OMS y la Organización de Naciones Unidas recomendaron un plan de acción que entre otros aspectos promueve la investigación y el desarrollo de nuevas terapias antibacterianas para hacer frente a las enfermedades infecciosas (4 y 8).

Este inquietante escenario motivó un renovado interés por los bacteriófagos o fagos, que no son más que virus con capacidad para reconocer, infectar y destruir bacterias (9).

Desarrollo

Un poco de historia

Los bacteriófagos se conocen desde hace más de 100 años, incluso desde antes del descubrimiento de los an-

tibióticos. Las primeras observaciones de la actividad de los fagos fueron reportadas por el investigador británico Ernest Hanbury Hankin, quien en 1896 estudió la influencia del agua del río Ganges sobre *Vibrio cholerae*. El agua del río, gracias a la presencia de fagos específicos, eliminó a la bacteria del cólera (10).

Durante la Primera Guerra Mundial, otro científico británico, Fredrick Twort, y el científico francés Felix d'Herelle detectaron por primera vez zonas claras de lisis, libres de bacterias en medios de cultivo sólidos (10, 11). d'Herelle propuso de entrada que el fenómeno estaba causado por un virus capaz de parasitar y "comer" a las bacterias y él mismo postuló el nombre de "bacteriófagos". d'Herelle comenzó a aplicar este hallazgo en la práctica clínica para tratar infecciones bacterianas humanas y animales, y esto se considera el comienzo de la fagoterapia, siendo el hito inicial el tratamiento de un brote de disentería hemorrágica grave entre las tropas francesas estacionadas en Maisons-Laffitte en las afueras de París, en julio de 1915. Por esta idea fue nominado ocho veces al Premio Nobel, cada año desde 1925, aunque nunca fue recompensado con uno (12).

El éxito de d'Herelle hizo que varias compañías de EE. UU., Francia y Alemania se interesaran por el tema y se dedicaran a producir bacteriófagos para su empleo contra enfermedades infecciosas. De hecho, la terapia con fagos se usó en varios países desarrollados con un éxito variable hasta 1934, aproximadamente, momento en el que comenzaron las primeras críticas, porque se desconocía la naturaleza exacta de los fagos, y porque su preparación no había sido estandarizada ni se habían establecido criterios claros para poder comparar los resultados de distintas investigaciones. Sin embargo, la cancelación total de la fagoterapia en occidente sobrevino luego del descubrimiento de los antibióticos, con su potente actividad, amplio espectro y estabilidad durante su preparación. Por eso, a finales de los 40, los antibióticos terminaron de eclipsar a los fagos y después de la Segunda Guerra Mundial la fagoterapia se abandonó en el mundo occidental (13-15).

No obstante, en el ámbito soviético la fagoterapia continuó su desarrollo, especialmente en Georgia y Polonia. d'Herelle y Georgi Eliava fundaron un instituto de fagos en Tbilisi, Georgia, en 1923. El instituto comenzó a producir preparados de fagos para diversas indicaciones, y esa actividad aún continúa en Tbilisi (16). La producción de fagos también se inició en otras ciudades de la Unión

Soviética y continúa en la Rusia actual (17). Durante décadas, el Instituto Eliava de Georgia y el Instituto Ludwik Hirszfeld de Polonia proporcionaron terapias con fagos a cientos de pacientes nacionales y de otros países y han publicado diversos estudios y reportes de casos que pasaron desapercibidos para la comunidad científica internacional durante muchos años, posiblemente porque la mayoría de ellos estaban escritos en ruso (18).

La creciente aparición de cepas bacterianas multirresistentes rescató el interés no solo en los fagos sino también en algunos productos codificados por ellos, como las endolisinas. En la actualidad, diversos hospitales de países europeos como Bélgica, Finlandia y Francia, entre otros, e incluso EE. UU., han desarrollado biobancos de fagos y están produciendo estudios con datos clínicos relevantes (18, 19).

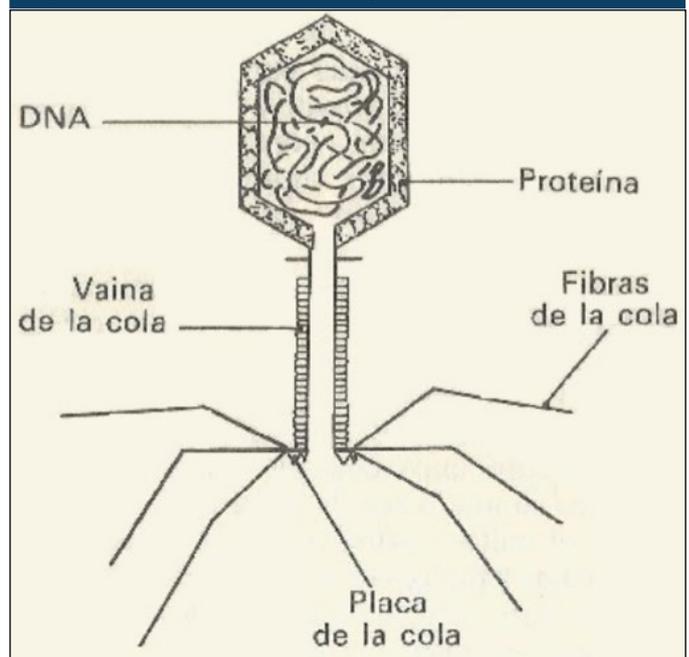
¿Qué son los fagos?

Los bacteriófagos o fagos son virus con capacidad para infectar y lisar bacterias. Son los microorganismos más abundantes en la naturaleza, con aproximadamente 10^{31} fagos como masa biológica (20). Cumplen funciones ecosistémicas esenciales, ya que actúan como “predadores bacterianos” que ayudan a evitar el sobrecrecimiento de las bacterias en la naturaleza. Se aíslan fácilmente del suelo, cuerpos de agua, heces y aguas residuales (21). Su ciclo de vida implica la lisis y la muerte de la bacteria hospedadora, de ahí su potencial utilidad terapéutica para tratar algunas infecciones.

La estructura de los fagos

Aunque los fagos presentan una variedad de estructuras morfológicas y tipos de genoma, la mayoría de ellos tienen ADN de doble cadena, empaquetado dentro de una cápside o cabeza icosaédrica y una cola que el fago utiliza para adsorberse en su bacteria huésped y a través de la cual inyecta el material genético en el citoplasma de la célula bacteriana. La cola tiene además algunas fibras que interactúan con receptores de la pared bacteriana (22) (ver Figura 1). La cola puede ser contráctil o no contráctil, corta o larga, lo que permite la clasificación viral como miovirus, podovirus y sifovirus. Por su enorme abundancia, gran diversidad genética y relativa facilidad de aislamiento, los fagos proporcionan una fuente ilimitada de agentes antibacterianos (18).

Figura 1. Estructura de un fago



Tomado de Utilización de los virus en genética. Biología. Francisco Javier Mendivil Navarro. Fecha: 19 dic 2022 <https://www.naturalezadearagon.com/biologia/virus-utilizacion.php>

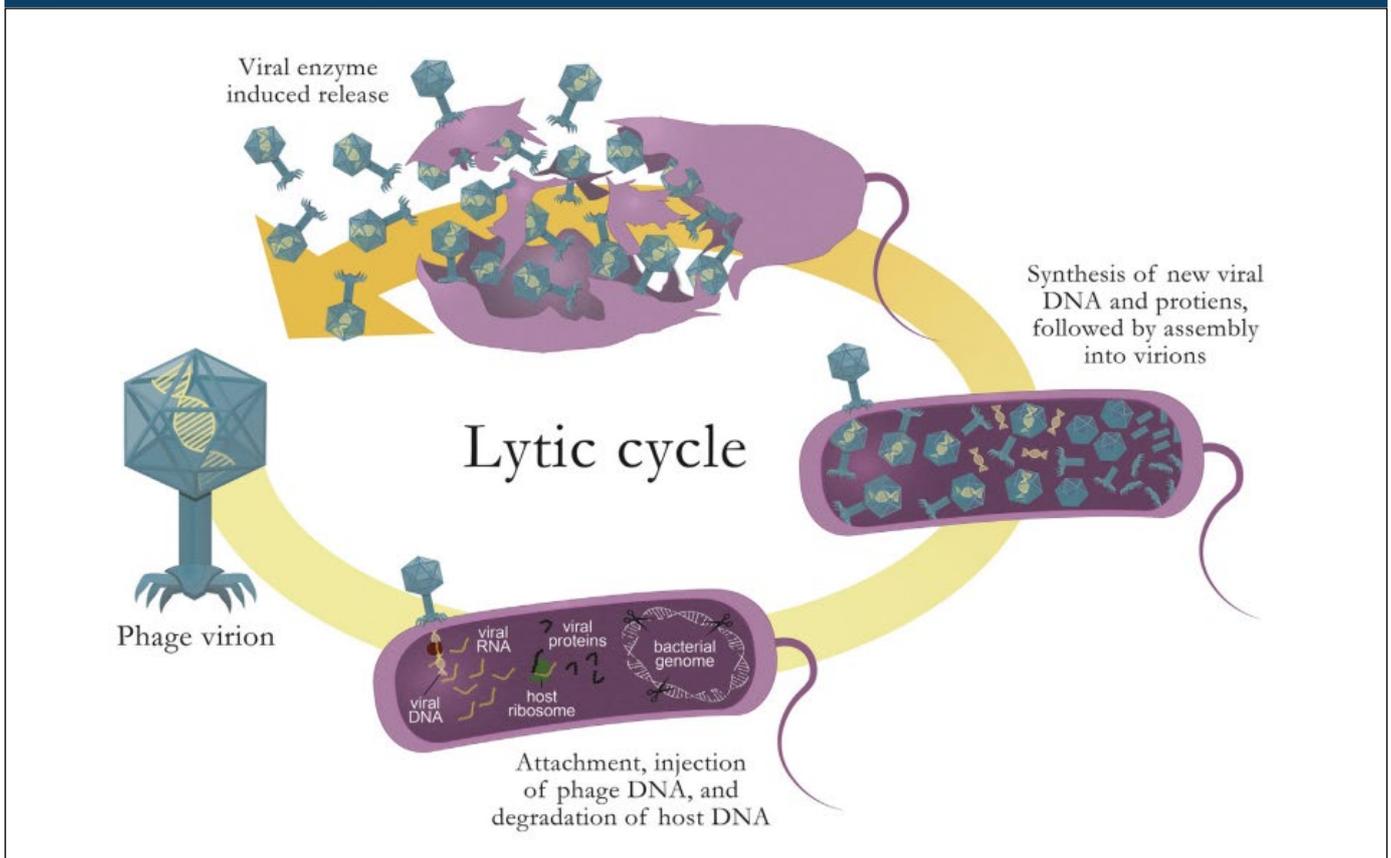
La infección por fagos tiene lugar luego de que las fibras de la cola del virus se unen de manera irreversible a receptores específicos en la pared celular bacteriana. Estos receptores son diversos e incluyen los lipopolisacáridos (endotoxinas), el ácido teicoico, los *pillis*, las proteínas de la membrana externa, las bombas de eflujo y los polisacáridos. Esta estricta compatibilidad hace que los fagos sean **específicos contra objetivos bacterianos** y **que carezcan de tropismo por las células de mamíferos**.

Ciclos vitales de los fagos y propiedades biológicas

Como parásitos intracelulares obligados de bacterias, los fagos pueden presentar dos ciclos de vida diferentes en la célula hospedadora: el lítico y el lisogénico.

En el **ciclo lítico, también llamado virulento**, el fago inyecta su genoma en la bacteria huésped, “secuestra” sus organelas, expresa sus genes virales, luego de lo cual se produce el ensamble de las partículas del fago y la liberación de la progenie en el medio ambiente (ver Figura 2). A continuación, los nuevos viriones repiten este proceso a medida que infectan células susceptibles adicionales.

Figura 2. Ciclo lítico de un fago



Tomado de Luong T, et al. Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going? Clin Ther. 2020 Sep;42(9):1659-1680. doi: 10.1016/j.clinthera.2020.07.014. Epub 2020 Aug 31. PMID: 32883528.

<https://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149-2918%2820%2930348-9/fulltext#bib12> (18)

Ciclo de infección lítica de fagos virulentos. Paso 1: adsorción: unión de las fibras de la cola al receptor específico en la pared celular bacteriana. Paso 2: inyección: el ADN viral penetra en el huésped a través de la cola del fago. Paso 3: síntesis de proteínas y secuestro del huésped. Los genes virales dirigen la síntesis de proteínas virales utilizando la maquinaria del huésped. Pasos 4 y 5: síntesis y ensamblaje del genoma viral. Paso 6: liberación de viriones que ocurre a través de hidrolasas de peptidoglicano virales (endolisinas) que median la lisis de la célula huésped. Se liberan hasta 200 fagos infecciosos.

Esto pone de relieve uno de los beneficios de la fagoterapia, que es la **capacidad autoamplificadora** en el sitio de acción. La lisis celular es el resultado de la acción de endolisinas virales que rompen los enlaces del peptidoglicano, desestabilizan a la célula y favorecen su ruptura osmótica (23). Una infección exitosa por un fago lítico siempre conduce a la lisis bacteriana.

En el **ciclo lisogénico**, también conocido como **latente o atemperado**, el genoma viral se inserta en el cromosoma bacteriano en forma de profago y se transmite de manera horizontal en cada división celular a las células hijas. Sin embargo, en un momento posterior, bajo perturbación ambiental u otro factor de estrés fisiológico, el fago lisogénico se escinde del genoma bacteriano, se sintetizan todos los componentes del fago conformando el virión

y se producen endolisinas, que conducen a la lisis bacteriana (24). Las más comunes son las hidrolasas, como la mureín-hidrolasa que actúa sobre los puentes peptídicos de la pared celular, desintegrándola. También se sintetizan hollinas, que son pequeñas proteínas que actúan sobre la membrana interna, la hidrolizan y permiten que las endolisinas lleguen al espacio periplásmico y actúen sobre el péptido glicano. En bacilos Gram negativos también se producen espaninas que acercan y fusionan las membranas interna y externa de la bacteria y facilitan la lisis.

Además, los fagos producen exolisinas (polisacáridos de polimerasas, hidrolasas del peptidoglicano y del ácido teicoico) que facilitan la penetración del genoma del fago. Una vez que las partículas de fago son liberadas al medio

ambiente, flotan hasta que encuentran una nueva bacteria huésped para repetir el ciclo de vida nuevamente. Esto continuará mientras haya bacterias huésped alrededor. Los fagos no se mueven activamente y, por lo tanto, están a merced de sus posibilidades ambientales y se encontrarán con la nueva bacteria huésped en el líquido o suelo circundante completamente por casualidad. Una consecuencia de esto es que los fagos se han vuelto muy robustos durante su larga evolución y pueden esperar la aparición de una nueva bacteria huésped durante mucho tiempo sin perder su infectividad (10).

Cada tipo de fago es **específico de un determinado género bacteriano** e incluso de una única especie dentro del mismo, lo cual determina un espectro estrecho. Esta especificidad bacteriana es **independiente de los mecanismos de resistencia que la bacteria tenga frente a los antibióticos** y es por esto que los fagos pueden ser activos tanto frente a aislamientos sensibles como frente a los multidrogo-resistentes (25).

Un aspecto importante a destacar respecto de los fagos lisogénicos es que tienen una capacidad inherente para **mediar en la transferencia de genes entre bacterias**, por transducción especializada, un evento que **puede incrementar la virulencia bacteriana o promover la antibioco-resistencia**. Esto suele descalificar a los fagos latentes como fagos con propósitos terapéuticos. Sin embargo, los avances en biología sintética han provisto nuevas oportunidades para el uso de estos fagos a través de la remoción de los genes llamados lisogénicos (26, 27). De hecho, esta modalidad se está utilizando para *Clostridiodes difficile* y para *Mycobacterium abscessus* (26, 28).

Una característica distintiva de la fagoterapia es la potencial **utilización de dosis bajas** debido a la capacidad de **autorreplicación y aumento de la concentración de los fagos en el sitio de infección**. Este fenómeno es inócuo dependiente y, para que se produzca, la concentración bacteriana objetivo debe estar por encima de un umbral de replicación estimado en $\geq 10^4$ UFC/mL (29).

Selección de fagos

No todos los fagos son candidatos para propósitos terapéuticos. Como se mencionó antes, **se prefieren los fagos virulentos** con ciclos de replicación líticos porque la lisis celular es indefinida y existe un riesgo reducido de transferencia génica horizontal mediada por virus, a través de la transducción (30).

En general, un buen candidato a fago para la terapia es aquel que infecta una amplia gama de cepas bacterianas. Existe evidencia de que los miovirus exhiben una amplia gama de huéspedes. Por ejemplo, un único fago es capaz de lisar 17 de 28 aislamientos clínicos de *S. aureus* (31). Por el contrario, los fagos de rango estrecho pueden presentar otras oportunidades terapéuticas. Por ejemplo, centrarse en una cepa frecuente y específica de bacterias patógenas podría evitar los efectos adversos asociados con la disbiosis del microbioma del huésped que, si bien es inusual, está descrita asociada a los cócteles de fagos (32).

Otra característica importante en la selección de fagos es su capacidad natural para actuar sobre bacterias empaquetadas en **biopelículas** (33). De hecho, algunos fagos portan depolimerasas en las fibras de la cola, que degradan los exopolisacáridos de la biopelícula y de esa forma “desenmascaran” los receptores celulares de las células planctónicas albergadas en las biopelículas (33, 34). A medida que los fagos van lisando las bacterias periféricas, dentro de la matriz del *biofilm*, las bacterias centrales se van exponiendo a mayores concentraciones de oxígeno y nutrientes, lo que las activa metabólicamente y las vuelve más sensibles al ataque de los fagos. Sin embargo, es importante saber que ciertos fagos penetran pobremente la matriz del biofilm y otros, incluso, pueden promover la expresión de un fenotipo mucoso en las bacterias huésped, lo que incluso facilita la formación de biopelículas (33).

La **secuenciación del genoma de los fagos** y la construcción de **bases de datos internacionales** donde esta información se vuelca y se comparte son claves para facilitar la identificación de características genéticas indeseables y para descartar rápidamente cepas de fagos no adecuadas en función de las homologías con genes ya conocidos e informados (35-37). Por ejemplo, portar genes represores e integrasas asociadas con la lisogenia, o genes de virulencia bacteriana, toxinas y/o resistencia a los antibióticos descalificaría un fago para la terapia humana (38, 39). De todas maneras, en situaciones en las que es difícil aislar un fago lítico, es posible, como ya se mencionó, eliminar los genes con características indeseables a través de ingeniería genética, volviendo apto a un fago lisogénico (27, 40).

El almacenamiento prolongado de fagos es otra consideración importante. Los fagos se purifican en una solución tamponada, se concentran y se mantienen protegidos de la luz a 4 °C (41). Aun con buenas condiciones de

almacenamiento, los recuentos de fagos generalmente se reducen durante los siguientes meses. La crioconservación puede minimizar la pérdida de fagos, pero estos pueden inactivarse con repetidos ciclos de congelación y descongelación (41). El almacenamiento a largo plazo también es factible con la liofilización de fagos (secado por congelación) utilizando aditivos estabilizadores (42). Aunque la liofilización no es compatible con la mayoría de las aplicaciones clínicas, puede ser adecuada para las terapias con fagos inhalados (43).

Formulación y administración

En la práctica clínica, los fagos pueden administrarse de tres maneras diferentes.

La primera y la más utilizada en la práctica clínica es en forma de **cóctel o mezcla fija de fagos** (27, 44, 45). Esta modalidad tiene varios beneficios:

1. Permite el tratamiento de múltiples especies bacterianas a la vez.
2. Mayor potencia por la acción de múltiples cepas de fagos que atacan la misma bacteria.
3. Limitación de la resistencia al forzar a la bacteria objetivo a desarrollar resistencia a múltiples fagos simultáneamente para sobrevivir (46).

El inconveniente es que cada fago que compone el cóctel requiere una reducción en la dosis individual para poder coformularse. También existe la posibilidad de que los fagos interfieran entre sí, por ejemplo, compitan por el mismo receptor de la célula bacteriana y generen resistencia cruzada (47). Los cócteles se fabrican bajo la producción actual de "Buenas Prácticas de Manufactura", y los productos finales se someten a pruebas clínicas de seguridad y eficacia por etapas (48).

La otra modalidad de administración consiste en la utilización de un solo fago dirigido con precisión a una cepa bacteriana específica (49, 50). Esta modalidad requiere: la **preparación magistral del fago** según la vía de administración elegida, tener identificada claramente a la bacteria patógena y contar previamente con bibliotecas grandes y diversas de fagos purificados (bancos de fagos) (19, 51). Esta modalidad no debería usarse empíricamente, por el riesgo de fallo asociado a insensibilidad bacteriana al fago. Por último, no siempre se cuenta con

un fago en el biobanco dirigido contra una determinada bacteria.

La tercera modalidad de administración es la fabricación de **productos de fagos personalizados, aislados de novo** para cubrir una necesidad específica de un paciente (27, 45, 52, 53). Bajo esta estrategia, y contando con los recursos apropiados, los fagos pueden modificarse genéticamente en forma continua para responder, por ejemplo, a la resistencia a los fagos (45, 54, 55). La principal dificultad es que el aislamiento del fago y la manufactura del producto puede demandar semanas o meses.

Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas

Las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fagos *in vivo* son complicadas y en gran parte desconocidas (56, 57). Para que los fagos sean efectivos deben llegar al sitio de infección en concentraciones suficientes e infectar la mayor cantidad posible de bacterias objetivo, sin causar daño al paciente. Por el contrario, la eliminación de fagos del sitio de infección es un factor importante para terminar la acción lítica.

Las propiedades PK del fago son únicas debido a su tamaño relativamente grande, aproximadamente 100 veces más grande que las moléculas de antibióticos y 10 veces más que los anticuerpos. Además, los fagos cuentan con varias proteínas diferentes, que pueden activar al sistema inmune y favorecer su eliminación por el sistema reticuloendotelial y también la neutralización a través de anticuerpos antifagos (58).

La eficacia de los fagos para penetrar en cuerpos humanos o animales depende en gran medida de la vía de administración. La vía oral, por ejemplo, transporta eficazmente los fagos al tracto gastrointestinal, con un paso competente a través del estómago. La concentración que se alcanza en los sectores distales del tracto digestivo depende de la velocidad del tránsito intestinal. Así, en un estudio, los recuentos de fagos fecales alcanzaron un máximo de $3,0 \times 10^4$ UFP/g (unidad formadora de placas por gramo) después del consumo oral de $1,5 \times 10^7$ UFP en agua mineral tres veces al día (59). Sin embargo, los pacientes tratados por vía oral con fagos para el cólera agudo a una dosis de 10^{13} UFP/g tenían concentraciones fecales apenas inferiores, de $>10^{11}$ UFP/g en material fecal (60). Sin embargo, la absorción de los fagos en la sangre fue muy inferior, alcanzando solo 10^2

UFP/mL en sangre periférica minutos después de la administración (60).

Los fagos pueden penetrar fácilmente en la mayoría de los órganos, aunque se acumulan en el bazo y el hígado (18).

En modelos murinos, los fagos administrados por vía endovenosa se distribuyen en los órganos, penetrando incluso en los alvéolos pulmonares (61). Luego de un único bolo intravenoso de 1 ml de 10^{10} UFP/ml, se constató una vida media de 2,3 y 9 h en el plasma y en los tejidos (bazo, riñón, hígado y pulmón) de ratas, respectivamente (62). No obstante, la infusión continua de 0,1 ml/h durante 24 h de la misma mezcla de fagos y el mismo título dio como resultado que el plasma aumentara progresivamente la concentración, alcanzando una meseta de 10^7 UFP/ml después de 6 h, que es comparable con la concentración alcanzada después de la inyección en bolo (62).

En humanos, después de una dosis de $8,5 \times 10^7$ UFP en 4 ml de fagos diluidos en solución de Ringer lactato, administrada a través de un catéter periférico, los niveles de fagos fueron detectables después de 5 minutos en muestras de sangre, pero fueron indetectables después de 50 minutos (63). Este rápido aclaramiento de los fagos por vía endovenosa condujo a una **mayor utilización de la vía tópica o local de administración** y a la búsqueda de adyuvantes o de modificaciones genéticas que prolonguen su biodisponibilidad.

Son escasos los estudios que examinan las propiedades farmacodinámicas de los fagos, definiendo sinergia, aditividad, indiferencia, antagonismo e interacción con el sistema inmunitario del huésped.

Todavía no está claro si la dosis inicial de fagos o la replicación de fagos influye más en los resultados, así como cuál es el umbral suficiente de bacterias objetivo para permitir que la replicación de fagos supere a la replicación bacteriana (47). Es probable que la eficacia de la fagoterapia aumente a medida que empeora la infección, ya que al incrementarse el número de bacterias se facilita que los fagos se encuentren con sus huéspedes bacterianos. De todos modos, pueden surgir resultados ineficientes debido a la tendencia de los fagos a unirse a los desechos bacterianos (64).

La mayoría de los estudios de prueba de concepto de las aplicaciones terapéuticas de fagos utilizan títulos muy

altos de fagos para lograr la eficacia. Es poco probable que esas dosis se utilicen en humanos. Sin embargo, dada la **baja toxicidad de los fagos**, la fagoterapia debería tener éxito siempre que los fagos lleguen al sitio de la infección en cantidades suficientes y puedan replicarse dentro de las bacterias diana (47).

Se especula que pueden surgir reacciones adversas debido a la lisis bacteriana por parte de los fagos y/o interacciones directas entre el sistema inmunitario del huésped del mamífero y el fago y/o las toxinas bacterianas residuales en los productos de fagos (65). La liberación rápida inducida por fagos de los componentes de la pared celular bacteriana puede tener efectos adversos inmediatos para el paciente. Los estudios en animales han encontrado que la liberación de endotoxinas inducida por fagos es significativamente menor en los fagos lisogénicos en comparación con los fagos líticos, lo que conduce a una disminución de las citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral α e Interleuquina 6 (IL-6). Sin embargo, la cantidad de endotoxina liberada durante la acción de los antibióticos, especialmente los β -lactámicos, también es clínicamente importante. De hecho, Dufour *et al.* (18) encontraron que los niveles de endotoxinas liberadas por lisis bacteriana mediada por fagos eran similares a los de los antibióticos β -lactámicos *in vitro* (66).

Activación del sistema inmune

Las interacciones directas entre los fagos y el sistema inmunitario del huésped pueden inducir cascadas de señalización que pueden dar lugar a citocinas elevadas, aumento de la infiltración de células inmunitarias, aumento de la fagocitosis y activación de la inmunidad adaptativa (respuesta de células T y producción de anticuerpos por parte de las células B).

Si bien la activación del sistema inmune del huésped como consecuencia de la fagoterapia no parece ser perjudicial para los seres humanos, existen algunas evidencias que podrían dar cuenta de ciertos efectos indeseables asociados a determinadas cepas de fagos. El tratamiento de ratones con colitis murina con fagoterapia condujo a la expansión de las células inmunitarias en el intestino y aumentó la producción de interferón- γ , lo que empeoró la colitis murina (67). Por su parte, en un modelo *in vitro* de células epiteliales de pulmón humano aumentó la producción de IL-6 y factor de necrosis tumoral α en respuesta a la exposición a ciertos fagos de *Pseudomonas* (68). De manera similar, algunos fagos

estafilocócicos y pseudomonales inducen citocinas proinflamatorias, como IL-6 e Interleuquina 1 β (IL-1 β), en células dendríticas murinas, mientras que otros fagos estafilocócicos no provocaron la expresión de citoquinas de células dendríticas humanas (68, 69).

Por otra parte, se encontró que la sangre humana de los receptores de fagoterapia contiene anticuerpos antifagos IgG, IgM e IgA *in vitro*. Ciertas proteínas estructurales de los fagos pueden provocar respuestas humorales débiles después de una exposición prolongada a los fagos, lo que puede conducir a la **neutralización de los fagos por parte de anticuerpos** (70, 71). Sin embargo, se han recuperado anticuerpos antifagos de pacientes que recibieron terapia con fagos así como de aquellos que no lo han hecho, presumiblemente debido al contacto natural con los fagos durante las infecciones con bacterias asociadas (18, 58). Un ensayo de seguridad en humanos en el que se utilizaron fagos por vía oral durante dos días consecutivos no encontró anticuerpos antifágicos en sangre (59). Aunque en modelos animales el consumo oral continuo de fagos indujo anticuerpos antifágicos débiles tipo IgG después de 36 días e IgA después de 79 días (70). Estos hallazgos sugieren que la activación inmune sucede luego de varias administraciones de fagoterapia prolongadas en el tiempo.

Ocasionalmente, los anticuerpos antifágicos pueden conducir a la activación del sistema del complemento (72). Sin embargo, **no se encontró correlación entre la presencia de anticuerpos neutralizantes antifagos y el resultado de la terapia con fagos** (73). Más estudios son necesarios para esclarecer el rol de la activación del sistema inmune en la fagoterapia.

Resistencia a fagos

Una limitación obvia de la terapia con fagos es la evidencia de que las bacterias fácilmente desarrollarán resistencia a la infección por fagos (74, 75). Existen múltiples mecanismos de resistencia, uno de los más importantes es la regulación a la baja de la expresión de los receptores de membrana que los fagos utilizan para unirse irreversiblemente a la bacteria, frustrando de ese modo el ingreso de los fagos (74).

Otros mecanismos incluyen mutaciones cromosómicas espontáneas, producción de enzimas que modifican la restricción de ADN y la inmunidad adaptativa CRISPR-Cas (75). Sin embargo, es probable que las poblaciones bacterianas objetivo experimenten grandes oscilaciones cí-

licas (dinámica depredador-presa) en el tamaño de la población antes de que domine la resistencia (76).

En 12 estudios clínicos de terapia con fagos, siete casos confirmaron la aparición de resistencia a los fagos durante el tratamiento (77). Por ejemplo, los aislados de *Acinetobacter baumannii* de hemocultivos mostraron resistencia a los ocho fagos utilizados después de tan solo una semana de tratamiento (45). De manera similar, se desarrolló resistencia durante el tratamiento tópico, pero después de una dosificación casi continua durante tres meses (78). Nuevamente, el **tiempo de exposición a los fagos** es un factor decisivo, en este caso para la emergencia de resistencia bacteriana a los fagos. También es probable que influya la vía de administración, siendo más lenta la emergencia de resistencia cuando los fagos son administrados en forma local y más rápida cuando lo son por vía sistémica.

A pesar de la casi certeza de que surgirá la resistencia a los fagos, ocurren múltiples escenarios en los que la resistencia a los fagos no impide un resultado terapéutico positivo (45, 77). El sistema inmunológico del paciente puede potencialmente erradicar mutantes bacterianos resistentes emergentes (79). Por otra parte, el mantenimiento de los sistemas de defensa antivirales de las bacterias tiene un costo, como la modificación de la restricción del ADN y las enzimas CRISPR-Cas, lo que puede conducir a una **atenuación de la virulencia bacteriana o promover la sensibilidad colateral a los antibióticos**, como se verá en la sección siguiente (18).

Si surge resistencia al tratamiento con fagos, la administración de nuevos fagos con diferentes sitios de unión puede ser una estrategia terapéutica que mejore la eficacia (80). También, como se mencionó previamente, se puede modificar genéticamente al fago para superar los mecanismos de resistencia bacteriana.

Adyuvantes de fagos y fagos como adyuvantes de los antibióticos

Un enfoque que ha recibido poca exploración es el uso de adyuvantes de fagos, también conocidos como "potenciadores de fagos" y "rompedores de resistencia". Estos adyuvantes son compuestos activos con poco o ningún efecto sobre el crecimiento bacteriano en forma aislada y que administrados con fagos actúan mejorando la actividad de los fagos o bloqueando su resistencia. Alcoholes de azúcar, como el xilitol, el sorbitol y el eritritol, pueden funcionar como adyuvantes inhibiendo el crecimiento

bacteriano, al difundirse en la biopelícula y acumularse como un fosfato de alcohol de azúcar no metabolizable y tóxico para las bacterias (81).

Por su parte, la combinación con ciertos antimicrobianos sinérgicos puede también funcionar como adyuvante. Por ejemplo, una concentración subinhibitoria de cefalosporina aumentó siete veces la producción de partículas de fago en una célula de *E. coli* (82). En un estudio, las células de *Burkholderia cepacia* infectadas con fagos produjeron recuentos de fagos más altos, en presencia de concentraciones subinhibitorias de meropenem, ciprofloxacina y tetraciclina (83).

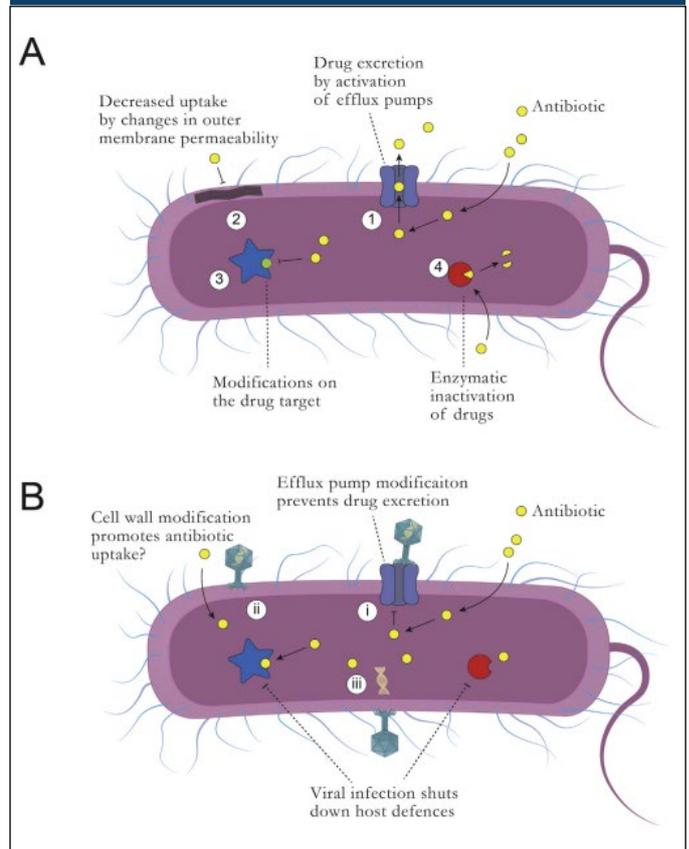
La concentración subinhibitoria de tetraciclina en particular provoca la agrupación de las bacterias, lo que favorece la actividad de los fagos al minimizar el desplazamiento lateral de los mismos entre las células contiguas y mejorar el contacto con sus receptores en las células no infectadas (83).

Es importante destacar que **la producción elevada de fagos no se altera cuando las células bacterianas se vuelven resistentes a los antibióticos**, incluso cuando esto ocurre bajo la terapia fágica (83).

En un modelo de endocarditis murina, la combinación de fagos con concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina o meropenem logró inhibir el rebrote de mutantes resistentes a los fagos y, por lo tanto, mejorar el resultado de la terapia con fagos (62).

Por otra parte, **los fagos también pueden tener actividad, adyuvante, facilitadora o incluso "sensibilizadora" para los antibióticos**, a través por ejemplo de la unión a receptores específicos de las bombas de eflujo, como el receptor TolC o sus homólogos (ver Figura 3). Uno de los reportes más interesantes es el de Chan BK y colaboradores que utilizaron el fago lítico OMK01 que infecta a *Pseudomonas aeruginosa* multidrogoresistente, a través de la unión a la porina M de la membrana externa, que es una parte esencial de la bomba de eflujo. Al unirse a su receptor, el fago compromete el funcionamiento de la bomba. Pero más interesante es lo que sucede cuando *P. aeruginosa* activa sus mecanismos de resistencia contra el fago. En ese momento se inducen mutaciones en el gen que codifica la porina M, las que impiden la infección del fago volviéndolo ineficaz, pero se **restaura la sensibilidad a diversos antibióticos**, incluso a ciprofloxacina, al cambiar por completo la conformación de la bomba de eflujo (84).

Figura 3. Los fagos como posibles adyuvantes de los antibióticos



Tomado de Luong T, et al. Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going? Clin Ther. 2020 Sep;42(9):1659-1680. doi: 10.1016/j.clinthera.2020.07.014. Epub 2020 Aug 31. PMID: 32883528.

<https://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149-2918%2820%2930348-9/fulltext#bib12> (18)

Referencia (A) Hay 4 mecanismos principales de resistencia a los antibióticos: (1) excreción por activación de bombas de eflujo, (2) disminución de la captación por cambios en la permeabilidad de la membrana externa, (3) modificaciones en el objetivo del fármaco y (4) inactivación enzimática de la droga (B) Los fagos pueden potenciar los antibióticos al alterar las actividades fisiológicas exhibidas por las bacterias sensibles y resistentes a los fagos mediante (1) bloqueo directo o mutación del mecanismo de salida del fármaco, (2) aumento de la captación del fármaco a través de mutaciones en la pared celular (no probado) y (3) inhibición de elementos de resistencia a antibióticos.

Otra de las publicaciones que dan cuenta de la adyuvancia de los fagos es la de Chatterjee A y colaboradores, que utilizaron 19 fagos con tropismo contra *E. faecalis*. Estos fagos utilizan el receptor Epa para infectar a la bacteria. Epa es un heteroglicano expuesto en la pared celular del *Enterococco*. Ellos observaron, tanto en cultivo como en un modelo de colonización intestinal en ratones, que la

presión selectiva de los fagos favorece la mutación de los genes que codifican al receptor Epa y de esa forma el fago pierde infectividad, pero *Enterococcus* aumenta la sensibilidad a los antibióticos (85).

La identificación de **compensaciones evolutivas** es una estrategia emergente para combatir la resistencia a los antibióticos, como la prescripción de combinaciones de antibióticos en los que la evolución de la resistencia a un antibiótico induce la susceptibilidad al segundo. Lo mismo también se puede observar en combinaciones de antibióticos y fagos.

El tratamiento de biopelículas con fagos tuvo resultados prometedores en diversos estudios experimentales y de casos. La acción única que ejercen los fagos sobre las bacterias ofrece el potencial para que los dos agentes, antibióticos y fagos, actúen sinérgicamente; su eficacia total es mucho mayor que cada acción individual. La mayoría de los antibióticos por sí solos fueron ineficaces para modificar las bajas concentraciones de *S. aureus* en biopelículas *in vitro*. Sin embargo, la adición de fagos condujo a mejoras sustanciales en la eficacia (86). El uso de fagos con rifampicina también resultó efectivo para reducir el crecimiento de cepas resistentes durante el tratamiento *in vitro* (86). Por lo tanto, combinar la terapia con fagos con antibióticos tradicionales podría **ayudar a controlar mejor las biopelículas bacterianas resistentes a los antibióticos**. En algunos casos, aunque no se observa sinergia en la actividad antimicrobiana, el uso combinado de fagos y antibióticos **reduce significativamente o incluso previene el desarrollo de bacterias resistentes a antibióticos y fagos** (86).

Sin embargo, **puede ocurrir antagonismo** por el cual la acción molecular de los fagos interfiere de alguna manera con la acción de los antibióticos (83, 87). Las quinolonas pueden ser sinérgicas, con fagos contra *P. aeruginosa* en un estudio, siendo antagónicos en otro (84, 87).

Las altas concentraciones de antibióticos también pueden causar una reducción en la propagación de fagos (86). Este hallazgo es particularmente evidente cuando se utilizan antibióticos que se dirigen a la síntesis de proteínas celulares (88).

En resumen, la fagoterapia y la combinación de fagos y antibióticos puede mejorar o prolongar la vida útil de los antibióticos disponibles y mejorar su eficacia por acción sinérgica. Urge, entonces, la necesidad de desarrollar

más estudios con evaluación de la farmacocinética y farmacodinamia que permitan esclarecer los escenarios de sinergia y antagonismo y establecer con más precisión los regímenes de codosificación efectivos del antibiótico y de los fagos.

Productos de fagos

En el contexto de la fagoterapia, debemos conocer además la utilización de productos básicos de fagos, como las **endolisinas**, también conocidas como **“enzibióticos”**, como actores potenciales con fines terapéuticos. Las endolisinas son enzimas que el fago produce para lisar a la bacteria. Las hollinas, por ejemplo, rompen la pared celular bacteriana y liberan la progenie del fago al medio ambiente al final del ciclo de vida del fago (89, 90). Dado que las endolisinas atacan y degradan específicamente el peptidoglicano, hay mucho interés en su aprovechamiento como agentes antibacterianos. Tienen dos dominios de acción, el de unión al peptidoglicano y el catalítico, que produce la hidrólisis del peptidoglicano. Las endolisinas, en general, son **específicas de un género o familia bacteriana**. Además, debido a la estructura de la pared celular, las bacterias Gram-positivas son generalmente susceptibles a las endolisinas administradas externamente, mientras que en las bacterias Gram-negativas, la membrana externa impide la entrada de la endolisina al espacio periplásmico (90).

Las endolisinas tienen numerosas características beneficiosas:

1. Son muy específicas contra género y especie bacteriana.
2. No dañan células humanas ni la microbiota del huésped.
3. Son muy efectivas frente a bacterias que producen biofilm.
4. El desarrollo de mutantes bacterianos resistentes es más difícil que con los bacteriófagos
5. Pueden ser sinérgicas con los antibióticos.
6. Por medio de ingeniería química es posible modificar las endolisinas para cambiar el sitio de unión, o el de catálisis o para aumentar su espectro, etc.

Respecto a sus desventajas destacan:

1. Por su elevada especificidad, es necesario conocer acabadamente la bacteria causante de la infección antes de su administración; **no pueden usarse empíricamente.**
2. Los bacilos Gram negativos son relativamente impermeables a las endolisinas, por lo que es necesario algún agente químico o físico para lograr su ingreso. Se ha postulado que antibióticos, como el colistin por su acción sobre la pared celular, podrían ser una opción.
3. A diferencia de los bacteriófagos, no se autoreplican.

Situación regulatoria

Una de las principales dificultades en la implementación de la fagoterapia es la ausencia de un apropiado marco legal y regulatorio para el empleo de los fagos (91). Los países occidentales que reintrodujeron la fagoterapia en las últimas décadas abordaron el problema de diverso modo, siendo el primer escollo la forma en que definen o catalogan a los fagos (19). En la Unión Europea y Estados Unidos se clasificaron como **productos medicinales o drogas**. Como consecuencia, se impuso una gran cantidad de requisitos y procedimientos costosos y lentos para la fabricación y la obtención de la autorización de comercialización por parte de la autoridad regulatoria. Este enfoque que asemeja los fagos a otro tipo de moléculas no es compatible con la producción de fagos sostenibles (no empíricos) o personalizados, en el que los fagos deben seleccionarse y producirse *ad hoc* (54).

Son diversas las razones que inciden en las dificultades regulatorias, entre ellas:

1. Las limitaciones para la propiedad intelectual de entidades naturales como genes o fagos.
2. La especificidad de los fagos y la emergencia de resistencia bacteriana, lo que limita el uso empírico de cócteles fijos de fagos y requiere en diversos casos de un abordaje personalizado con readaptaciones para hacer frente a la resistencia.
3. Por lo anterior, la industria farmacéutica no se ha mostrado interesada en estos desarrollos.
4. Es necesario un financiamiento acorde para poder desarrollar los laboratorios, las bibliotecas de fagos, la ingeniería genética necesaria para adaptar los fagos y los recursos para llevar adelante estudios clínicos de alta calidad metodológica.

En este contexto, cada país debe resolver bajo qué marco regulatorio encuadra a los fagos. En algunos países, apelando al artículo 37 de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brasil 2013), algunos pacientes en los que el estándar de cuidado ha fallado o ante una “necesidad médica insatisfecha” pueden recibir fagoterapia luego de una gestión específica frente a la autoridad regulatoria. En Bélgica, a partir de 2018, la fagoterapia comenzó a administrarse bajo un marco regulatorio de preparados magistrales, en el que si el médico tratante considera que el paciente puede beneficiarse de la fagoterapia se le puede prescribir un preparado magistral de fagos, personalizado para ese caso (19). Francia adoptó un marco regulatorio semejante (92). En Estados Unidos, la FDA aprobó diversos ensayos clínicos randomizados y controlados con fagos y también autorizó el uso de fagoterapia para pacientes severamente enfermos en los que el estándar de cuidado había fallado, bajo un acceso expandido a Nuevas Drogas en Investigación (eIND) (45).

Datos clínicos

Existen más de 10.000 publicaciones de investigaciones preclínicas y clínicas con bacteriófagos (27, 45, 53, 89, 93). Dadas la naturaleza de los fagos y las dificultades regulatorias ya señaladas, son pocos los ensayos clínicos randomizados y controlados desarrollados y la mayoría de las publicaciones son estudios experimentales y reportes de casos en los que se usó la fagoterapia bajo aprobaciones de emergencia para uso compasional. Esto dio lugar a una enorme heterogeneidad de datos no solo de los fagos utilizados, las vías de administración y dosis, sino también respecto a los criterios de evaluación clínica.

Sin embargo, en la última década se hizo un gran esfuerzo para estandarizar la producción científica en torno a la fagoterapia. El interés por los bacteriófagos y por mejorar la calidad de los datos se ve reflejado en los 80 estudios registrados en ClinicalTrials.gov al momento de escribir esta revisión (94). Estos estudios están en distintas fases de desarrollo y orientados mayormente a infecciones difíciles de tratar, como infecciones relacionadas con implantes, pie diabético, fibrosis quística e infecciones gastrointestinales, entre otras.

La revisión más grande de datos clínicos es la publicada recientemente en *The Lancet* por el grupo de trabajo en bacteriófagos de Bélgica, integrado por profesionales del Hospital Reina Astrid de Bruselas y de Leuven (95). Ellos hicieron una revisión bibliográfica para evaluar seguridad y eficacia de la fagoterapia en infecciones difíciles de tratar con o sin resistencia antimicrobiana, en las cuales el estándar de cuidado, incluyendo tratamiento antibacteriano y eventualmente quirúrgico, falló. La intervención fue la aplicación de fagos a través de diferentes vías de administración. El comparador fue el estándar de cuidado o el placebo, y los principales *outcomes* fueron la **seguridad**, incluyendo la tolerabilidad, eventos adversos a corto y largo plazo, anomalías en el laboratorio y la **eficacia** de la fagoterapia, que se evaluó según mejoría clínica, mejoría de la calidad de vida, reducción de la carga bacteriana y reducción en la masa de biofilm.

Incluyeron textos en inglés publicados entre el 1 de enero de 2000 y el 22 octubre de 2020, con una actualización posterior hasta agosto 2021, de estudios randomizados y controlados, estudios observacionales, series de casos y reportes de casos publicados en Pubmed, Embase, Web of Science, Cochrane y ClinicalTrials.gov.

Los autores encontraron 10.785 publicaciones, de las que solo 59 fueron retenidas después de aplicar los estrictos criterios de selección, lo que implicó un total de 2241 pacientes tratados con fagoterapia. Se incluyeron infecciones pulmonares, urológicas, musculoesqueléticas, endovasculares, dermatológicas, intraabdominales, oftalmológicas, otorrinolaringológicas e incluso pacientes con infecciones agudas internados en terapia intensiva. La Tabla 1 resume los principales resultados presentados por órganos o sistemas.

Se sumaron además 1510 pacientes incluidos en las últimas dos décadas en cuatro registros de pacientes con infecciones difíciles de tratar que recibieron fagoterapia (96). En estos pacientes, la mejoría clínica se alcanzó en el 80% de los casos y la erradicación bacteriana en el 23%. También se incorporaron los reportes de seguridad de 173 voluntarios sanos enrolados en estudios controlados contra placebo. Todos recibieron una monodosis de fagos orales. 12 de 178 pacientes (12%) reportaron eventos adversos leves como malestar gastrointestinal, náuseas, dispepsia, dolor de muelas y dolor de oídos.

La duración total del tratamiento fue tan heterogénea como los estudios, siendo de 20 minutos a cuatro años con una media de cuatro meses. Solo 34 de 59 estudios reportaron la realización de un fagograma para establecer la sensibilidad de los aislamientos bacterianos a los fagos disponibles.

Respecto a la seguridad, los eventos adversos fueron reportados en 7% de los pacientes tratados con fagos y en 15% del grupo control. Estos efectos fueron generalmente leves y resolvieron luego de que la fagoterapia fue finalizada. En pacientes con sepsis, la mortalidad fue alta en relación con la severidad de la enfermedad y no estuvo relacionada con la fagoterapia. **La baja tasa de efectos adversos puede explicarse por la alta especificidad de los fagos por sus bacterias huéspedes, sin dañar la flora comensal y más probablemente las células eucariotas.**

En relación a la eficacia, **la mejoría clínica fue alcanzada en el 79% de los pacientes y la erradicación bacteriana en el 87% de los pacientes** (95). Estos resultados están en línea con diversas revisiones, entre ellas la de El Haddad L. *et al.* publicada en 2019, que encontró una eficacia del 87% y seguridad del 67% en estudios revisados (77).

A pesar de estos resultados promisorios, los datos deben interpretarse con precaución por diversas razones. Primero, existe una marcada heterogeneidad entre los estudios, lo que dificulta la extracción de conclusiones. Por ejemplo, la amplia variabilidad de patologías con un rango de enfermedad que va desde formas leves a moderadas y otras que amenazan la vida, causadas por un diverso espectro de patógenos, el tipo de tratamiento personalizado versus cócteles fijos, las diferentes vías de administración intravenosa, oral, local, combinada y además el hecho de que en numerosas estudios no hay información precisa acerca de la formulación de fagos utilizada o de la concentración de los mismos en las soluciones. Segundo, el 58% de los pacientes recibió antibióticos de amplio espectro en forma concomitante, lo que probablemente influya en la eficacia de la fagoterapia, tanto por una acción positiva de sinergia como negativa, ya que los fagos necesitan una mínima concentración de bacterias en el sitio de infección y esta concentración puede verse reducida por la antibioticoterapia (97). Tercero, en la mayoría de los reportes los criterios para medir eficacia estuvieron pobremente definidos y el período de seguimiento fue corto, con una media de duración de cuatro meses.

Tabla 1. Síntesis de resultados clínicos relevantes de la revisión

Tipo de Infección	N° de estudios	N° de pacientes	Microorganismos involucrados	Vías de administración	Uso de antibióticos concomitantes	Efectos adversos	Eficacia clínica	Tasa de erradicación bacteriana
Pulmonar (&)	11	16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (5), <i>Achromobacter xylosoxidans</i> (3), <i>Acinetobacter baumannii</i> (2), <i>Mycobacterium abscessus</i> (2). Otros	NB (7); EV (4), O + EV (1), NB + EV (4)	11/11 (100%)	Tormenta de citoquinas (1)	10 /11 (91%)	8/9 (89%)
Urológica (+)	7	7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (5), Polimicrobiana (1)	IV (2); O+R (1) IV+O (1); R (1); IV+R (1); O+R+IV (1)	6/7 (85%)	NO	7/7 (100%)	6/7 (85%)
Musculo-esqueléticas (*)	10	23	<i>Staphylococcus aureus</i> (10), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2), polimicrobianas (11)	L (17); IA (2); EV (2); IA+EV (2)	8/23 (34%)	Aumento transitorio de transaminasas (1)	23/23 (100%)	4/4 (100%)
Endovasculares (#)	3	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1), <i>Staphylococcus aureus</i> (2)	L (2); EV (1)	3/3 (100%)	Nauseas (1)	3/3 (100%)	1/1
Dermatológicas (\$)	10	224	<i>Staphylococcus aureus</i> (7), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (10), Polimicrobianas (164)	L (222); O+L (1); EV (1)	106/224 (47%)	Breve período de hipotensión arterial (1)	90% de quemaduras infectadas, 68% úlceras venosas crónicas, 100% de heridas irradiadas	96%
Intraabdominal (¶)	1	1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	EV+IP	Sí	No	Sí	Sí
Oftalmológica (++)	1	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	EV+L	No	No	Sí	Sí
Otorrinolaringológica (**)	3	34	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (24); <i>Staphylococcus aureus</i> (9); polimicrobiana (1)	L (24); L+O (1); IN (9)	No	Síntomas leves: epistaxis, dolor local. Reducción de la agudeza visual	95%	Sí en los casos evaluados
Sepsis (∞)	4	109	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , entre otros	O (94); EV (14); EV+L (1)	85/109 (78%)	No	90/109 (83%)	información insuficiente

Referencias: (&) infecciones pulmonares en pacientes con Fibrosis quística, trasplante pulmonar, EPOC severo, bronquiectasias infectadas, Neumonías bacterianas en pacientes con COVID crítico; (+) infecciones urinarias refractarias en pacientes con stents ureterales, epididimitis, prostatitis crónica, infección urinaria recurrente en transplantados renales; (*) osteomielitis en pie diabético, infecciones periprotésicas y asociadas a material de osteosíntesis, osteomielitis crónica; (#) infecciones asociadas a prótesis endovasculares; (\$) infecciones asociadas a quemaduras; úlceras y heridas crónicas; (¶) pseudoquiste pancreático infectado; (++) queratitis recidivante; (**) rinosinusitis crónica; otitis media crónica; (∞) sepsis severa. NB: nebulizado; EV endovenoso; O oral; R intrarrectal; IV intravesical; L local, IA intraarticular, IP intraperitoneal, IN intranasal

Por último, solo en 34 de 59 estudios se efectuó un fagograma antes del inicio de la fagoterapia, y es conocido que la falta de sensibilidad de los fagos es una de las principales causas de fallo terapéutico. En adición, la presencia de anticuerpos antifágicos, considerados un factor limitante a la eficacia de la fagoterapia, no siempre fueron mensurados ni buscados (58).

Basados en estos hallazgos, los autores concluyen que son necesarios grandes estudios cualitativos para proveer más información acerca de la seguridad y eficacia de la fagoterapia en el tratamiento de las infecciones difíciles de tratar. Los autores sostienen además la necesidad de un marco regulatorio pragmático para un abordaje personalizado de la fagoterapia.

En este punto es oportuno comentar, además, el estudio publicado recientemente en febrero de 2023, en la prestigiosa revista *Clinical Infectious Diseases* por el grupo de trabajo de la Universidad de Maryland, EE. UU., encabezado por James B. Dougt, que relata la experiencia obtenida con el tratamiento adyuvante con bacteriófagos en 10 pacientes con infecciones protésicas recalcitrantes de rodilla o cadera (98). Los 10 pacientes habían fracasado con las terapias quirúrgicas y antibióticas convencionales utilizadas previamente, por lo que solo eran candidatos a artrodesis o amputación. Todos los pacientes fueron sometidos a cirugías de desbridamiento y en 4 de ellos se realizó un recambio protésico en dos tiempos, aunque los autores detallan que los focos profundos de infección no pudieron ser removidos. El tratamiento consistió en fagos personalizados, con actividad sobre bacterias planctónicas, como las que albergan las biopelículas y seleccionados según el fagograma. Los microorganismos involucrados fueron *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en la mitad de los pacientes, seguido por *Staphylococcus lugdunensis* en dos casos, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*. Todos los pacientes recibieron bacteriófagos intraarticulares al final de la cirugía, excepto uno que lo recibió por artroscopía seis semanas después del tratamiento quirúrgico. Además, se administraron fagos intraarticulares en forma diaria por uno a cuatro días a través de un catéter de Hickman colocado en la articulación y, en algunos casos, terapia fágica intravenosa diaria por cinco días. Los 10 pacientes recibieron tratamiento antibiótico endovenoso estándar durante seis semanas, seguido de tratamiento supresivo en los pacientes que se sometieron a desbridamiento con retención del implante, excepto un paciente que no toleró los antibióticos.

La terapia fágica fue bien tolerada en todos los casos, cinco de ellos presentaron una elevación transitoria y reversible de transaminasas. Ningún paciente tuvo recurrencia de su infección protésica durante el período de seguimiento, que fue en promedio de 13 meses. El éxito observado con la fagoterapia en esta investigación llevó a los autores a sugerir que de confirmarse estos resultados en futuros estudios, se podría modificar el paradigma de tratamiento de las infecciones periprotésicas de carácter crónico, hacia un manejo más conservador y con menor morbimortalidad (98).

La experiencia de San Diego (99)

El caso del primer paciente tratado con fagoterapia en EE. UU. ocurrió en 2017. Se trata de un médico psiquiatra de San Diego que padeció un episodio de pancreatitis necrotizante grave con desarrollo de un pseudoquistes infectado con *A. baumannii* extremadamente resistente (45). El paciente se encontraba críticamente enfermo y con diseminación sistémica de la infección. Recibió el tratamiento médico y quirúrgico estándar por cuatro meses, con empeoramiento progresivo, luego de lo cual accedió a fagoterapia a través de una aprobación de emergencia para uso compasional. En ese momento recibió antibióticos más bacteriófagos aplicados por vía endovenosa por dos semanas y bacteriófagos locales administrados a través de un catéter percutáneo abocado al pseudoquistes, por 18 semanas. El paciente evolucionó favorablemente, alcanzando la cura clínica y la recuperación *ad integrum* (45).

A partir de entonces se creó el Centro de Aplicaciones y Terapéutica de Fagos Innovadores (IPATH) en la Universidad de California en junio de 2018. Desde esa fecha hasta julio de 2020 el Centro recibió 785 consultas de pacientes interesados en la fagoterapia, 68% de EE. UU. y el resto de otros países (99). La mayoría de ellos fueron excluidos por padecer enfermedades no infecciosas o virales o por faltar detalles de la historia clínica, varios también fueron excluidos por no enviar la muestra microbiológica, y por último por no encontrar el fago lítico apropiado. Finalmente, 17 pacientes fueron sometidos a fagoterapia, de los cuales 10 ya finalizaron el seguimiento. De estos 10 pacientes, todos con infecciones refractarias al tratamiento estándar, 8 eran por bacilos Gram negativos multiresistentes *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *E coli* y 2 por *S. aureus*. Las patologías fueron absceso intraabdominal, infección pulmonar en pacientes con fibrosis quística o trasplante pulmonar, osteomielitis e infecciones asociadas a

implantes osteoarticulares, infección urinaria recurrente, bacteriemia recurrente a partir de un dispositivo endovascular aórtico y una infección asociada a un dispositivo de drenaje ventricular. Todos fueron tratados con antibióticos sistémicos asociados a los fagos. Para la aprobación de emergencia, la autoridad regulatoria de EE. UU. requiere la secuenciación genética de los fagos que demuestre la ausencia de genes que codifican plásmidos que confieren resistencia antimicrobiana, o que codifiquen lisogenia, y el máximo recuento de endotoxina aceptado para cada dosis es de 5 EU/kg de peso/hora de administración (unidades de endotoxinas por kilogramo de peso y por hora de administración). **Siete de nueve pacientes tuvieron una evolución favorable a la mejoría clínica**, dos fallaron y en un caso los resultados no fueron interpretables.

La terapia fue **segura y bien tolerada**, solo uno de 10 pacientes presentó una reacción asociada a la infusión de un nuevo cóctel de fagos. El paciente tuvo un cuadro transitorio de fiebre, sibilancias y disnea después de dos dosis consecutivas y resolvió con paracetamol, difenhidramina y corticoides. Las sucesivas administraciones del cóctel de fagos, en dosis crecientes, no provocaron efectos adversos. Los autores atribuyeron ese episodio a la posibilidad de pirógenos asociados a los solventes utilizados para la dilución (99).

La mitad de los pacientes fueron tratados inicialmente internados con monitoreo estricto de signos vitales y posteriormente fueron tratados en sus domicilios. Un paciente en plena pandemia por COVID-19 recibió todo el trata-

miento en su domicilio, con teleseguimiento. Ninguno de estos pacientes tuvo reacciones adversas.

La mayoría de los pacientes fueron tratados con una combinación de varios fagos con diferentes receptores bacterianos para reducir el riesgo de desarrollar resistencia bacteriana a los fagos; sin embargo, tres de 10 pacientes la desarrollaron. El problema se resolvió con la utilización de nuevos fagos.

En el primer caso tratado, correspondiente al pseudoquitte infectado por *A. baumannii*, los autores encontraron sinergia entre la fagoterapia y la minociclina, a pesar de que el aislamiento era resistente a minociclina (45).

Desde la creación de IPATH como el primer centro de Fagoterapia en EE. UU. otros sitios han desarrollado centros clínicos, como Baylor College of Medicine, Mayo Clinic y Johns Hopkins University.

Los autores concluyen que la fagoterapia es una herramienta que resultó exitosa y segura en la mayoría de los pacientes, pero más estudios clínicos son necesarios para esclarecer numerosos aspectos ignorados acerca de ella.

Síntesis de ventajas y desventajas de los bacteriófagos

En la Tabla 2 se presenta un resumen de las ventajas y desventajas de la fagoterapia.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los bacteriófagos	
Ventajas	Desventajas
<p>Altamente específicos de especie y de cepa bacteriana. Pueden autoamplificarse en el sitio de acción.</p> <p>Algunos pueden degradar el biofilm y actuar sobre bacterias planctónicas.</p> <p>No actúan sobre las células eucariotas, por lo que no alteran la microbiota.</p> <p>Pueden modificarse genéticamente para mejorar su actividad (aumentar la especificidad, la biodisponibilidad, mejorar la lisis bacteriana, etc.).</p> <p>Pueden coevolucionar con sus huéspedes bacterianos para adaptarse a la resistencia.</p> <p>Su actividad sobre una determinada bacteria es independiente de la resistencia antibiótica.</p>	<p>Debe conocerse el agente etiológico.</p> <p>La actividad in vitro no siempre correlaciona con la actividad in vivo.</p> <p>Las bacterias pueden generar resistencia frente al fago.</p> <p>El huésped humano puede desencadenar una respuesta inmune contra el fago.</p> <p>El proceso de purificación de los fagos no es simple.</p> <p>Farmacocinética y farmacodinámica complejas, no completamente esclarecidas.</p> <p>Pueden generar endotoxemia cuando la lisis bacteriana es extensa.</p>

Discusión

La emergencia de la RAM amenaza los extraordinarios beneficios para la salud obtenidos con el descubrimiento de los antibióticos. A medida que nos enfrentamos a esta crisis, la fagoterapia se presenta como una estrategia cada vez más promisoriosa en base a los éxitos clínicos reportados en diversos estudios. Bien sea como alternativa a los antibióticos, en combinación con ellos, como adyuvante, como herramienta sinérgica o incluso como una forma de preservar los antibióticos para el futuro, los bacteriófagos se erigen como la mejor solución a corto o mediano plazo.

Aunque la mayoría de los estudios desarrollados sugieren que los fagos son seguros y bien tolerados, la factibilidad de su empleo clínico en escenarios reales aún requiere una definición cuidadosa. Son numerosas las brechas de conocimiento que abarcan las vías de administración apropiadas, la selección de fagos, la frecuencia de administración, la dosis, la resistencia a los fagos, la respuesta inmunológica en el huésped humano y las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fagos.

La escasez de ensayos clínicos bien controlados y los complejos marcos regulatorios promovieron la generación de datos sobre la base del uso compasional. Por otra parte, la mayoría de los datos clínicos incluyen el uso concomitante de antibióticos, lo que dificulta sacar conclusiones sólidas sobre la eficacia de los fagos.

Sin embargo, las recientes mejoras en ingeniería genética, en la purificación y en la formulación de fagos, han contribuido en gran medida a mejorar la eficacia y la aplicabilidad de la fagoterapia. Urge además el desarrollo concomitante de otras tecnologías necesarias para poner a punto la fagoterapia. Estas tecnologías incluyen (1) métodos y criterios de evaluación de fagos, rápidos y precisos, (2) estandarización de la fabricación de fagos, (3) constitución de bibliotecas de fagos, (4) pautas claras de estabilidad del producto de fagos durante el almacenamiento y el transporte y (5) criterios específicos de selección de candidatos a la fagoterapia, puntos críticos de evaluación y estandarización de esquemas de seguimiento.

Por último, para facilitar la implementación futura de la fagoterapia en la práctica clínica de rutina, es necesario abordar y resolver el tema regulatorio y promover la creación de grupos multidisciplinarios de trabajo compuestos

por científicos, microbiólogos, ingenieros en genómica, médicos y farmacéuticos. En Argentina, al momento actual, nunca se han empleado bacteriófagos en entornos clínicos para tratamiento de pacientes, sin embargo, numerosos investigadores están trabajando con fagos desde hace tiempo. Destaca la producción científica y las publicaciones de la Dra. Leticia Bentancor, quien está estudiando al bacteriófago que produce la Shiga, toxina del síndrome urémico hemolítico, su expresión en células eucariotas y eventuales factores que puedan inhibir la producción de la toxina (100-103).

Conclusión

La fagoterapia es una alternativa promisoriosa para el tratamiento de las infecciones difíciles de tratar y podría ser un componente clave en la batalla contra la RAM. Este tratamiento es considerado seguro a través de diferentes rutas de administración, con una baja incidencia de eventos adversos. Ensayos de alta calidad metodológica son urgentemente necesarios para mejorar nuestro conocimiento relativo a la eficacia clínica a largo plazo de este tratamiento.

Bibliografía

1. Fleming A. Sir Alexander Fleming—Nobel Lecture. Penicillin. (accessed on 18 Feb 2023). Available online: <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/fleming-lecture.pdf>
2. World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. <http://remed.org/wp-content/uploads/2017/03/lobal-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-2017.pdf>
3. OPS Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en Enterobacteriales en Latinoamérica y el Caribe - 22 Octubre 2021. <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-emergencia-e-incremento-nuevas-combinaciones-carbapenemasas>
4. OMS Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos 1 de enero de 2016 <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241509763>
5. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022 Feb 12;399(10325):629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0. Epub 2022 Jan 19. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)02724-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)02724-0/fulltext)
6. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. The Review on Antimicrobial Resistance. 2016 Release. (accessed on 18 February 2023); Available online: https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
7. Kwon JH, Powderly WG. The post-antibiotic era is here. *Science*. 2021 Jul 30;373(6554):471. doi: 10.1126/science.abl5997. PMID: 34326211. https://www.science.org/doi/10.1126/science.abl5997?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
8. United Nations Draft Political Declaration of the High-Level Meeting of the General Assembly on Antimicrobial Resistance (16-16108 (E)). 2016 Release. (accessed on 17 December 2017); Available online: http://www.un.org/pga/71/wp-content/uploads/sites/40/2016/09/DGACM_GAEAD_ES-CAB-AMR-Draft-Political-Declaration-1616108E.pdf
9. Thiel K. Old dogma, new tricks—21st Century phage therapy. *Nat Biotechnol*. 2004 Jan;22(1):31-6. doi: 10.1038/nbt0104-31. PMID: 14704699. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14704699/>
10. Skurnik M. Can Bacteriophages Replace Antibiotics? *Antibiotics* (Basel). 2022 Apr 26;11(5):575. doi: 10.3390/antibiotics11050575. PMID: 35625219; PMCID: PMC9137811. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9137811/>
11. Twort F.W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet*. 1915;189:1241-1243. doi: 10.1016/S0140-6736(01)20383-3. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(01\)20383-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(01)20383-3/fulltext)
12. Sejas Guzman CP. Fagoterapia: Tratamiento alternativo para el Control de las Infecciones Bacterianas en Pacientes Quemados. Volumen 31 - n° 2 2021 - Revista Argentina De Quemaduras. (acceso 18 Feb 2023). Disponible en: <http://raq.fundacionbenaim.org.ar/vol-32-oct-2021/RAQ-32-OCT-2021-FAGOTERAPIA.pdf>
13. Reina J, Reina N. Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioticoterapia?. *Rev Esp Quimioter*. 2018 Apr;31(2):101-104. Spanish. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29451376; PMCID: PMC6159377. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6159377/>
14. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):226-35. doi: 10.4161/viru.25991. Epub 2013 Aug 13. PMID: 23973944; PMCID: PMC3916379. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3916379/>
15. Abedon ST, García P, Mullany P, et al. Editorial: Phage Therapy: Past, Present and Future. *Front Microbiol*. 2017 Jun 15;8:981. doi: 10.3389/fmicb.2017.00981. PMID: 28663740; PMCID: PMC5471325. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5471325/>
16. George Eliava Institute of Bacteriophages, Microbiology and Virology. (accessed on 18 Feb 2023). Available online: <https://eliava-institute.org/?lang=en>
17. MicroGen National Manufacturer of Immunobiological Products in Russia. (accessed on 18 Feb 2023). Available online: <https://www.microgen.ru/en/company/>
18. Luong T, Salabarria AC, Roach DR. Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going? *Clin Ther*. 2020 Sep;42(9):1659-1680. doi: 10.1016/j.clinthera.2020.07.014. Epub 2020 Aug 31. PMID: 32883528. <https://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149-2918%2820%2930348-9/fulltext#bib12>
19. Pirnay JP, Verbeken G, Ceysens PJ, et al. The Magistral Phage. *Viruses*. 2018 Feb 6;10(2):64. doi:

- 10.3390/v10020064. PMID: 29415431; PMCID: PMC5850371. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5850371/>
20. Mushegian AR. Are There 10³¹ Virus Particles on Earth, or More, or Fewer? *J Bacteriol.* 2020 Apr 9;202(9):e00052-20. doi: 10.1128/JB.00052-20. PMID: 32071093; PMCID: PMC7148134. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32071093/>
 21. Suttle CA. Marine viruses—major players in the global ecosystem. *Nat Rev Microbiol.* 2007 Oct;5(10):801-12. doi: 10.1038/nrmicro1750. PMID: 17853907. <https://www.nature.com/articles/nrmicro1750>
 22. Ackermann HW, Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol.* 2012 Oct;157(10):1843-9. doi: 10.1007/s00705-012-1383-y. Epub 2012 Jul 3. PMID: 22752841. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1383-y>
 23. Roach DR, Donovan DM. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage.* 2015 Jun 23;5(3):e1062590. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4590002/>
 24. Howard-Varona C, Hargreaves KR, Abedon ST, Sullivan MB. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISME J.* 2017 Jul;11(7):1511-1520. doi: 10.1038/ismej.2017.16. Epub 2017 Mar 14. PMID: 28291233; PMCID: PMC5520141. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520141/>
 25. Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2017 Aug 6;8(3):162-173. doi: 10.4292/wjgpt.v8.i3.162. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5547374/>
 26. Monteiro R, Pires DP, Costa AR, Azeredo J. Phage Therapy: Going Temperate? *Trends Microbiol.* 2019 Apr;27(4):368-378. doi: 10.1016/j.tim.2018.10.008. Epub 2018 Nov 19. PMID: 30466900. [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(18\)30231-2?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X18302312%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(18)30231-2?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X18302312%3Fshowall%3Dtrue)
 27. Detrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med.* 2019 May;25(5):730-733. doi: 10.1038/s41591-019-0437-z. Epub 2019 May 8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6557439/>
 28. Hargreaves KR, Clokie MR. *Clostridium difficile* phages: still difficult? *Front Microbiol.* 2014 Apr 28;5:184. doi: 10.3389/fmicb.2014.00184. PMID: 24808893; PMCID: PMC4009436. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4009436/>
 29. Wiggins BA, Alexander M. Minimum bacterial density for bacteriophage replication: implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems. *Appl Environ Microbiol.* 1985 Jan;49(1):19-23. doi: 10.1128/aem.49.1.19-23.1985. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC23833>
 30. Fillol-Salom A, Alsaadi A, Sousa JAM, et al. Bacteriophages benefit from generalized transduction. *PLoS Pathog.* 2019 Jul 5;15(7):e1007888. doi: 10.1371/journal.ppat.1007888. PMID: 31276485; PMCID: PMC6636781. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6636781/>
 31. Gupta R, Prasad Y. Efficacy of polyvalent bacteriophage P-27/HP to control multidrug resistant *Staphylococcus aureus* associated with human infections. *Curr Microbiol.* 2011 Jan;62(1):255-60. Epub 2010 Jul 7. PMID: 20607539. DOI: 10.1007/s00284-010-9699-x
 32. Casey E., van Sinderen D. Mahony J. In vitro characteristics of phages to guide 'real life' phage therapy suitability. *Viruses.* 2018; 10: 163. <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/4/163>
 33. Hansen MF, Svenningsen SL, Røder HL, et al. Big Impact of the Tiny: Bacteriophage-Bacteria Interactions in Biofilms. *Trends Microbiol.* 2019 Sep;27(9):739-752. doi: 10.1016/j.tim.2019.04.006. Epub 2019 May 22. PMID: 31128928. [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(19\)30099-X?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X1930099X%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(19)30099-X?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X1930099X%3Fshowall%3Dtrue)
 34. Lin H, Paff ML, Molineux IJ, Bull JJ. Antibiotic Therapy Using Phage Depolymerases: Robustness Across a Range of Conditions. *Viruses.* 2018 Nov 12;10(11):622. doi: 10.3390/v10110622. PMID: 30424521; PMCID: PMC6266388. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6266388/>
 35. McNair K, Bailey BA, Edwards RA. PHACTS, a computational approach to classifying the lifestyle of phages. *Bioinformatics.* 2012 Mar 1;28(5):614-8. doi: 10.1093/bioinformatics/bts014. Epub 2012 Jan 11. PMID: 22238260; PMCID: PMC3289917. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289917/>
 36. Edwards RA, McNair K, Faust K, Raes J, Dutilh BE. Computational approaches to predict bacteriophage-host relationships. *FEMS Microbiol Rev.*

- 2016 Mar;40(2):258-72. doi: 10.1093/femsre/fuv048. Epub 2015 Dec 9. PMID: 26657537; PMCID: PMC5831537. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5831537/>
37. McNair K, Aziz RK, Pusch GD, Overbeek R, Dutilh BE, Edwards R. Phage Genome Annotation Using the RAST Pipeline. *Methods Mol Biol.* 2018;1681:231-238. DOI: 10.1007/978-1-4939-7343-9_17. PMID: 29134599.
 38. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage.* 2011 Mar;1(2):111-114. doi: 10.4161/bact.1.2.14590. PMID: 22334867; PMCID: PMC3278648. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3278648/>
 39. Philipson C.W., Voegtly L.J., Lueder M.R. et al. Characterizing phage genomes for therapeutic applications. *Viruses.* 2018; 10: 188. <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/4/188>
 40. Martel B, Moineau S. CRISPR-Cas: an efficient tool for genome engineering of virulent bacteriophages. *Nucleic Acids Res.* 2014 Aug;42(14):9504-13. doi: 10.1093/nar/gku628. Epub 2014 Jul 24. PMID: 25063295; PMCID: PMC4132740. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4132740/>
 41. Bonilla N, Rojas MI, Netto Flores Cruz G, et al. Phage on tap-a quick and efficient protocol for the preparation of bacteriophage laboratory stocks. *PeerJ.* 2016 Jul 26;4:e2261. doi: 10.7717/peerj.2261. PMID: 27547567; PMCID: PMC4975003. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975003/>
 42. González-Menéndez E, Fernández L, Gutiérrez D, et al. Comparative analysis of different preservation techniques for the storage of *Staphylococcus* phages aimed for the industrial development of phage-based antimicrobial products. *PLoS One.* 2018 Oct 11;13(10):e0205728. doi: 10.1371/journal.pone.0205728. PMID: 30308048; PMCID: PMC6181408. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6181408/>
 43. Leung SSY, Parumasivam T, Gao FG, et al. Effects of storage conditions on the stability of spray dried, inhalable bacteriophage powders. *Int J Pharm.* 2017 Apr 15;521(1-2):141-149. doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.01.060. Epub 2017 Feb 3. PMID: 28163231; PMCID: PMC5389863. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5389863/>
 44. Law N, Logan C, Yung G, et al. Successful adjunctive use of bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a cystic fibrosis patient. *Infection.* 2019 Aug;47(4):665-668. DOI: 10.1007/s15010-019-01319-0. Epub 2019 May 17. PMID: 31102236.
 45. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Sep 22;61(10):e00954-17. doi: 10.1128/AAC.00954-17. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5610518/>
 46. Ross A, Ward S, Hyman P. More Is Better: Selecting for Broad Host Range Bacteriophages. *Front Microbiol.* 2016 Sep 8;7:1352. doi: 10.3389/fmicb.2016.01352. PMID: 27660623; PMCID: PMC5014875. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5014875/>
 47. Abedon ST, Thomas-Abedon C. Phage therapy pharmacology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010 Jan;11(1):28-47. DOI: 10.2174/138920110790725410. PMID: 20214606.
 48. Fauconnier A. Phage therapy regulation: from night to dawn. *Viruses.* 2019; 11: 352. <https://www.mdpi.com/1999-4915/11/4/352>
 49. Doub J.B., Ng V.Y., Johnson A.J. et al. Salvage bacteriophage therapy for a chronic MRSA prosthetic joint infection. *Antibiotics.* 2020; 9: 241. <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/5/241>
 50. Chan BK, Turner PE, Kim S, et al. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evol Med Public Health.* 2018 Mar 8;2018(1):60-66. doi: 10.1093/emph/eoy005. PMID: 29588855; PMCID: PMC5842392. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5842392/>
 51. Gibson SB, Green SI, Liu CG, et al. Constructing and Characterizing Bacteriophage Libraries for Phage Therapy of Human Infections. *Front Microbiol.* 2019 Nov 12;10:2537. doi: 10.3389/fmicb.2019.02537. PMID: 31781060; PMCID: PMC6861333. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6861333/>
 52. Law N, Logan C, Yung G, et al. Successful adjunctive use of bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a cystic fibrosis patient. *Infection.* 2019 Aug;47(4):665-668. DOI: 10.1007/s15010-019-01319-0. Epub 2019 May 17. PMID: 31102236.
 53. Cano EJ, Caflisch KM, Bollyky PL, et al. Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity. *Clin Infect Dis.* 2021 Jul 1;73(1):e144-e151. doi: 10.1093/cid/

- ciaa705. PMID: 32699879; PMCID: PMC8246933. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8246933/>
54. Pirnay JP, De Vos D, Verbeken G, et al. The phage therapy paradigm: *prêt-à-porter* or *sur-mesure*? *Pharm Res.* 2011 Apr;28(4):934-7. DOI: 10.1007/s11095-010-0313-5. Epub 2010 Nov 10. PMID: 21063753.
 55. Mattila S, Ruotsalainen P, Jalasvuori M. On-Demand Isolation of Bacteriophages Against Drug-Resistant Bacteria for Personalized Phage Therapy. *Front Microbiol.* 2015 Nov 13;6:1271. doi: 10.3389/fmicb.2015.01271. PMID: 26617601; PMCID: PMC4643220. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4643220/>
 56. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. *Ups J Med Sci.* 2019 Nov;124(4):218-227. doi: 10.1080/03009734.2019.1688433. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31724901; PMCID: PMC6968538. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6968538/>
 57. Dąbrowska K, Abedon ST. Pharmacologically Aware Phage Therapy: Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Obstacles to Phage Antibacterial Action in Animal and Human Bodies. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2019 Oct 30;83(4):e00012-19. doi: 10.1128/MMBR.00012-19. PMID: 31666296; PMCID: PMC6822990. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6822990/>
 58. Łusiak-Szelachowska M, Zaczek M, Weber-Dąbrowska B, et al. A phage neutralization by sera of patients receiving phage therapy. *Viral Immunol.* 2014 Aug;27(6):295-304. doi: 10.1089/vim.2013.0128. Epub 2014 Jun 3. PMID: 24893003; PMCID: PMC4076984. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4076984/>
 59. Bruttin A, Brüssow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Jul;49(7):2874-8. doi: 10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005. PMID: 15980363; PMCID: PMC1168693. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15980363/>
 60. Monsur KA, Rahman MA, Huq F, Islam MN, et al. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull World Health Organ.* 1970;42(5):723-32. PMID: 4988693; PMCID: PMC2427496. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2427496/>
 61. Dufour N, Clermont O, La Combe B, et al. Bacteriophage LM33_P1, a fast-acting weapon against the pandemic ST131-O25b:H4 *Escherichia coli* clonal complex. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Nov;71(11):3072-3080. doi: 10.1093/jac/dkw253. Epub 2016 Jul 7. PMID: 27387322. <https://hal.science/pasteur-01539016>
 62. Oechslin F, Piccardi P, Mancini S, et al. Synergistic Interaction Between Phage Therapy and Antibiotics Clears *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Endocarditis and Reduces Virulence. *J Infect Dis.* 2017 Mar 1;215(5):703-712. doi: 10.1093/infdis/jiw632. PMID: 28007922; PMCID: PMC5388299. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5388299/>
 63. LaVergne S, Hamilton T, Biswas B, et al. Phage Therapy for a Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Craniectomy Site Infection. *Open Forum Infect Dis.* 2018 Mar 23;5(4):ofy064. doi: 10.1093/ofid/ofy064. PMID: 29687015; PMCID: PMC5905571. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905571/>
 64. Aviram I, Rabinovitch A. Dynamical types of bacteria and bacteriophages interaction: shielding by debris. *J Theor Biol.* 2008 Mar 7;251(1):121-36. doi: 10.1016/j.jtbi.2007.11.003. Epub 2007 Nov 13. PMID: 18160076. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18160076/>
 65. Van Bellegem JD, Merabishvili M, Vergauwen B, et al. A comparative study of different strategies for removal of endotoxins from bacteriophage preparations. *J Microbiol Methods.* 2017 Jan;132:153-159. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.11.020. Epub 2016 Nov 29. PMID: 27913133.
 66. Dufour N, Delattre R, Ricard JD, et al. The Lysis of Pathogenic *Escherichia coli* by Bacteriophages Releases Less Endotoxin Than by β -Lactams. *Clin Infect Dis.* 2017 Jun 1;64(11):1582-1588. doi: 10.1093/cid/cix184. PMID: 28329379; PMCID: PMC5434335. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5434335/>
 67. Gogokhia L, Buhre K, Bell R, et al. Expansion of Bacteriophages Is Linked to Aggravated Intestinal Inflammation and Colitis. *Cell Host Microbe.* 2019 Feb 13;25(2):285-299.e8. doi: 10.1016/j.chom.2019.01.008. PMID: 30763538; PMCID: PMC6885004. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6885004/>
 68. Shiley JR, Comfort KK, Robinson JB. Immunogenicity and antimicrobial effectiveness of *Pseudomonas aeruginosa* specific bacteriophage in a human lung in vitro model. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2017 Nov;101(21):7977-7985. DOI: 10.1007/s00253-017-8504-1. Epub 2017 Sep 15. PMID:

- 28914348.
69. Freyberger H.R. He Y. Roth A.L. et al. Effects of *Staphylococcus aureus* bacteriophage k on expression of cytokines and activation markers by human dendritic cells in vitro. *Viruses*. 2018; 10: 617. <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/11/617>
70. Majewska J, Beta W, Lecion D, et al. Oral Application of T4 Phage Induces Weak Antibody Production in the Gut and in the Blood. *Viruses*. 2015 Aug 20;7(8):4783-99. doi: 10.3390/v7082845. PMID: 26308042; PMCID: PMC4576206. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4576206/>
71. Majewska J, Kaźmierczak Z, Lahutta K, et al. Induction of Phage-Specific Antibodies by Two Therapeutic Staphylococcal Bacteriophages Administered per os. *Front Immunol*. 2019 Nov 14;10:2607. doi: 10.3389/fimmu.2019.02607. PMID: 31803179; PMCID: PMC6871536. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6871536/>
72. Abd El-Aziz AM, Elgaml A, Ali YM. Bacteriophage Therapy Increases Complement-Mediated Lysis of Bacteria and Enhances Bacterial Clearance After Acute Lung Infection With Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis*. 2019 Apr 16;219(9):1439-1447. doi: 10.1093/infdis/jiy678. PMID: 30476337. <https://academic.oup.com/jid/article/219/9/1439/5199417?login=false>
73. Żaczek M, Łusiak-Szelachowska M, Jończyk-Matysiak E, et al. Antibody Production in Response to Staphylococcal MS-1 Phage Cocktail in Patients Undergoing Phage Therapy. *Front Microbiol*. 2016 Oct 24;7:1681. doi: 10.3389/fmicb.2016.01681. PMID: 27822205; PMCID: PMC5075762. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5075762/>
74. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol*. 2010 May;8(5):317-27. DOI: 10.1038/nrmicro2315. Epub 2010 Mar 29. PMID: 20348932.
75. Vale PF, Little TJ. CRISPR-mediated phage resistance and the ghost of coevolution past. *Proc Biol Sci*. 2010 Jul 22;277(1691):2097-103. doi: 10.1098/rspb.2010.0055. Epub 2010 Mar 17. PMID: 20236977; PMCID: PMC2880148. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2880148/>
76. Cortez MH, Weitz JS. Coevolution can reverse predator-prey cycles. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 May 20;111(20):7486-91. doi: 10.1073/pnas.1317693111. Epub 2014 May 5. PMID: 24799689; PMCID: PMC4034221. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034221/>
77. El Haddad L, Harb CP, Gebara MA, et al. A Systematic and Critical Review of Bacteriophage Therapy Against Multidrug-resistant *ESKAPE* Organisms in Humans. *Clin Infect Dis*. 2019 Jun 18;69(1):167-178. doi: 10.1093/cid/ciy947. PMID: 30395179. <https://academic.oup.com/cid/article/69/1/167/5159998?login=false>
78. Zhvania P, Hoyle NS, Nadareishvili L, et al. Phage Therapy in a 16-Year-Old Boy with Netherton Syndrome. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Jul 3;4:94. doi: 10.3389/fmed.2017.00094. PMID: 28717637; PMCID: PMC5494523. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5494523/>
79. Roach DR, Leung CY, Henry M, et al. Synergy between the Host Immune System and Bacteriophage Is Essential for Successful Phage Therapy against an Acute Respiratory Pathogen. *Cell Host Microbe*. 2017 Jul 12;22(1):38-47.e4. doi: 10.1016/j.chom.2017.06.018. PMID: 28704651. [https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128\(17\)30258-5?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312817302585%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(17)30258-5?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312817302585%3Fshowall%3Dtrue)
80. Wright R.C.T., Friman V.P., Smith M.C.M. et al. Resistance evolution against phage combinations depends on the timing and order of exposure. *mBio*. 2019; 10 (e01652-01619). 81 <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01652-19>
81. Chhibber S, Bansal S, Kaur S. Disrupting the mixed-species biofilm of *Klebsiella pneumoniae* B5055 and *Pseudomonas aeruginosa* PAO using bacteriophages alone or in combination with xylitol. *Microbiology (Reading)*. 2015 Jul;161(7):1369-77. doi: 10.1099/mic.0.000104. Epub 2015 Apr 28. PMID: 25922418. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.000104#tab2>
82. Comeau AM, Tétart F, Trojet SN, et al. Phage-Antibiotic Synergy (PAS): beta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS One*. 2007 Aug 29;2(8):e799. doi: 10.1371/journal.pone.0000799. PMID: 17726529; PMCID: PMC1949050. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1949050/>
83. Kamal F, Dennis JJ. *Burkholderia cepacia* complex Phage-Antibiotic Synergy (PAS): antibiotics stimulate lytic phage activity. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Feb;81(3):1132-8. doi: 10.1128/AEM.02850-14. Epub 2014 Dec 1. PMID: 25452284; PMCID: PMC4292504. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4292504/>

84. Chan BK, Siström M, Wertz JE, et al. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Rep*. 2016 May 26;6:26717. doi: 10.1038/srep26717. PMID: 27225966; PMCID: PMC4880932. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880932/>
85. Chatterjee A, Johnson CN, Luong P, et al. Bacteriophage Resistance Alters Antibiotic-Mediated Intestinal Expansion of *Enterococci*. *Infect Immun*. 2019 May 21;87(6):e00085-19. doi: 10.1128/IAI.00085-19. PMID: 30936157; PMCID: PMC6529655. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6529655/>
86. Dickey J, Perrot V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms in vitro. *PLoS One*. 2019 Jan 16;14(1):e0209390. doi: 10.1371/journal.pone.0209390. PMID: 30650088; PMCID: PMC6334939. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6334939/>
87. Knezevic P, Curcin S, Aleksic V, et al. Phage-antibiotic synergism: a possible approach to combatting *Pseudomonas aeruginosa*. *Res Microbiol*. 2013 Jan;164(1):55-60. DOI: 10.1016/j.resmic.2012.08.008. Epub 2012 Sep 7. PMID: 23000091.
88. Akturk E., Oliveira H. Santos S.B. et al. Synergistic action of phage and antibiotics: parameters to enhance the killing efficacy against mono and dual-species biofilms. *Antibiotics*. 2019; 8: 103. <https://www.mdpi.com/2079-6382/8/3/103>.
89. Ferry T, Leboucher G, Fevre C, Lyon BJI Study Group. Salvage Debridement, Antibiotics and Implant Retention ("DAIR") With Local Injection of a Selected Cocktail of Bacteriophages: Is It an Option for an Elderly Patient With Relapsing *Staphylococcus aureus* Prosthetic-Joint Infection? *Open Forum Infect Dis*. 2018 Oct 24;5(11):ofy269. doi: 10.1093/ofid/ofy269. PMID: 30474047; PMCID: PMC6240628. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6240628/>
90. Tkhilashvili T, Winkler T, Müller M, et al. Bacteriophages as Adjuvant to Antibiotics for the Treatment of Periprosthetic Joint Infection Caused by Multi-drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Dec 20;64(1):e00924-19. doi: 10.1128/AAC.00924-19. PMID: 31527029; PMCID: PMC7187616. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7187616/>
91. Furfaro LL, Payne MS, Chang BJ. Bacteriophage Therapy: Clinical Trials and Regulatory Hurdles. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 Oct 23;8:376. doi: 10.3389/fcimb.2018.00376. PMID: 30406049; PMCID: PMC6205996. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6205996/>
92. ANSM Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé Comité scientifique spécialisé temporaire: phagothérapie. http://ansm.sante.fr/content/download/91159/1144681/version/1/file/CR_CSST_Phagotherapie_CSST201611013_24-03-2016.pdf2016
93. Pirnay JP, Ferry T, Resch G. Recent progress toward the implementation of phage therapy in Western medicine. *FEMS Microbiol Rev*. 2022 Jan 18;46(1):fuab040. doi: 10.1093/femsre/fuab040. PMID: 34289033. <https://academic.oup.com/femsre/article/46/1/fuab040/6325169?login=false>
94. NIH. U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=bacteriophages&cntry=&state=&city=&dist=>
95. Uyttebroek S, Chen B, Onsea J, et al. Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2022 Aug;22(8):e208-e220. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00612-5. Epub 2022 Mar 3. PMID: 35248167.
96. Duplessis C, Stockelman MG, Hamilton T, et al. A case series of emergency investigational new drug applications for bacteriophages treating recalcitrant multi-drug resistant bacterial infections: confirmed safety and a signal of efficacy. *J Intensive Crit Care* 2019; 5: 11. <https://www.primescholars.com/articles/a-case-series-of-emergency-investigational-new-drug-applications-for-bacteriophages-treating-recalcitrant-multidrug-resi-96802.html>
97. Tagliaferri TL, Jansen M, Horz HP. Fighting Pathogenic Bacteria on Two Fronts: Phages and Antibiotics as Combined Strategy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019 Feb 18;9:22. doi: 10.3389/fcimb.2019.00022. PMID: 30834237; PMCID: PMC6387922. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6387922/>
98. Doub JB, Johnson AJ, Nandi S, Ng V, Manson T, Lee M, Chan B. Experience Using Adjuvant Bacteriophage Therapy for the Treatment of 10 Recalcitrant Periprosthetic Joint Infections: A Case Series. *Clin Infect Dis*. 2023 Feb 8;76(3):e1463-e1466. doi: 10.1093/cid/ciac694. PMID: 36104853. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36104853/>
99. Aslam S, Lampley E, Wooten D, et al. Lessons Learned From the First 10 Consecutive Cases of Intravenous Bacteriophage Therapy to Treat Multidrug-Resistant Bacterial Infections at a Single Center in the

- United States. *Open Forum Infect Dis.* 2020 Aug 27;7(9):ofaa389. doi: 10.1093/ofid/ofaa389. PMID: 33005701; PMCID: PMC7519779. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7519779/>
100. Amorim JH, Del Cogliano ME, Fernandez-Brando RJ, Bilén MF, Jesus MR, Luiz WB, Palermo MS, Ferreira RC, Servat EG, Ghiringhelli PD, Ferreira LC, Bentancor LV. Role of bacteriophages in STEC infections: new implications for the design of prophylactic and treatment approaches. *F1000Res.* 2014 Mar 18;3:74. doi: 10.12688/f1000research.3718.2. PMID: 25580222; PMCID: PMC4288416. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4288416/>
101. Del Cogliano ME, Pinto A, Goldstein J, Zotta E, Ochoa F, Fernández-Brando RJ, Muniesa M, Ghiringhelli PD, Palermo MS, Bentancor LV. Relevance of Bacteriophage 933W in the Development of Hemolytic Uremic Syndrome (HUS). *Front Microbiol.* 2018 Dec 13;9:3104. doi: 10.3389/fmicb.2018.03104. PMID: 30619183; PMCID: PMC6300567. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6300567/>
102. Del Cogliano ME, Hollmann A, Martínez M, Semorile L, Ghiringhelli PD, Maffía PC, Bentancor LV. Cationic Antimicrobial Peptides Inactivate Shiga Toxin-encoding Bacteriophages. *Front Chem.* 2017 Dec 19;5:122. doi: 10.3389/fchem.2017.00122. PMID: 29312928; PMCID: PMC5742231. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742231/>
103. Torres AG, Amaral MM, Bentancor L, Galli L, Goldstein J, Krüger A, Rojas-Lopez M. Recent Advances in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Research in Latin America. *Microorganisms.* 2018 Sep 28;6(4):100. doi: 10.3390/microorganisms6040100. PMID: 30274180; PMCID: PMC6313304. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6313304/>

Phagotherapy: an emerging alternative in the antibiotic multidrug resistance era

The rising antimicrobial resistance associated with the crisis in new antibiotics production and the human and economic consequences of this phenomenon constitute a complex scenario that requires the urgent development of alternative antimicrobial strategies. Bacteriophages are viruses that infect and lyse bacteria. They have been known for over a century but in the last two decades, phage administration has gained popularity worldwide. There is an extensive body of preclinical and clinical evidence that positions phage therapy as one of the main tools for the treatment of difficult-to-treat infections. Although this is conceptually promising, its implementation is limited by the paucity of clinical data on safety and efficacy, obtained according to current scientific standards. This review describes the most relevant data on phage biology, pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects known to date, regulatory issues, and the most relevant clinical results.

Key words: fagotherapy bacteriophage, phage, difficult-to-treat infections, antimicrobial resistance.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>