



Facultad de Veterinaria

Trabajo de
Fin de Grado

La fagoterapia como alternativa a los antibióticos

María Costoya Maneiros

Grado en Veterinaria
Año 2023

Revisión bibliográfica

Licencia

Excepto donde se haga constar explícitamente, esta obra pertenece a María Costoya Maneiros y está bajo una licencia de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.



Resumen

El auge de las resistencias antimicrobianas constituyen, en la actualidad, una problemática global. El tratamiento frente a las infecciones con bacterias superresistentes supone un reto que lleva a la necesidad de encontrar alternativas no antibióticas para su tratamiento. Entre estas alternativas, este trabajo destaca una ya descubierta hace años, la fagoterapia. La fagoterapia es el uso de virus capaces de infectar bacterias, los fagos, para infectar y producir la lisis de estas bacterias causantes de las infecciones. Esta terapia altamente específica presenta diferentes aplicaciones entre las que destacan el tratamiento de infecciones, su uso en seguridad alimentaria (mediante la eliminación de bacterias perjudiciales) y su empleo en el restablecimiento de la microbiota intestinal. En este momento, debido a inconvenientes como es la falta de regulación, su uso queda restringido a ensayos clínicos y a casos excepcionales, pero la seguridad y la eficacia que muestra en estos casos posiciona a la fagoterapia como una de las principales alternativas para llevar a cabo la lucha contra las bacterias resistentes.

Palabras clave: resistencias antimicrobianas, bacterias superresistentes, alternativas no antibióticas, fagoterapia, fagos, aplicaciones fagoterapia.

O auxe das resistencias antimicrobianas constitúen, na actualidade, unha problemática global. O tratamento fronte ás infeccións con bacterias superresistentes supoñe un reto que leva á necesidade de atopar alternativas non antibióticas para o seu tratamento. Entre estas alternativas, este traballo destaca unha xa descuberta hai anos, a fagoterapia. A fagoterapia é o uso de virus capaces de infectar bacterias, os fagos, para infectar e producir a lisis destas bacterias causantes das infeccións. Esta terapia altamente específica presenta diferentes aplicacións entre as que destacan o tratamento de infeccións, o seu uso en seguridade alimentaria (mediante a eliminación de bacterias prexudiciais) e o seu emprego no restablecemento da microbiota intestinal. Neste momento, debido a inconvenientes como é a falta de regulación, seu uso queda restrinxido a ensaios clínicos e a casos excepcionais, mais a seguridade e a eficacia que mostra nestes casos posiciona á fagoterapia como unha das principais alternativas para levar a cabo a loita contra as bacterias resistentes.

Palabras clave: resistencias antimicrobianas, bacterias superresistentes, alternativas non antibióticas, fagoterapia, fagos, aplicacións fagoterapia.

The rise of antimicrobial resistance is currently a global problem. The treatment of infections with super-resistant bacteria is a challenge that leads to the need to find non-antibiotic alternatives for their treatment. Among these alternatives, this work highlights one already discovered years ago, phage therapy. Phage therapy is the use of bacteria-infecting viruses, phages, to infect and lysis the bacteria causing the infections. This highly specific therapy has different applications, including the treatment of infections, its use in food safety (by

eliminating harmful bacteria) and its use in the restoration of the intestinal microbiota. At the moment, due to inconveniences such as lack of regulation, its use is restricted to clinical trials and exceptional cases, but the safety and efficacy it shows in these cases positions phage therapy as one of the main alternatives to carry out the fight against resistant bacteria.

Keywords: antimicrobial resistance, super-resistant bacterias, non-antibiotic alternatives, phage therapy, phages, phage therapy applications.

Índice

1. Introducción: Resistencias antimicrobianas	1
1.1 ¿Qué son?	1
1.2 Principales antibióticos	4
1.3 Mecanismos de resistencia bacteriana y principales bacterias resistentes	5
1.4 Líneas de acción	9
2. Alternativas al uso de antimicrobianos	12
3. Fagoterapia	15
3.1 ¿Qué es?	15
3.2 Mecanismo de acción de los fagos	16
3.3 Pasos de la fagoterapia	17
3.4 Ensayos clínicos	18
4. Aplicación	19
4.1 Antiinflamatorio	19
4.2 Seguridad alimentaria	19
4.3 Recuperación COVID-19	20
4.4 Combinación con nanotecnología	21
4.5 Tratamiento de infecciones	24
Caso clínico 1	25
Caso clínico 2	25
Estudio clínico	26
4.6 Problemática en su uso	27
5. Conclusiones	28
Bibliografía	29

1. Introducción: Resistencias antimicrobianas

1.1 ¿Qué son?

Las resistencias antimicrobianas surgen cuando las bacterias, virus, hongos o parásitos adquieren la capacidad de sobrevivir frente a un antimicrobiano (Organización Mundial de la Salud, 2020a). Se trata de un fenómeno natural que se ha visto aumentado debido al uso excesivo y, en muchas ocasiones, erróneo de los antimicrobianos. Esto, junto con la falta de nuevos fármacos frente a los cuales no existan resistencias, supone una urgencia global (O' Neill, 2014).

Según la Organización Mundial de la Salud, OMS (2020a) “es una de las diez principales amenazas de salud pública a las que se enfrenta la humanidad”, afectando tanto a esta como a la economía. En cuanto a la salud pública, la existencia de resistencias deriva en menos opciones de tratamientos junto con un aumento de la mortalidad y de la morbilidad (Kumar et al., 2021), así como un aumento del riesgo ante la realización de determinados procedimientos como son las cirugías. Por otro lado, la menor productividad debido a la enfermedad, tanto animal como humana, junto con el desafío que supone su tratamiento, por la necesidad de nuevos medicamentos, inversiones a largo plazo... genera una problemática económica global (Organización Mundial de la Salud, 2016).

En la actualidad, en Europa, mueren en torno a 33.000 personas al año debido a infecciones causadas por bacterias que presentan resistencias y, en España, en torno a 3.000 debido a la misma causa. De no tomarse medidas, se estima que dentro de unos años podría llegar a posicionarse como primera causa de muerte, por encima del cáncer, causando en torno a 390.000 muertes al año en Europa (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2019).

Diversos factores favorecen la aparición de estas resistencias, se debe tener en cuenta tanto a las personas como a los animales, los alimentos y el medio ambiente (Kumar et al., 2021) así como a las propias bacterias.

Las bacterias, como grupo, presentan una gran capacidad de adaptación debido, fundamentalmente, a la elevada tasa de reproducción que permite que exista un elevado número de mutaciones, algunas de las cuales resultan beneficiosas. Esto junto con la capacidad de movilizar y adquirir material genético permite que sean reservorio de genes que configuren, entre otras cosas, mecanismos de resistencia a los antibióticos (Rodicio, 2021).

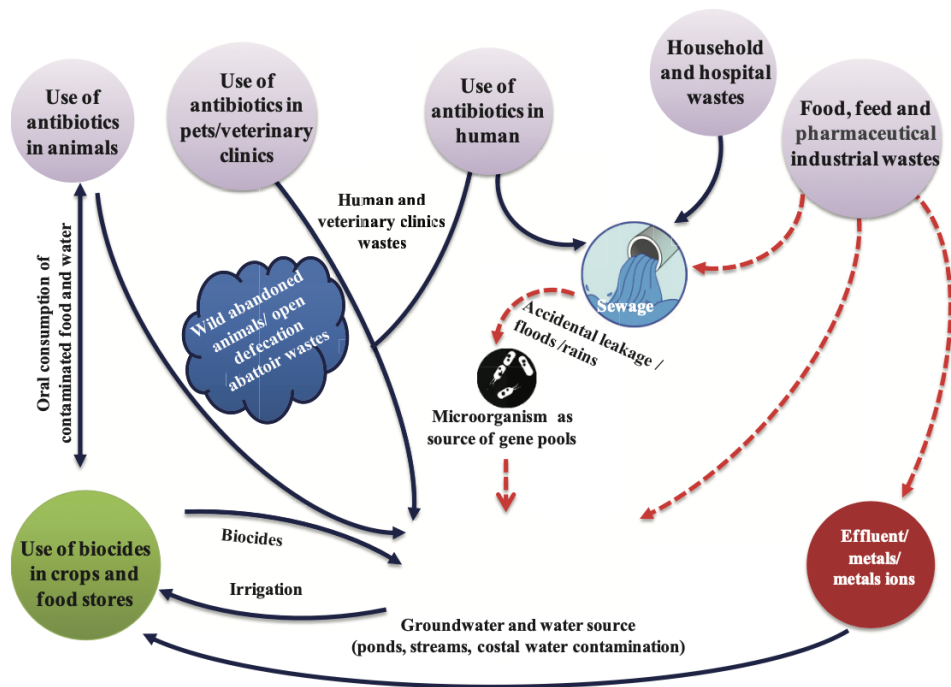
En el ser humano y en los animales cabe destacar el uso indebido y el sobreuso de antimicrobianos. Esto se debe a la administración de antibióticos cuando no es necesario (como en el caso de enfermedades víricas), cuando no existe un diagnóstico siendo así un patógeno desconocido o cuando no se realizan antibiogramas (entre otros). Otro factor importante es la automedicación y el mal uso por parte de los pacientes de forma que no se respetan dosis,

tiempo de duración del tratamiento, no se selecciona el antibiótico adecuado... (Rodicio, 2021). Es importante tener en cuenta también que la administración de antibióticos de forma general favorece una selección de bacterias resistentes propias de la microbiota normal o del ambiente y que, pese a no ser patógenas, suponen un reservorio de genes de resistencia (Rodicio, 2021). La microbiota humana es uno de los principales reservorios de estos genes de resistencia, pero la transmisión de estos desde las bacterias propias de la microbiota a las bacterias patógenas sucede fundamentalmente entre bacterias relacionadas entre sí.

En el caso concreto de los animales, cabe destacar también su uso (ahora prohibido) como promotor del crecimiento o su uso como método preventivo. Otro factor importante a tener en cuenta es la liberación de antibióticos, o sus metabolitos, y de bacterias resistentes al medio ambiente, esto puede ocurrir en aguas residuales o mediante desechos biológicos como son las heces, la orina, así como la leche o la carne, como se observa en la Figura 1 (Kumar et al., 2021). Es posible la llegada de bacterias resistentes a lagos, mares, ríos y demás incluso aunque el agua pase por plantas de tratamiento (Centers for Disease Control and Prevention, 2021). Asimismo otros productos como pueden ser los herbicidas, pesticidas, diferentes fármacos, desinfectantes... contribuyen favoreciendo la selección de microorganismos resistentes. Se debe tener en cuenta también la existencia de bacterias propias del entorno que suponen una fuente de genes de resistencia (Vikesland et al., 2019).

Figura 1

Propagación de bacterias resistentes.



Nota. Adaptado de “Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review” (p. 5), por M. Kumar, D.K. Sarma, S. Shubham, M. Kumawat, V. Verma, P.B. Nina, D. JP, S. Kumar, B. Singh, y R.R. Tiwari, 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12.

Teniendo en cuenta esta interdependencia entre la salud humana, la salud animal y el medio ambiente, es importante llevar a cabo un enfoque desde la perspectiva de “One Health”.

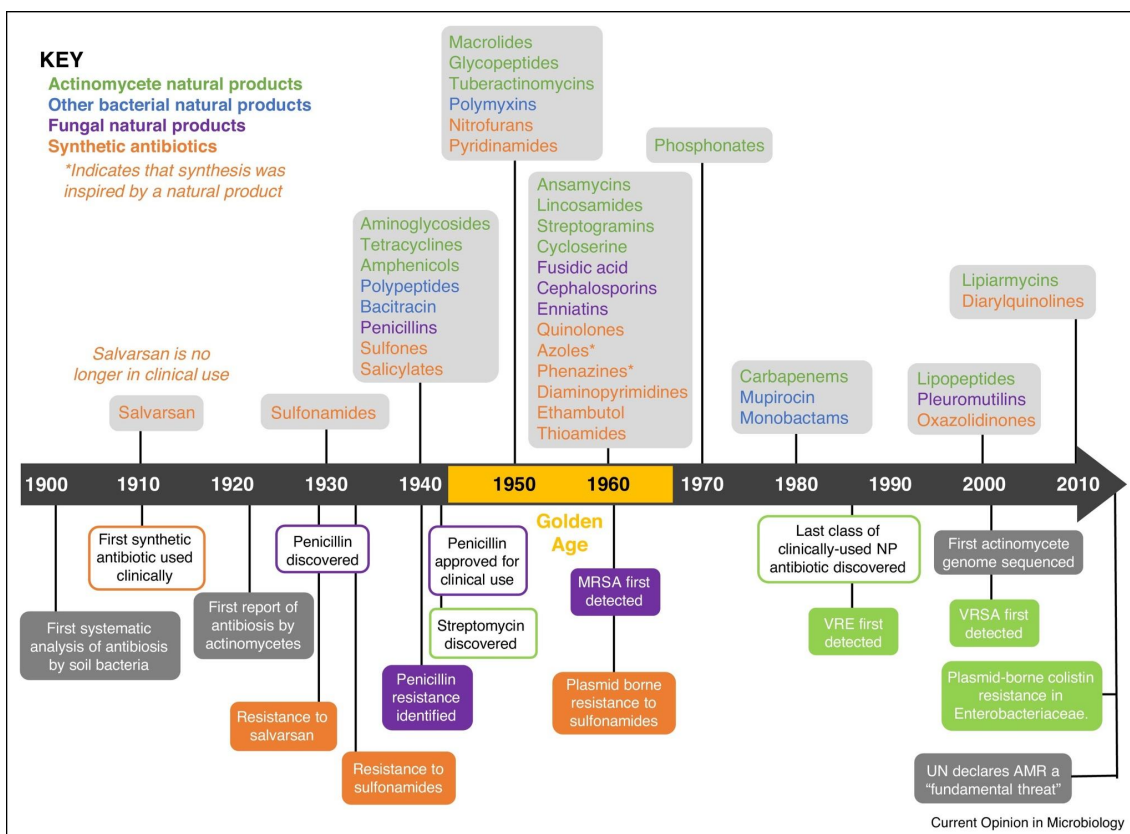
One Health es un concepto diseñado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) con el que se busca tener en cuenta la interdependencia entre la sanidad animal, la salud humana y la medioambiental para afrontar la gestión de los diferentes riesgos sanitarios mundiales (enfermedades y/o amenazas sanitarias como la resistencia a los antibióticos) y lograr una cooperación de los diferentes sectores. De esta forma se lleva a cabo un enfoque unificador formando una Alianza Cuadripartita entre la OMSA, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y la OMS. Para llevar a cabo esta gestión es necesario la implantación de un marco de acción, esto es lo que se establece en el Plan de Acción Conjunto “Una salud”. En cuanto a la lucha contra la resistencia a los antibióticos, la OMSA establece normas internacionales para su control, busca apoyar la buena gobernanza, reforzar los conocimientos y mejorar la concienciación y la comprensión (Organización Mundial de Sanidad Animal, s.f.).

1.2 Principales antibióticos

El descubrimiento de los antimicrobianos a inicios del siglo XX supuso un hecho revolucionario que permitió la evolución de la medicina, no sólo por el tratamiento de las enfermedades en sí, si no por permitir iniciar también otros procedimientos como los trasplantes (Chávez-Jacobo, 2020). Unos años tras el descubrimiento del primer antibiótico se inicia la edad de oro de los antibióticos donde se descubren gran cantidad de ellos como las cefalosporinas, carbapenemes o los β -lactámicos (Rodicio, 2021). Pero junto con esto, se inicia también un periodo en el cual se produce una difusión y un rápido aumento de las resistencias (Akram et al., 2023). En la Figura 2 se indica de forma esquemática la línea temporal del descubrimiento de estos antibióticos incluyendo esa edad de oro así como la aparición de las resistencias.

Figura 2

Línea temporal del descubrimiento de los antibióticos



Nota. Adaptado de “Antibiotics: past, present and future” (p.73), por M. I. Hutchings, A. W. Truman, y B. Wilkinson, 2019, *Current Opinion in Microbiology*, 51.

Ya en 1924 se detecta una bacteria resistente, tras esto, en 1942 se detecta resistencia a la penicilina por parte de *Staphylococcus aureus* y en los sucesivos años se van identificando más bacterias resistentes como *Escherichia coli*, *Salmonella spp...* (Li et al., 2022). Esto junto con el

uso excesivo de los antibióticos y la caída en el descubrimiento de nuevos antibióticos deriva en la problemática actual (Hutchings et al., 2019).

Los antibióticos pueden ejercer su acción de varias formas. En la Tabla 1 (Obando et al., 2020) se indican los principales grupos de antibióticos con su mecanismo de acción.

Tabla 1

Principales grupos de antibióticos.

Grupo antibiótico		Modo acción
Aminoglucósidos		Inhibición síntesis proteica
Anfenicoles		
Lincosamidas		
Macrólidos		
Oxazolidinonas		
Tetraciclinas		
β-lactámicos	Penicilinas	Inhibición síntesis pared celular
	Cefalosporinas	
	Monobactámicos	
	Carbapenemes	
	Inhibidores de β-lactamasa	
Glucopéptidos		
Nitroimidazoles		Daño oxidativo ADN
Quinolonas		Inhibición ADN-girasa
Rifamicinas		Interferencia transcripción ADN
Sulfonamidas		Inhibición síntesis ácido fólico

1.3 Mecanismos de resistencia bacteriana y principales bacterias resistentes

Existen tres tipos de resistencias: natural, intrínseca y adquirida. La resistencia natural es la que posee una bacteria por el hecho de no tener la diana de actuación, un ejemplo es la resistencia que presentan las bacterias Gram positivas frente a fármacos, las polimixinas, que actúan sobre un componente de la membrana que no presentan, por otro lado, las Gram negativas sí que lo presentan por lo que estas son sensibles (Rodicio, 2021). La resistencia intrínseca es un

mecanismo natural de las bacterias que se encuentra de forma inherente en los propios genes de las bacterias como puede ser la síntesis de biofilms (Akram et al., 2023) Este tipo de resistencia se basa en diversas estrategias que evitan que el fármaco ejerza su acción (Rodicio, 2021). Uno de estos mecanismos de resistencia, o una de estas estrategias, es la disminución de la permeabilidad de la pared de la bacteria mediante modificaciones en las porinas de forma que se puede impedir el paso del fármaco al interior de la bacteria. Por otro lado, cuando el antimicrobiano se encuentra en la bacteria, algunas pueden emplear bombas de eflujo que permite la expulsión del mismo o su transporte al exterior sin que sufra modificaciones de forma que no ejerce su acción (Moreno et al., 2009).

Otra estrategia es la síntesis por parte de las bacterias de enzimas que alteran la estructura del antibiótico de forma que se bloquea su acción, así como la síntesis de de enzimas hidrolíticas las cuales producen la hidrólisis del antimicrobiano por lo que este no es efectivo.

Finalmente, puede modificarse la diana o sintetizarse una diana alternativa de forma que, o bien no puede unirse porque no es reconocida, o bien no se ve afectada.

A diferencia de esta, la resistencia adquirida es la que presentan las bacterias que eran sensibles, pero que, o bien por mutación o bien por ADN exógeno, obtuvieron un gen de resistencia (Rodicio, 2021).

Las resistencias pueden transferirse por dos vías: vía vertical o vía horizontal (Kumar et al., 2021). La resistencia intrínseca sólo se puede transferir por vía vertical (de bacterias resistentes parentales a sus descendientes) mientras que la adquirida puede ser tanto por la vía horizontal como la vertical (Li et al., 2022).

En cuanto a la vía horizontal, se trata del paso de información genética de una bacteria a otra tanto entre bacterias de la misma especie como bacterias que no lo son. Esta acción se puede llevar a cabo por tres vías: conjugación, transducción o transformación.

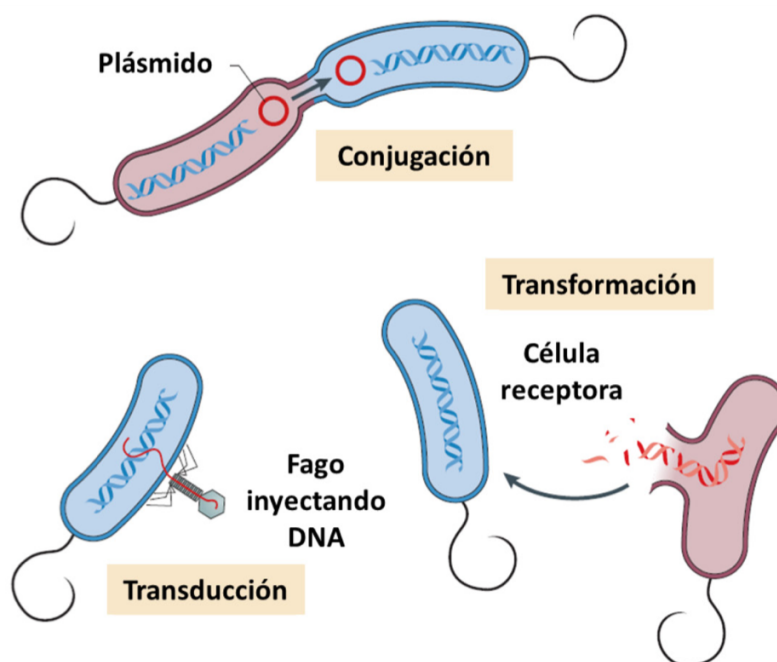
La conjugación se lleva a cabo a través de poros. Cuando se establece un contacto estrecho entre bacterias, a través de los poros de conjugación, se traspasan elementos genéticos móviles en los cuales se encuentran los genes de resistencia (Moreno et al., 2009).

La transducción se produce mediante bacteriófagos (virus que atacan bacterias) mediante la introducción de material genético en el interior de la bacteria y su integración en el genoma propio (Chávez-Jacobo, 2020).

Finalmente, la transformación se realiza mediante la integración de ADN exógeno el cual se integra en el genoma al igual que en la transducción (Moreno et al., 2009). En la Figura 3 se muestran estos tres tipos de vías de transmisión.

Figura 3

Transmisión de resistencias por vía horizontal



Nota. Adaptado de “La batalla contra las superbacterias: No más antimicrobianos, no hay ESKAPE. TIP.” (p. 4), por V.M. Chávez-Jacobo, 2020, *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23.

Debido a que no existe un límite en la adquisición de estas resistencias, existen bacterias superresistentes denominadas superbacterias (Chávez-Jacobo, 2020). Asimismo, se pueden dividir estas bacterias en tres categorías en función de su resistencia: MDR (multidrug-resistance), XDR (extensively drug-resistance) y PDR (pandrug-resistance). Las MDR poseen resistencia a tres o más familias de antibióticos de relevancia, las XDR a un antibiótico de todas las familias de antibióticos (excepto una o dos) y PDR son resistentes a todos los antibióticos de todas las familias (Rodicio, 2021).

La OMS realiza una categorización de las bacterias resistentes en tres grupos en función de la necesidad (y la urgencia) de nuevos antibióticos para tratarlas, estas son: prioridad crítica, alta y media. Las bacterias que se encuentran reunidas en esa primera categoría de prioridad crítica son las bacterias multirresistentes que muestran una resistencia frente a los carbapenemas y las cefalosporinas de 3ª generación y que suelen producir infecciones graves (Organización Mundial de la Salud, 2017). En la Figura 4 se indican las bacterias que pertenecen a cada categoría.

Figura 4

Bacterias resistentes prioritarias según la OMS

BACTERIA	RESISTENCIA
Prioridad 1: CRÍTICA	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenemas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carbapenemas
<i>Enterobacterales</i>	Carbapenemas Cefalosporinas de 3ª generación
Prioridad 2: ALTA	
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina Vancomicina (R o I)
<i>Helicobacter pylori</i>	Claritomicina
<i>Campylobacter</i>	Fluoroquinolonas
<i>Salmonella</i>	Fluoroquinolonas
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cefalosporinas de 3ª generación Fluoroquinolonas
Prioridad 3: MEDIA	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penicilina
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilina
<i>Shigella spp</i>	Fluoroquinolonas

Nota. Adaptado de “Resistencia bacteriana a los antibióticos: ¿Pueden dejar de curar?” (p.33), por M. R. Rodicio, 2021, *Revista de la Academia Asturiana de Ciencia e Ingeniería*, 1.

Así, la OMS menciona bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter* o *Shigella spp*, entre otras, pero otra bacteria a mencionar, *Mycobacterium tuberculosis* es tratada a parte debido a su gran importancia. La tuberculosis resistente al tratamiento supone un gran problema de salud pública en la actualidad, los tratamientos son más prolongados, tienen un mayor riesgo y un elevado coste (Organización Mundial de la Salud, 2020b). Este microorganismo causante de la tuberculosis resistente a los medicamentos puede ser MDR o XDR. La MDR es resistente a los dos fármacos que se usan de forma habitual para su tratamiento, la isoniazida y la rifampina. Por otro lado, la XDR es resistente a estos y a otros fármacos (Centers for Disease Control and Prevention, 2022).

Además, se identifica bajo el acrónimo ESKAPE a seis de las especies de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas multirresistentes con mayor importancia. Se trata de *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp* (Rodicio, 2021).

Enterococcus spp., principalmente *Enterococcus faecium* son bacterias anaerobias facultativas Gram positivas que presentan una resistencia frente a los antibióticos β -lactámicos así como glucopéptidos, en concreto frente a la vancomicina. Se trata de bacterias presentes en el suelo, en el agua así como en la microbiota tanto humana como animal y suelen aparecer en heridas e infecciones (Chávez-Jacobo, 2020) siendo un gran riesgo para el personal sanitario.

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva presente en la piel y en el tracto respiratorio superior causante de infecciones de la piel y de tejidos blandos. Presenta resistencia frente a los β -lactámicos así como a la vancomicina (Li et al., 2022). Esto, junto con los

diversos factores de virulencia que presenta, la convierte en una superbacteria que supone un riesgo para la salud pública (Chávez-Jacobo, 2020).

Klebsiella pneumoniae es una bacteria Gram negativa que puede ser encontrada en el tracto gastrointestinal así como en la nasofaringe (Li et al., 2022) y que está asociada a infecciones oportunistas (Chávez-Jacobo, 2020). Presenta resistencia a carbapenémicos, cefalosporinas de 3ª generación, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Li et al., 2022). Cabe destacar el uso de β -lactamasas como mecanismo de resistencia frente los carbapenémicos y las cefalosporinas así como su capacidad para formar biofilms y de generar asociaciones con otras bacterias lo que complica los tratamientos.

Acinetobacter baumannii es un cocobacilo Gram negativo frecuente en infecciones hospitalarias capaz de emplear β -lactamasas junto con otros factores de resistencia frente a antibióticos β -lactámicos, carbapenémicos y fluoroquinolonas (Chávez-Jacobo, 2020).

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria oportunista Gram negativa, anaerobia facultativa muy habitual en infecciones hospitalarias asociada fundamentalmente a pacientes inmunocomprometidos, debido al mecanismo de acción que lleva a cabo en los primeros estadios de la infección. Presenta resistencias frente a las fluoroquinolonas (Chávez-Jacobo, 2020), así como aminoglucósidos y β -lactámicos (Li et al., 2022).

Por último, *Enterobacter spp.*, se trata de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, habitual también en infecciones de pacientes inmunocomprometidos así como infecciones del tracto urinario. Presentan resistencia frente a β -lactámicos, fluoroquinolonas y aminoglucósidos siendo productores de β -lactamasas de espectro extendido. *Enterobacter cloacae* junto con *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son las tres enterobacterias con mayor número de resistencias (Chávez-Jacobo, 2020).

1.4 Líneas de acción

Debido a la amenaza frente a la salud pública y la crisis mundial que supone la resistencia a los antimicrobianos es necesario establecer un plan de actuación que permita gestionar de forma urgente este problema. En esta línea, en 2015, la Asamblea Mundial de la Salud adopta un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos basado en cinco objetivos:

1. Mejora de la concienciación y la comprensión mediante comunicación, educación formación
2. Refuerzo de los conocimientos y la base científica mediante vigilancia e investigación
3. Reducción de la incidencia de las infecciones a través de medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención
4. Utilización óptima de los medicamentos antimicrobianos

5. Preparación de argumentos económicos y aumento de la inversión en nuevos medicamentos

En cuanto al segundo objetivo, es importante tomar acción en la incidencia y prevalencia de los patógenos, aparición de las resistencias, caracterización rápida de las resistencias...

Para la reducción de la incidencia de las infecciones mencionadas en el tercer objetivo es necesario favorecer la inmunización mediante vacunas (tanto ya existentes como el desarrollo de nuevas vacunas), llevar a cabo medidas de prevención en todos los ámbitos (enfermedades de transmisión sexual, lavado de manos, alimentación...).

La reglamentación del uso de los antimicrobianos es fundamental para la utilización óptima de los mismos, esto junto con otros puntos como que la decisión de recetar antibióticos se base en un diagnóstico definitivo, conforman el cuarto objetivo.

Por último, el quinto objetivo busca evaluar las repercusiones económicas de la inversión sobre este problema, sobre el desarrollo de nuevos medicamentos, diagnósticos, vacunas... (Organización Mundial de la Salud, 2016)

Así, la OMS (2016) insta a todos los Estados Miembros a que pongan en marcha un plan de acción nacional sobre la resistencia a los antimicrobianos que siga el plan de acción mundial y las normas establecidas por los diferentes organismos intergubernamentales.

En España se lleva a cabo el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), este surge debido a la Comunicación de la Comisión Europea del 17 de noviembre de 2011 por la que se solicita a los Estados Miembros un Plan de acción sobre resistencias a los antibióticos. Se basa en una serie de líneas estratégicas las cuales tienen en consideración diversos puntos o aspectos. Uno de ellos es la complejidad que supone la selección y la diseminación de las resistencias, por esto, las respuestas tienen que ser coordinadas incluyendo a toda la sociedad, a los ganaderos, a los médicos, a los investigadores... Tiene que emplearse una estrategia que englobe tanto a la sanidad humana como a la animal y tener en cuenta que supone una de las principales amenazas para la salud pública a nivel mundial. Además, se ha demostrado que no es posible una solución por parte del sistema sanitario de forma individual y, por último, debe llevarse a cabo este plan teniendo en cuenta las acciones ya existentes (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015).

En el PRAN 2022-2024 se establecen seis objetivos o líneas principales para actuar frente a las resistencias desde una perspectiva “One Health”.

1. Vigilancia del consumo de antibióticos y de las resistencias
2. Control de la resistencia a antibióticos
3. Prevención
4. Investigación
5. Formación
6. Comunicación

La primera línea es la vigilancia del consumo de antibióticos y de las resistencias tanto en animales como en humanos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022). Esta línea busca afianzar y/o implementar sólidas redes de vigilancia que permitan conocer el uso y el consumo de los antibióticos basándose en cuatro medidas: monitorizar el consumo de antibióticos, mejorar la vigilancia de la resistencia, controlar el uso de antibióticos críticos y participar en proyectos europeos e internacionales (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015). Para ello, se emplean los indicadores de consumo y los mapas de consumo (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022). Algunos ejemplos de indicadores de consumo son: consumo de penicilinas sensibles a betalactamasas, consumo de macrólidos, consumo de cefalosporinas de 3ª generación... (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2017a). Es muy importante también la clasificación de los antibióticos llevada a cabo por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA). Con ella se intenta establecer qué antibióticos deben usarse como tratamiento de primera línea, siempre que las resistencias que presentan las bacterias implicadas en ese caso en concreto lo permitan, e ir ascendiendo de categoría según la necesidad intentando dejar la categoría A y B como últimas opciones. (EMA, 2020).

La segunda línea es el control de la resistencia a antibióticos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022). Esta línea se basa también en cuatro medidas que son: controlar la difusión de resistencias, diseñar y difundir herramientas para la promoción de las buenas prácticas de uso de antibióticos, elaborar directrices para la prescripción excepcional y limitar el uso profiláctico de antibióticos a casos con necesidades clínicas definidas (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015). Así, en la salud humana, cobra especial importancia la implementación de los Programas de Optimización de Uso de los Antibióticos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022) cuyos principales objetivos son la mejora en los resultados y la reducción de los efectos adversos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2017b). Tanto en medicina humana como veterinaria, se recomienda la ayuda en la prescripción con el uso de guías terapéuticas antimicrobianas. En lo relativo a la salud animal, se destaca también el empleo de programas denominados “Reduce” para la reducción voluntaria del consumo de antibióticos en diversas especies.

La tercera línea se basa en la prevención para evitar el uso de los antibióticos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022) y contiene otras cuatro medidas: fomentar la mejora de las medidas de higiene, manejo y bienestar animal, promover el desarrollo y uso de pruebas de sensibilidad y métodos de diagnóstico rápido, desarrollar recomendaciones para reducir el riesgo de infección y transmisión de organismos en el ámbito hospitalario y fomentar la adopción de medidas para mejorar las condiciones de administración de los productos antiguos que contienen antibióticos no críticos (Agencia Española de Medicamentos y

Productos Sanitarios, 2015). Esto se consigue llevando a cabo programas de higiene de manos, programas de prevención de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria en pacientes críticos, programas para la prevención de infecciones quirúrgicas o, en sanidad animal, fomentar la disponibilidad de medicamentos veterinarios (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022). En esta línea es importante también la prevención de las enfermedades en animales mediante medidas de bioseguridad (desinfección, desparasitación, control de animales nuevos, control de vectores, control de vehículos...), vacunación y trazabilidad así como la vigilancia eficaz que permita un diagnóstico precoz de las enfermedades (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, s.f.).

La cuarta línea es la estrategia en investigación, fomentar la participación en grupos de investigación así como dar incentivos para el desarrollo y la investigación de nuevos antibióticos.

La quinta línea se basa en una mayor formación y una formación específica en el tema (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022) movilizándolo a los profesionales de la salud, fomentando la formación, desarrollando programas de formación continuada y desarrollando la autoevaluación de los prescriptores (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015).

Finalmente, la sexta línea se basa en la comunicación a la población mediante campañas, jornadas y demás actividades (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2022). La sensibilización de la población puede dividirse en dos grupos: las campañas que tienen como objetivo a toda la población en general y las campañas enfocadas a un grupo en concreto como pueden ser los ganaderos, los propietarios de mascotas, pacientes... (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015).

2. Alternativas al uso de antimicrobianos

Por todo lo anteriormente expuesto, es necesario llevar a cabo estrategias que permitan combatir estas bacterias resistentes con alternativas no antibióticas.

Existen varias alternativas (Figura 5) entre las cuales se incluye el uso de péptidos antimicrobianos, sistemas CRISPR-Cas, inmunoterapéutica y vacunas, fagoterapia, nanoterapia, trasplante de microbiota fecal o probióticos y prebióticos modificados genéticamente (Kumar et al., 2021).

Los péptidos antimicrobianos son oligopéptidos generados por los seres vivos como un mecanismo de defensa frente a agentes extraños, en el caso concreto de las bacterias, genera lisis bacteriana por alteraciones de la membrana celular. Se trata de una alternativa a tener en cuenta ya que su modo de acción tiene menos probabilidad de generar resistencias en comparación con los que actúan produciendo modificaciones intracelulares (Akram et al.,

2023). En la actualidad, se conoce que células madres mesenquimales humanas pueden actuar como péptidos antimicrobianos de forma que ejercen efecto sobre las bacterias incluyendo a las bacterias resistentes (Kumar et al., 2021). Pese a esto, existen bacterias resistentes debido diferentes motivos como son sus componentes de membrana, en el caso de *Staphylococcus aureus*; alteraciones en la producción de proteínas, como en *Yersinia enterocolitica*; degradación de los péptidos mediante enzimas proteolíticas, como *Pseudomonas aeruginosa*; neutralización de péptidos, como sucede con *Staphylococcus aureus* y transportadores transmembrana que expulsan los péptidos. Cabe destacar también las dudas que ocasionan debido a sus posibles efectos colaterales como es la actividad embriotóxica (Téllez et al., 2010).

Otra alternativa es el sistema CRISPR-Cas. CRISPR son las siglas para “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats”, esto es Repeticiones Palindrómicas Cortas, Agrupadas y Regularmente Interespaciadas; Cas indica “CRISPR associated sequence”, es decir, secuencias asociadas a CRISPR (López-Goñi, 2015) . Se trata de un sistema de defensa inmune adaptado de las bacterias que les confiere protección frente a los bacteriófagos (Kumar et al., 2021). Dentro de este sistema existe un array CRISPR el cual contiene secuencias espaciadoras y secuencias palindrómicas repetidas (López-Goñi, 2015). Estas secuencias espaciadoras son secuencias cortas que provienen de los bacteriófagos y que son empleadas por las proteínas Cas para atacar de forma específica a ácidos nucleicos invasores que portan la misma secuencia. Estos sistemas pueden clasificarse en dos clases, clase I y clase II y estas a su vez se subdividen en varios tipos. El tipo II de la clase clase II es el sistema CRISPR-Cas 9 el cual podría ser empleado frente a las bacterias resistentes permitiendo la eliminación selectiva de genes de resistencia. Pese a esto, su uso está en duda debido a diferentes problemas como la resistencia debido a genes anti-CRISPR o la legislación entre otros (Kumar et al., 2021).

La inmunoterapia se basa en la estimulación del sistema inmune mediante biomoléculas, su uso es frecuente en pacientes sometidos a quimioterapias intentando así mantener el recuento de neutrófilos elevado de forma que el sistema inmune es capaz de luchar contra las infecciones (Kumar et al., 2021). Por otro lado, la vacunación aporta una inmunidad reduciendo el número de casos que necesitan terapia así como la transmisión de las enfermedades. Los agentes infecciosos víricos, los cuales pueden generar inmunosupresión, suelen cursar con enfermedades bacterianas secundarias sobre las cuales es necesario es uso de antibióticos, debido a esto, es importante la vacunación. Se conoce que el uso de vacunas eficaces como en el caso del Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRSV), reduce el uso de antibióticos (Pollock et al., 2020).

En cuanto a los nanoantibióticos, los materiales de nanopartículas pueden administrar sustancias antimicrobianas o pueden contener sustancias antimicrobianas. Las nanopartículas y los antibióticos basados en metal y en óxido metálico, presentan una mayor eficacia junto con una menor toxicidad. Entre los que presentan mecanismos propios, estos pueden actuar inhibiendo biofilms, provocando la lisis de la pared bacteriana, dañando ADN de bacterias resistentes...(Kumar et al., 2021). Un ejemplo son las nanopartículas de plata, las cuales muestran una acción específica contra bacterias patógenas. Estudios in vitro muestran también su efectividad frente a bacterias ESKAPE en sinergia con diferentes antibióticos (Akram et al., 2023). Pese a esto, su farmacocinética y otros factores relacionados con su eficacia y seguridad están aún en estudio (Kumar et al., 2021).

Otra opción es la modulación de la microbiota mediante el trasplante de microbiota fecal o el uso de probióticos (Pollock et al., 2020).

El trasplante de microbiota fecal es una técnica ya empleada en diferentes rumiantes como las vacas. Se basa en el trasplante de una suspensión fecal la cual contiene bacterias comensales de un donante sano. Estudios muestran su eficacia como tratamiento frente a *Clostridium difficile*, diarreas y otras alteraciones gastrointestinales (Kumar et al., 2021).

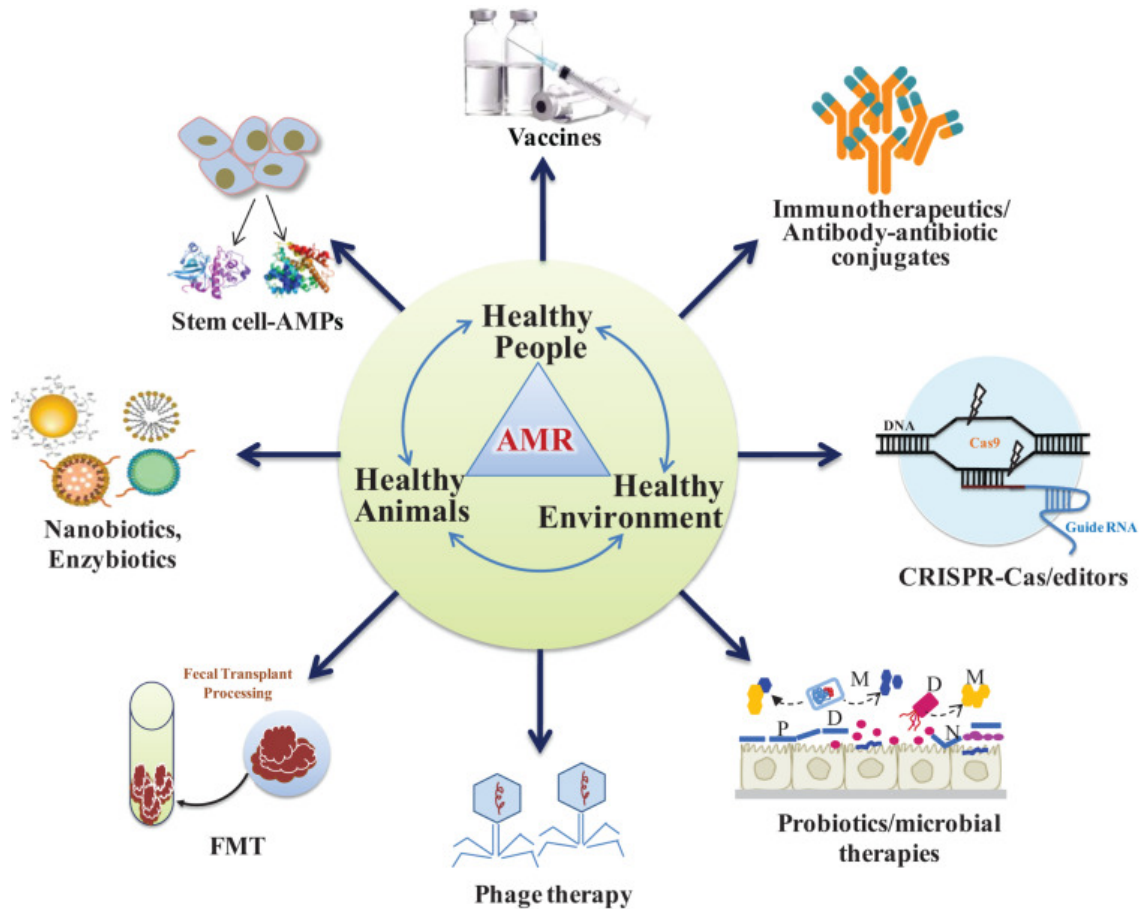
En cuanto a los probióticos cabe destacar dos clases principales: Bifidobacterias y bacterias del ácido láctico, siendo estas últimas abundantes en el tracto gastrointestinal y el tracto genitourinario femenino. Así, una opción de tratamiento serían los probióticos de bioingeniería con propiedades inmunogénicas o el uso de estos probióticos para generar una exclusión competitiva frente a patógenos (Kumar et al., 2021). Estudios muestran reducción de la colonización de determinadas bacterias en el intestino debido a la suplementación con diferentes probióticos, un ejemplo es un estudio llevado a cabo en pollos en el que se muestra una reducción de *Salmonella* en el intestino de los mismos tras la suplementación (Pollock et al., 2020).

La fagoterapia se basa en el uso de bacteriofagos o fagos, estos son virus que infectan y destruyen bacterias (Pollock et al., 2020) de forma específica y sin dañar a las células próximas. Estos fagos pueden actuar sobre diferentes mecanismos de resistencia empleados por las bacterias englobadas bajo el término ESKAPE como es la síntesis de biofilms (Akram et al., 2023).

De entre todas las alternativas mencionadas anteriormente, este TFG se centra en esta última, en la fagoterapia.

Figura 5

Alternativas no antibióticas



Nota. Adaptado de “Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review” (p. 8), por M. Kumar, D.K. Sarma, S. Shubham, M. Kumawat, V. Verma, P.B. Nina, D. JP, S. Kumar, B. Singh, y R.R. Tiwari, 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12.

3. Fagoterapia

3.1 ¿Qué es?

Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias (actividad bactericida), son parásitos obligados que emplean la maquinaria del huésped para replicarse (Prada-Peñaranda et al., 2015). Se trata de las entidades biológicas más abundantes del planeta las cuales establecen relaciones complejas y coevolucionan con las bacterias (Brives et al., 2020), además, presentan una gran importancia en el mantenimiento del equilibrio de los ecosistemas en los cuales residen bacterias debido a su capacidad infecciosa (Jaglan et al., 2022).

La fagoterapia es el uso de bacteriófagos o fagos con el objetivo de tratar infecciones bacterianas. Esta actividad existe desde hace años, se menciona por primera vez en 1915, se aíslan fagos en heces en 1917 (Brives et al., 2020) y se emplea esta terapia contra diferentes bacterias como las enterobacterias del género *Shigella* causantes de disentería bacilar o contra el cólera, causada por *Vibrio cholerae* (Quiñones, 2020). Diversas investigaciones del microbiólogo Felix d'Herelle entre 1919 y 1926 valoran la seguridad y la eficacia de la terapia (Cisek et al., 2017). De esta forma, existe un rápido desarrollo de la fagoterapia a lo largo de esa era preantibiótica ya que, tras la llegada de los antibióticos, estos se posicionan como una mejor opción frente a una misma acción: la destrucción de las bacterias. Así, esto junto con otros problemas existentes, como la controversia en cuanto al modo de acción o problemas de eficacia, genera un descenso en el uso de la fagoterapia. Cabe destacar que el rápido desarrollo de la fagoterapia sucede en Europa y en los Estados Unidos y que, tras los antibióticos y la Segunda Guerra Mundial, su uso se ve reducido, pero tanto en Georgia como en Polonia esto no sucede (Brives et al., 2020). La Unión Soviética mantiene el uso de los fagos para el tratamiento de las heridas y en Georgia se funda el Instituto Estatal de Sueros y Vacunas el cual resulta uno de los principales centros de fagos del momento (Cisek et al., 2017).

3.2 Mecanismo de acción de los fagos

Los fagos presentan dos tipos de ciclos: ciclo lítico y ciclo lisogénico. Un fago virulento, y por consiguiente un fago que se emplea en fagoterapia, debe llevar a cabo un ciclo lítico.

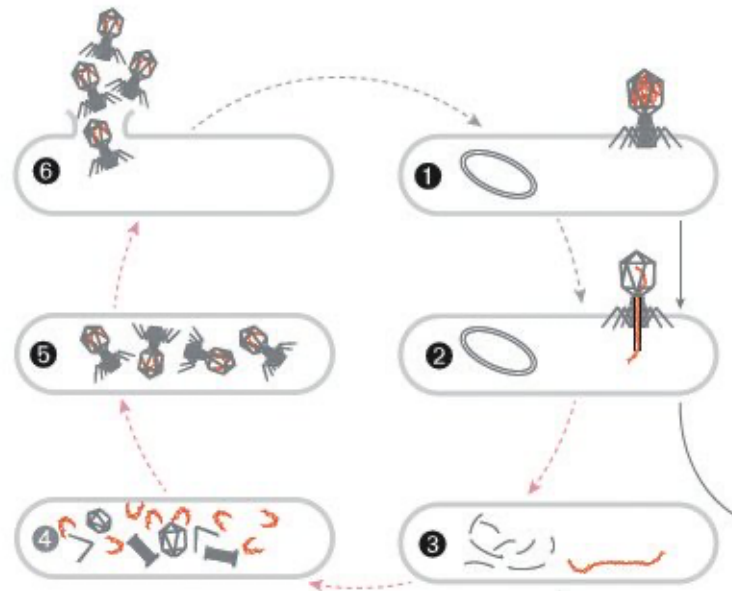
El ciclo lítico (Figura 6) es aquel que ocasiona la destrucción de la bacteria mediante la afectación de la membrana celular. Lo primero que sucede es la adsorción, la adhesión del virus a la bacteria (Brives et al., 2020). Esta fase se lleva a cabo en dos etapas (una reversible y otra irreversible) y es muy específica debido a que se reconocen receptores específicos (Prada-Peñaranda et al., 2015) de forma que cada fago sólo puede adherirse a una especie bacteriana concreta o incluso a determinadas cepas de una especie. Tras la adhesión, se inyecta el material genético en el interior de la bacteria de forma que se lleva a cabo la replicación empleando enzimas bacterianas. Finalmente, se produce la lisis bacteriana (Brives et al., 2020) debido a la actuación de las lisinas (enzimas específicas del fago) sobre la pared celular (Prada-Peñaranda et al., 2015) liberando así múltiples fagos los cuales pueden reiniciar el ciclo (Brives et al., 2020).

Así, cuando el fago entra en contacto con la bacteria correspondiente se inicia el ciclo lítico y se multiplican hasta que no quedan bacterias a las que infectar, cuando esto sucede los fagos son degradados ya que no pueden sobrevivir sin un huésped (Brives et al., 2020).

Por otro lado, en el ciclo lisogénico no se produce la lisis bacteriana. El objetivo de este ciclo es la integración de su genoma en el bacteriano de forma que ambos se replican de forma conjunta durante varias generaciones (Prada-Peñaranda et al., 2015).

Figura 6

Ciclo lítico de los bacteriófagos



Nota. 1:Adhesión del virus a la bacteria, 2: Inyección del material genético en la bacteria, 3: Síntesis de proteínas del fago, 4: Síntesis de proteínas estructurales del virus, 5: Unión de estructuras, 6: Lisis bacteriana y liberación de fagos. Adaptado de “Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia” (p.48), por C. Prada-Peñaranda, A. V. Holguín-Moreno, A. F. González-Barrios y M. J. Vives-Flórez, 2015, *Universitas Scientiarum*, 20(1).

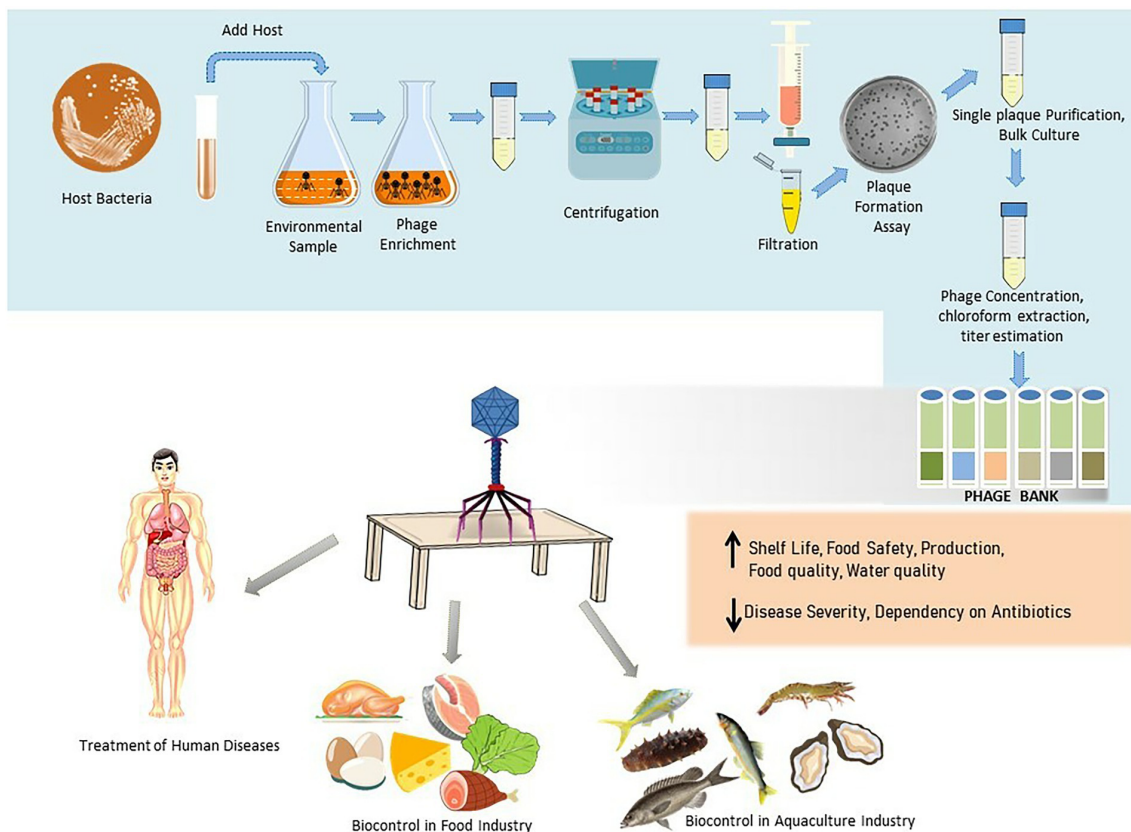
3.3 Pasos de la fagoterapia

Para llevar a cabo una terapia con fagos lo primero que debe realizarse es la identificación de la bacteria que se quiere destruir ya que debe escogerse el fago adecuado teniendo en cuenta esa elevada especificidad. Para encontrar el fago específico debe emplearse una muestra específica, por ejemplo, para encontrar un fago que destruya bacterias intestinales debe aislarse de una muestra fecal. Una vez tomada la muestra, debe realizarse un enriquecimiento, a continuación, se deposita en una placa y se purifica lo que elimina endotoxinas bacterianas y otras posibles impurezas (Figura 7). Esta purificación puede llevarse a cabo mediante diferentes tipos de filtración, mediante extracción con 1-octanol o intercambio iónico entre otros métodos. Es

importante también conocer el tipo de infección, la gravedad de la misma y la vía de administración a emplear ya que esto afecta al tipo de formulación que debe aplicarse a los fagos para su uso, por ejemplo una preparación por nebulización cuando la vía es intranasal. Cabe destacar también que los fagos deben ser sometidos a un control de calidad en el cual se valora el tipo de fago, la pureza, la seguridad (ausencia de impurezas) y la viabilidad (Jaglan et al., 2022).

Figura 7

Pasos de la fagoterapia



Nota. Adaptado de “Tracking the phage trends: A comprehensive review of applications in therapy and food production.” (p. 3), por A. B Jaglan, T. Anand, R. Verma, M. Vashisth, N. Virmani, B. C. Bera, R. K. Vaid y B. N. Tripathi, 2022, *Frontiers in Microbiology*, 13.

3.4 Ensayos clínicos

Es importante llevar a cabo ensayos clínicos que permitan establecer la eficacia y la seguridad de la fagoterapia (Jaglan et al., 2022). Estos ensayos se dividen en tres fases: I, II y III. En la fase I se establece la seguridad, en la fase II la eficacia y en la fase III se confirma esa eficacia (Cooper et al., 2016). En la actualidad existen 81 estudios de fagoterapia de los cuales 18 se

llevan a cabo en Europa, once de los cuales corresponden a Francia (National Library of Medicine, s.f.).

En el estudio llevado a cabo por Grubb et al. se emplean bacteriofagos junto con probióticos para valorar los beneficios en la salud gastrointestinal y en la microbiota. Para ello se seleccionan 153 participantes los cuales se dividen en tres tratamientos: placebo, *Bifidobacterium lactis* y *Bifidobacterium lactis* junto con fagos. Así, en los pacientes que toman este último tratamiento se observa una mejora de la sintomatología intestinal.

Otros estudios como el llevado a cabo por Gindin et al. muestran también ese efecto positivo de los fagos a nivel gastrointestinal. Se estudia asimismo su efecto sobre las infecciones del tracto urinario, otitis crónicas... (Jaglan et al., 2022).

4. Aplicación

Debido a las diversas características de los fagos, es posible su uso en diversos campos desde el tratamiento de infecciones bacterianas (Jaglan et al., 2022), su uso como método diagnóstico (Pardo-Freire et al., 2023) hasta su uso en seguridad alimentaria entre otros (Jaglan et al., 2022).

4.1 Antiinflamatorio

Junto con la actividad antibacteriana que se busca con esta terapia, existe una actividad antiinflamatoria importante que puede producirse por diferentes mecanismos como es mediante la inducción de la producción de interleucina-10, una citoquina con un importante poder antiinflamatorio. También puede producirse al actuar sobre la unión de los lipopolisacáridos bacterianos como sucede al reducir la expresión de TLR4, un tipo de receptor que identifica el lipopolisacárido bacteriano e induce la secreción de citoquinas proinflamatorias (Górski et al., 2017).

4.2 Seguridad alimentaria

Diferentes bacterias como *Escherichia coli*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella enterica*, *Shigella spp* y otras, son responsables de gran parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Para luchar frente a esto, se han empleado antibióticos, productos químicos y tratamientos térmicos como la pasteurización, pero todo esto presenta sus inconvenientes como pueden ser los problemas de toxicidad o la alteración del valor nutricional al ser sometidos a elevadas temperaturas. Debido a esto, se plantea el empleo de fagos como una alternativa económica y segura para la eliminación de las bacterias (Jaglan et al., 2022).

El uso de fagos se contempla también como una alternativa viable en el caso de la acuicultura, permitiendo así la eliminación de bacterias patógenas que producen toxinas. En este contexto

cabe tener en cuenta que los parámetros del agua como son la temperatura, la salinidad... deben estar regulados ya que influyen en la eficacia de la terapia. Un ejemplo es el del fago que infecta a *Yersinia enterocolitica* el cual no es efectivo a altas temperaturas debido a la inactividad de un receptor (Jaglan et al., 2022).

Un patógeno muy importante a mencionar en relación a la seguridad alimentaria es *Escherichia coli* productora de la toxina Shiga (STEC). Las infecciones con STEC causan una sintomatología que va desde diarrea hasta una colitis hemorrágica y un síndrome urémico hemolítico, siendo la comida tanto de origen animal como vegetal la principal fuente de contagio. Este cuadro clínico está causado por, fundamentalmente, 7 serotipos diferentes de STEC siendo *E. coli* O15:H7 el principal. Existen diversos procedimientos que buscan y consiguen eliminar este patógeno de los productos alimentarios como es la pasteurización o la desinfección química, pero estos procedimientos no son específicos por lo que, junto con la eliminación del patógeno, se elimina también la microbiota beneficiosa de los alimentos y pueden afectar a las propiedades organolépticas. Debido a esto, se plantea el uso de fagos que permitan atacar al patógeno sin producir estas alteraciones (Vikram et al., 2020).

En un estudio llevado a cabo en 2020 se emplea un cocktail de fagos específico frente a este patógeno. El preparado de fagos denominado EcoShield PX es Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, la FDA. En este estudio se emplea el cocktail en ocho productos alimentarios (los cuales suelen estar asociados a este tipo de contaminación como la carne o el pescado) los cuales han sido previamente infectados con el patógeno. Tras esto, se observa una reducción significativa de los niveles de *E. coli* O15:H7 en todos los alimentos infectados lo que sugiere la eficacia del proceso (Vikram et al., 2020).

4.3 Recuperación COVID-19

Se sugiere que existe una disbiosis intestinal asociada a la infección con el virus COVID-19 la cual se mantiene tras la resolución de la infección, esto junto con el uso de otros fármacos durante la infección favorece esa alteración de la microbiota. En este contexto, los fagos pueden resultar una opción interesante para el restablecimiento de la microbiota.

En 2022 se lleva a cabo un estudio en el cual se emplea un cocktail de fagos administrado dos veces al día vía oral durante 14 días a varios pacientes en recuperación tras sufrir una infección con COVID-19 y recibir tratamiento con varios antibióticos. Los fagos empleados para el cocktail (un total de 43 fagos) se aíslan de las aguas residuales. La solución oral consiste en una solución fisiológica con fagos efectivos frente a bacterias como *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* o *Proteus vulgaris* entre otras (Zurabov et al., 2022).

Previo al inicio del tratamiento y al finalizar el mismo se mide la saturación, frecuencia respiratoria y cardíaca y se recoge una muestra de sangre y una muestra de heces (en un recipiente estéril) de cada paciente. Así, tras el tratamiento se observa un aumento de la saturación, una normalización de la frecuencia respiratoria y un descenso de la frecuencia cardíaca. En cuanto a la microbiota, en un inicio, en todos los pacientes, se observa un crecimiento bacteriano excesivo, un aumento de la concentración (1,5 2 veces más) de microorganismos proinflamatorios y un descenso en los niveles de *Bacteroides thetaiotomicron* y *Akkermansia muciniphila* siendo todo esto signos de disbiosis. Se observa también *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium nucleatum* y *Parvimonas micra*, una elevación del ratio *Bacteroides fragilis group*/*Faecalibacterium prausnitzii* (lo que indica desequilibrio anaeróbico) y una patología autoinmune. Tras la terapia se observa una disminución de las bacterias en general y de los microorganismos proinflamatorios, es decir, existe una disminución significativa de la inflamación.

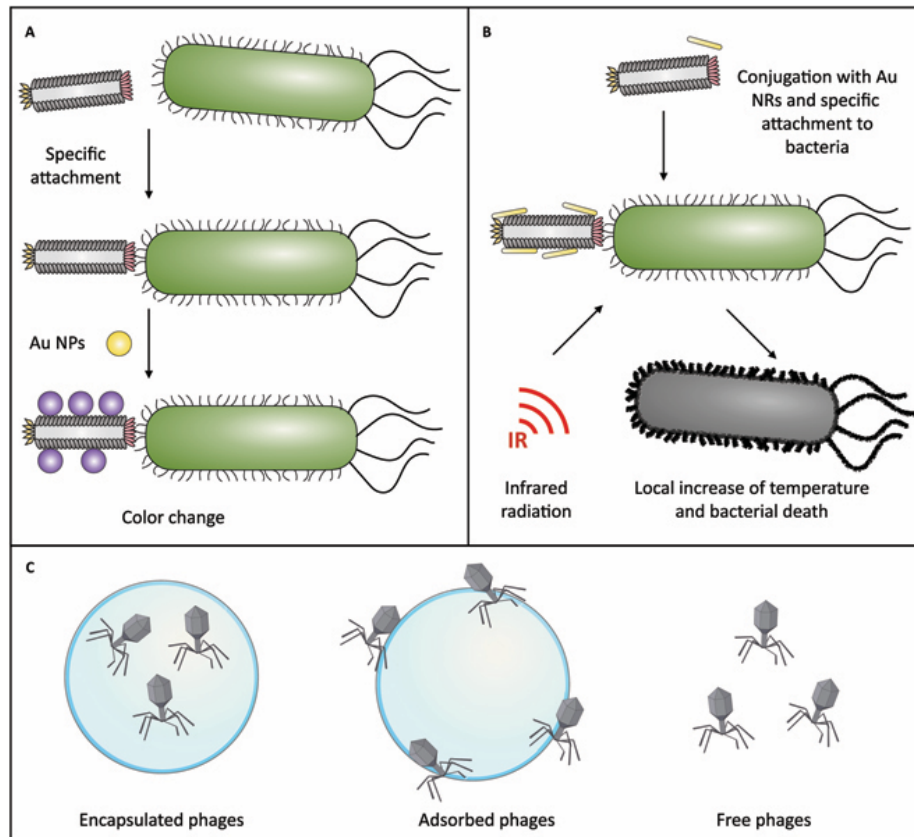
Con todo esto se demuestra el efecto beneficioso de los bacteriófagos en la microbiota intestinal reduciendo el número de microorganismos perjudiciales sin alterar la microbiota. Asimismo, se muestra la eficacia y la seguridad de la terapia debido a la ausencia de efectos secundarios (Zurabov et al., 2022).

4.4 Combinación con nanotecnología

Un uso de la fagoterapia es la posibilidad de su combinación con otra de las alternativas no antibióticas, la nanotecnología. Esta alianza combina la especificidad de los fagos con la eficacia de la terapia dirigida con nanopartículas pudiendo emplearse como método de diagnóstico rápido (Figura 8), para evitar la inactivación de los fagos, como protección de los fagos frente a los anticuerpos, para aportar una mayor estabilidad durante el almacenamiento o como terapia dirigida con una liberación controlada de los fagos (Pardo-Freire et al., 2023).

Figura 8

Empleo de los fagos en combinación con nanotecnología



Nota. A: Identificación bacteriana basada en cambio de coloración, B: Terapia fototermal focalizada, C: Encapsulación y adsorción de fagos. Adaptado de “Phages and Nanotechnology: New Insights against Multidrug-Resistant Bacteria” (p. 2), por M. Pardo-Freire y P. Domingo-Calap, 2023, *BioDesign Research*, 5 (4).

En cuanto su uso conjunto como método diagnóstico, esto permite la combinación de nanopartículas con los fagos generando un complejo nanopartícula-fago. Las nanopartículas presentan elementos de reconocimiento los cuales se unen de forma específica a las bacterias formando así un complejo que puede ser reconocido por producir cambios de color, por agregación... Por otro lado, los fagos presentan una proteína la cual se une de forma selectiva a la bacteria y además permiten conocer si la bacteria está viva o no mediante la monitorización de la replicación de los fagos. Así la combinación de estos fagos los cuales presentan una producción económica junto con las nanopartículas funcionan uniendo estas características, por ejemplo el fago se une a la bacteria y las nanopartículas, al interactuar, producen un cambio en la coloración. Esto permite la identificación de diversas bacterias importantes como son *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* o *Staphylococcus aureus* (Pardo-Freire et al., 2023).

Otro uso importante es la encapsulación de los fagos. La terapia con fagos presenta ciertas limitaciones durante su uso entre las cuales se encuentran la baja biodisponibilidad, una pérdida de la actividad (debido a la temperatura, al pH...) o la eliminación de estos por el sistema inmune. Como protección frente a esto y para optimizar esta terapia, la encapsulación con polímeros naturales, sintéticos o con liposomas son una posibilidad (Pardo-Freire et al., 2023).

Los polímeros naturales son macromoléculas de polisacáridos, aminoácidos, péptidos, proteínas y lípidos. Estos presentan una buena biocompatibilidad, biodegradabilidad, se metabolizan sin la producción de metabolitos tóxicos y presentan una elevada resistencia a la degradación enzimática y a los cambios del pH. Esta última característica es interesante sobre todo para la administración de fagos que pasen por el tracto gastrointestinal. Pese a estas ventajas es importante valorar las interacciones entre el fago y el polímero de forma previa ya que pueden existir interacciones que interfieren con la adsorción de los fagos y con su capacidad infecciosa.

Los polímeros sintéticos destacan por su eficacia de carga y su cinética de liberación. Estos polímeros requieren, en ciertos puntos de su síntesis, la intervención de unos disolventes orgánicos los cuales deben seleccionarse con cautela ya que pueden producir una inactivación y una disminución en la concentración de los fagos. La encapsulación con estos polímeros tanto naturales como sintéticos se ha empleado para el tratamiento de *Salmonella* spp. en pollos, mostrando una mayor supervivencia de los fagos.

Los liposomas son nanopartículas esféricas formadas por una bicapa lipídica de fosfolípidos rodeada por una cavidad acuosa lo que permite la encapsulación tanto de moléculas hidrofílicas como hidrofóbicas. Otras características son la biocompatibilidad y su fácil producción, además, favorece la difusión de los fagos, su estabilidad en pH ácidos como el del estómago y favorece la mucoadhesión. Cuando la administración es por vía oral y ante la presencia de determinadas patologías como las diarreas, la mucoadhesión es una característica interesante ya que en estos casos la presencia de los fagos se acorta. Pese a todo esto, cabe destacar que los liposomas presentan un tamaño reducido lo que impide la encapsulación de fagos de mayor tamaño. Esta encapsulación con liposomas también ha sido empleada en el tratamiento de *Salmonella* spp. y es interesante para otras infecciones causadas por patógenos intracelulares como *Mycobacterium tuberculosis*.

Por último se debe tener en cuenta que la selección del sistema de encapsulación y del tipo depende de diversos factores por lo que no es posible emplear una misma técnica frente a todo (Pardo-Freire et al., 2023).

4.5 Tratamiento de infecciones

Entre todas estas posibles aplicaciones, una aplicación fundamental es su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas.

Este tratamiento puede llevarse a cabo de dos formas: mediante el uso de fagos individuales o mediante el uso de cocktails de fagos. Estos cocktails permiten aumentar el número de cepas afectadas, pueden emplearse fagos que ataquen a bacterias frecuentes o comunes de determinadas infecciones permitiendo así su uso en diferentes pacientes. De esta forma, los cocktails pueden ser prefabricados o pueden hacerse a medida frente a una emergencia o frente a un paciente en concreto. Estos prefabricados son susceptibles al desarrollo de resistencias bacterianas. Por contra, los cocktails hechos a medida son una medida para la lucha contra las resistencias, un ejemplo son los fagos que tienen mecanismos antidefensa específicos (como los anti-CRISPR) así como el uso de fagos que actúen de forma sinérgica lo que permite también la reducción del número de los mismos (Cooper et al., 2016).

Se han probado, en ensayos clínicos y/o casos clínicos, tres vías de administración diferentes: tópica, intravenosa y oral. La vía tópica se ha probado en ratones con úlceras, quemaduras y otras infecciones tópicas sin observarse efectos secundarios. En cuanto a la vía intravenosa, cabe destacar la posibilidad de que se desencadene una respuesta inmune muy fuerte y una anafilaxia debido a la liberación de endotoxinas, en 2008 se reporta un caso de anafilaxia tras la administración intravenosa de fagos. En los estudios relativos a la tercera vía, la vía oral, cabe destacar que la microbiota intestinal no se ve alterada. Se debe tener en cuenta la posibilidad de que los fagos no sobrevivan a las condiciones ácidas por lo que existen estudios que emplean tratamiento previos antiácidos o microencapsulaciones que favorecen la supervivencia y la eficacia de los fagos (Brix et al., 2020).

Se han dado múltiples casos a lo largo de estos años en los cuales se ha recurrido al uso de los fagos como tratamiento para diferentes infecciones siendo, en medicina humana, las infecciones urinarias y las infecciones de prótesis articular las más repetidas (Jaglan et al., 2022). En veterinaria, el uso de la fagoterapia también está presente para el tratamiento de infecciones en diversas especies animales como las mastitis en vacas, infecciones urinarias en perros (Ferriol-González et al., 2021) o la colibacilosis en porcino (Ferreira et al., 2023).

A continuación se citan algunos ejemplos relevantes en relación al uso clínico de la fagoterapia.

Caso clínico 1

En 2020 en Polonia se lleva a cabo el caso de un paciente de 60 años que presenta una infección crónica del tracto urinario con una bacteria multirresistente productora de betalactamasas de espectro extendido incluida en el término ESKAPE, *Klebsiella pneumoniae*. Este paciente fue sometido a un trasplante de riñón hace seis meses, desde entonces fue ingresado tres veces debido a infecciones del tracto urinario causadas por esta bacteria. Esta última vez fue ingresado con fiebre, fatiga y sintomatología de disuria. Se llevan a cabo diferentes pruebas diagnósticas, entre ellas un cultivo y un antibiograma y se trata con un antibiótico carbapenemes, un beta-lactámico frente al cual presenta una sensibilidad intermedia. Tras este episodio, el paciente presenta otros cuatro causados por la misma bacteria presentando diferentes sensibilidades frente a los carbapenemes. Finalmente, el paciente da su consentimiento informado para el uso de fagos (Rostkowska et al., 2021).

Se lleva a cabo una administración vía intrarrectal de un preparado específico de fagos. Más adelante, se inicia una terapia combinada de este preparado de fagos y el antibiótico carbapenem tras la visualización de quistes renales y un cultivo en el que se muestra sensibilidad por parte de la bacteria al fármaco. Este paciente fue sometido a una nefrectomía y estuvo un total de 29 días bajo el tratamiento con fagos. El origen de todas estas infecciones recae en ese riñón quístico, tras la nefrectomía el paciente no ha vuelto a sufrir infecciones del tracto urinario.

En este caso no es muy claro el papel que ha jugado la fagoterapia pero lo que permite valorar es la seguridad del tratamiento ya que se pidió al paciente que registrase su temperatura y toda la información relacionada con el tratamiento (síntomas, intensidad, efectos secundarios...) tras la administración de cada dosis (2 veces al día). Así pudo observarse que no se mostró ningún efecto secundario durante todo el tratamiento ni afectó de manera negativa al trasplante de riñón (Rostkowska et al., 2021).

Caso clínico 2

Un caso ocurrido en 2019 es el de un paciente de 62 años que presenta múltiples episodios de infección de prótesis articular, de rodilla. Este paciente presenta diversas infecciones a lo largo de varios años causadas por varios patógenos. En un inicio sufre una infección con *Staphylococcus epidermidis*, tras esta sufre otra debida a *Streptococcus pyogenes*, otra debida a *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* junto con *Staphylococcus devriesei/haemolyticus* todas tratadas de forma correspondiente como se indica en la Figura 9. Más adelante sufre una infección causada por *Klebsiella pneumoniae* sensible a carbapenemes por lo que se realiza un tratamiento durante 8 semanas. Al finalizarlo, se pasa a una tetraciclina con la intención de mantenerla para aportar una cobertura frente a las tres bacterias que fueron cultivadas recientemente. Pero a las cuatro semanas de iniciar este tratamiento se instaura una

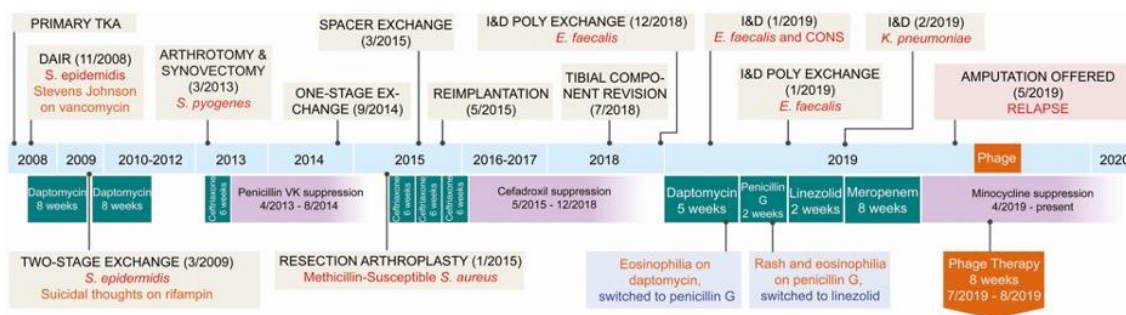
sintomatología que lleva a que se recomiende la amputación. Es en este punto cuando se plantea llevar a cabo la fagoterapia con el objetivo de salvar la pierna atacando a *Klebsiella pneumoniae* (Cano et al., 2021).

Así se lleva a cabo la terapia, esta se suministra todos los días vía intravenosa hasta llegar a cuarenta dosis. Junto con esto, se mantuvo la dosis prescrita de tetraciclina por vía oral. Al finalizar la terapia se observa una remisión de la sintomatología tanto local como sistémica, reducción del dolor y de la inflamación, el paciente indica un mejor rango de movimiento. Además, se realiza el seguimiento durante 34 semanas sin la presencia de efectos adversos.

Con todo esto, de este caso puede sacarse la posible eficacia y seguridad de la fagoterapia que resulta una alternativa beneficiosa y viable (Cano et al., 2021).

Figura 9

Línea temporal de las infecciones y tratamientos del paciente



Nota. Adaptado de “Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity.” (p. 145), por E. J. Cano, K. M. Caflish, P. L. Bollyky, J. D. Van Belleghem, R. Patel, J. Fackler, M. J. Brownstein, B. Horne, B. Biswas, M. Henry, F. Malagon, D. G. Lewallen y G. A. Suh, 2021, *Clinical Infectious Diseases*, 73 (1).

Estudio clínico

En 2023 se realiza un estudio en el cual se valora el uso de los fagos para el tratamiento de la colibacilosis entérica porcina. Esta enfermedad, frecuente en las granjas de porcino, está causada por una *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y supone, en la actualidad, un gran reto debido a las restricciones antibióticas a las que se enfrenta la industria porcina. En este estudio, se valora la eficacia de un fago encapsulado (obtenido de un laboratorio) frente células intestinales porcinas cultivadas infectadas con ETEC O9:H9. Así, se demuestra que los fagos presentan una actividad bactericida frente a estas bacterias, produciendo así la reducción de la concentración de las mismas. Por otro lado, con este estudio se valora también la efectividad de

la protección que aporta la encapsulación de los fagos, la cual es importante en los casos de administración oral, debido a la sensibilidad de los fagos al pH del estómago. Para esto, se introducen los fagos con y sin cápsula en fluidos gastrointestinales artificiales y se documenta su viabilidad tras esta inmersión. De esta forma, se puede observar que la viabilidad de los fagos encapsulados es muy superior a la de los fagos sin cápsula (Ferreira et al., 2023).

Con todo esto, el estudio sugiere el éxito de esta terapia para el tratamiento de esta enfermedad porcina, posicionándola como una alternativa de tratamiento en sustitución a los antibióticos debido a la problemática con su uso. Y muestra, además, las ventajas de la encapsulación cuando se lleva a cabo una administración por vía oral (Ferreira et al., 2023).

4.6 Problemática en su uso

La fagoterapia se posiciona como una terapia viable debido a diversos motivos como es la elevada especificidad, la autorreplicación en presencia del huésped, su origen natural, el fácil aislamiento, su potencial para degradar biofilms (Jaglan et al., 2022), su actuación sin alteración de la microbiota, su capacidad de respuesta ante ciertos mecanismos de resistencia (Cooper et al., 2016) así como una obtención económica y rápida (García et al., 2021). Pero cabe destacar diversos inconvenientes importantes a tener en cuenta como es la propia especificidad ya que esto implica la necesidad de conocer la etiología de la infección, la liberación de endotoxinas tras la lisis bacteriana (aunque esto también sucede con algunos antibióticos), la posibilidad de que se generen resistencias así como que los fagos pueden ser reconocidos por el sistema inmune, lo que podría generar su eliminación (Reina et al., 2018).

Asimismo, cabe destacar que no existe una regulación específica para su uso. En la Unión Europea, los fagos se clasifican como productos medicinales, esta clasificación implica que se trata de medicamentos fabricados mediante un proceso industrial. Así, los fagos deben ser producidos mediante unas buenas prácticas que garanticen su calidad, deben demostrar su eficacia y seguridad y deben adquirir una autorización de comercialización. En la actualidad no existe ninguna autorización de comercialización para los fagos (Brives et al., 2020) por lo que su uso queda restringido a situaciones en las cuales ningún tratamiento haya resultado eficaz y el paciente (o representante legal) dé su consentimiento informado para el uso de una intervención no probada siguiendo lo establecido en el Artículo 37 de la Declaración de Helsinki (Asociación Médica Mundial, 2023).

Por todo esto, esta terapia puede emplearse y es empleada como último recurso ante infecciones resistentes a los antibióticos. Su éxito radica en el tipo de infección, el tipo de fago, la dosis y la vía de administración (Jaglan et al., 2022).

5. Conclusiones

En estos momentos, la fagoterapia se posiciona como una de las principales alternativas no antibióticas para llevar a cabo la lucha contra las bacterias resistentes. Esta terapia está mostrando su seguridad y su eficacia en su uso tanto en ensayos clínicos como en los casos excepcionales, abriendo así una ventana de esperanza frente a las resistencias antimicrobianas permitiendo afrontarlas desde una perspectiva “One Health”. Pese a esto existen diversas limitaciones que impiden su aplicación en la actualidad, estas limitaciones incluyen la necesidad de fomentar la investigación, valorar el uso de fagos encapsulados, en cocktails o en combinación con antibióticos, estudiar nuevas estrategias, hasta la comunicación a la población la cual puede presentar cierto rechazo ante esta nueva terapia así como la necesidad de homogeneizar y establecer una regulación específica en torno a su uso. Así, la resolución de los inconvenientes mediante la concienciación en torno a su uso y aplicación, la investigación y la regulación permitiría la aplicación de esta terapia, tanto como alternativa no antibiótica como en combinación con antibióticos, en un futuro cercano.

Bibliografía

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2015). *Plan Nacional Resistencia Antibióticos: Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de la resistencia a los antibióticos.*

<https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/plan-estrategico-antibioticos/v2/docs/plan-estrategico-antimicrobianos-AEMPS.pdf>

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2017a). *Plan Nacional Resistencia Antibióticos: Indicadores de uso de antibióticos en Atención Primaria.*

https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/documentos/indicadores_uso_antibioticos_ap.pdf

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2017b). *Plan Nacional Resistencia Antibióticos: Programas de optimización de uso de los antibióticos.*

https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/documentos/programas_de_optimizacion_de_uso_de_antibioticos_proa.pdf

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2019). *Plan nacional frente a la resistencia a los antibióticos 2019-2021.*

<https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/documentos/pran2019-2021b-web.pdf>

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2022). *Plan nacional frente a la resistencia a los antibióticos 2022-2024.*

<https://resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/2022-09/Plan%20Nacional%20Resistencia%20Antibióticos%20%28PRAN%29%202022-2024.pdf>

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (s.f.). *Plan Nacional Resistencia Antibióticos: Recomendaciones para la prevención y el control de las enfermedades en animales.*

https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/documentos/recomendaciones_para_preencion_y_control_enfermedades_en_animales.pdf

Akram, F., Imtiaz, M., y Haq, I. u. (2023). Emergent crisis of antibiotic resistance: A silent pandemic threat to 21st century. *Microbial Pathogenesis*, 174: 105923. 10.1016/j.micpath.2022.105923

Asociación Médica Mundial (2023). *Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones en seres humanos*. <https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

Brives, C. y Pourraz, J. (2020). Phage therapy as a potential solution in the fight against AMR: obstacles and possible futures. *Palgrave Communications*, 6 (100). <https://doi.org/10.1057/s41599-020-0478-4>

Brix, A., Cafora, M., Aureli, M. y Pistocchi, A. (2020). Animal Models to Translate Phage Therapy to Human Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10). 10.3390/ijms21103715

Cano, E. J., Caflish, K. M., Bollyky, P. L., Van Belleghem, J. D., Patel, R., Fackler, J., Brownstein, M. J., Horne, B., Biswas, B., Henry, M., Malagon, F., Lewallen, D. G. y Suh, G. A. (2021). Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity. *Clinical Infectious Diseases*, 73 (1), 144-151. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa705>

Centers for Disease Control and Prevention (2021). *Understanding Antibiotic Resistance in Water: A One Health Approach*. <https://www.cdc.gov/onehealth/in-action/understanding-antibiotic-resistance-in-water.html#print>

Centers for Disease Control and Prevention (2022). *Drug-Resistant TB*. <https://www.cdc.gov/tb/topic/drtb/default.htm>

Chávez-Jacobo, V. M. (2020). La batalla contra las superbacterias: No más antimicrobianos, no hay ESKAPE. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1-11. 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.202

Cisek, A. A., Dąbrowska, I., Gregorczyk, L. P. y Wyżewski, Z. (2017). Phage Therapy in Bacterial Infections Treatment: One Hundred Years After the Discovery of Bacteriophages. *Current Microbiology*, 74, 277-283. 10.1007/s00284-016-1166-x

Cooper, C. J., Khan Mirzaei, M. y Nilsson, A. S. (2016). Adapting Drug Approval Pathways for Bacteriophage-Based Therapeutics. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1209. 10.3389/fmicb.2016.01209

EMA (2020). *Categorisation of antibiotics used in animals promotes responsible use to protect public and animal health*. <https://www.ema.europa.eu/en/news/categorisation-antibiotics-used-animals-promotes-responsible-use-protect-public-animal-health>

Ferreira, A., Silva, D., Almeida, C., Rodrigues, M. E., Silva, S., Castro, J., Mil-Homens, D., García-Meniño, I., Mora, A., Henriques, M. y Oliveira, A. (2023). Effect of phage vB_EcoM_FJ1 on the reduction of ETEC O9:H9 infection in a neonatal pig cell line. *Veterinary Research*, 54 (26). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050559>

Ferriol-González, C. y Domingo-Calap, P. (2021). Phage Therapy in Livestock and Companion Animals. *Antibiotics*, 10 (5), 559. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050559>

García, P., Vázquez, R. y García, P. (2021). *Los virus, una alternativa a los antibióticos frente a las superbacterias*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/los-virus-una-alternativa-los-antibioticos-frente-las-superbacterias>

Gindin, M., Febvre, H. P., Rao, S., Wallace, T. C. y Weir, T. L. (2018). Bacteriophage for Gastrointestinal Health (PHAGE) Study: Evaluating the Safety and Tolerability of Supplemental Bacteriophage Consumption. *Journal of the American College of Nutrition*, 38 (1), 68-75. 10.1080/07315724.2018.1483783

Grubb, D. S., Wrigley S. D., Freedman. K. E., Wei, Y., Vazquez, A. R., Trotter, R. E., Wallace, T. C., John, S. A. y Weir, T. L. (2020). PHAGE-2 Study: Supplemental Bacteriophages Extend *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL04 Benefits on Gut Health and Microbiota in Healthy Adults. *Nutrients*, 12 (8): 2474. 10.3390/nu12082474

Górski, A., Jończyk-Matysiak, E., Łusiak-Szelachowska, M., Międzybrodzki, R., Weber-Dąbrowska, B. y Borysowski, J. (2017). The Potential of Phage Therapy in Sepsis. *Frontiers in Immunology*, 8:1783. 10.3389/fimmu.2017.01783

Hutchings, M. I., Truman, A. W. y Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72-80. 10.1016/j.mib.2019.10.008

Jaglan, A. B., Anand, T., Verma, R., Vashisth, M., Virmani, N., Bera, B. C., Vaid, R. K. y Tripathi B. N. (2022). Tracking the phage trends: A comprehensive review of applications in therapy and food production. *Frontiers in Microbiology*, 13: 993990. 10.3389/fmicb.2022.993990

Kumar, M., Sarma, D.K., Shubham, S., Kumawat, M., Verma, V., Nina, P.B., JP, D., Kumar, S., Singh, B., y Tiwari, R.R. (2021). Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 12: 609459. 10.3389/fmicb.2021.609459

Li, T., Wang, Z., Guo, J., de la Fuente-Nunez, C., Wang, J., Han, B., Tao, H., Liu, J. y Wang, X. (2022). Bacterial resistance to antibacterial agents: Mechanisms, control strategies, and implications for global health. *Science of The Total Environment*, 860: 160461. 10.1016/j.scitotenv.2022.160461

López-Goñi, I. (2015). Las bacterias también se “vacunan”: el sistema CRISPR/Cas. *Blog microBIO*. <https://microbioblog.es/las-bacterias-tambien-se-vacunan-el>

Moreno M, C., González E, R. y Beltrán, C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 69(2), 185-192. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162009000200014>

National Library of Medicine (s.f). <https://clinicaltrials.gov/ct2/results/map/click?map.x=594&map.y=220&term=phage&mapw=1199>

Reina, J. y Reina, N. (2018). Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioterapia?. *Revista Española de Quimioterapia*, 31(2), 101-104. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6159377/>

Rodicio, M. R. (2021). Resistencia bacteriana a los antibióticos: ¿Pueden dejar de curar?. *Revista de la Academia Asturiana de Ciencia e Ingeniería*, 1, 21-42. <http://aaci.es/wp-content/uploads/2022/03/rAACI-vol.-1-2021-1.pdf>

Rostkowska, O., Międzybrodzki, R., Miszevska-Szyszkowska, D., Górski, A. y Durlík, M. (2021). Treatment of recurrent urinary tract infections in a 60-year-old kidney transplant recipient. The usage of phage therapy. *Transplant Infectious Disease*, 23 (1). <https://doi.org/10.1111/tid.13391>

Obando, P., Suárez-Arrabal, M. C. y Esparza, M. J. (2020). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos.* guíaABE. <https://www.guia-abe.es/generalidades-descripcion-general-de-los-principales-grupos-de-farmacos-antimicrobianos-antibioticos->

O' Neill, J. (2014). *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations.* https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf

Organización Mundial de la Salud (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos.* Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255204>

Organización Mundial de la Salud (2017). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.* <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Organización Mundial de la Salud (2020a). *Resistencia a los antimicrobianos.* <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Mundial de la Salud (2020b). *WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment.* Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240007048>

Organización Mundial de Sanidad Animal (s.f.). *Una sola salud.* <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud/>

Pardo-Freire, M. y Domingo-Calap, P. (2023). Phages and Nanotechnology: New Insights against Multidrug-Resistant Bacteria. *BioDesign Research*, 5 (4). [10.34133/bdr.0004](https://doi.org/10.34133/bdr.0004)

Prada-Peñaranda, C., Holguín-Moreno, A. V., González-Barrios, A. F. y Vives-Flórez, M. J. (2015). Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia. *Universitas Scientiarum*, 20 (1), 43-59. [10.11144/Javeriana.SC20-1.faci](https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC20-1.faci)

Pollock, J., Low, A. S., McHugh, R. E., Muwonge, A., Stevens, M. P., Corbishley, A. y Gally, D. L. (2020). Alternatives to antibiotics in a One Health context and the role genomics can play

in reducing antimicrobial use. *Clinical Microbiology and Infection*, 26 (12), 1617-1621.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.02.028>

Quiñones, E. E. (2020). *Fagoterapia*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
<https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Fagoterapia/186>

Téllez, G. A. y Castaño, J. C. (2010). Péptidos antimicrobianos. *Infectio*, 14(1), 55-67.
[https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70093-X](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70093-X)

Vikesland, P., Garner, E., Gupta, S., Kang, S., Maile-Moskowitz, A. y Zhu, N. (2019). Differential Drivers of Antimicrobial Resistance across the World. *Accounts of chemical research*, 52 (4), 916-924. 10.1021/acs.accounts.8b00643

Vikram, A., Tokman, J. I., Woolston, J. y Sulakvelidze, A. (2020). Phage Biocontrol Improves Food Safety by Significantly Reducing the Level and Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Various Foods. *Journal of Food Protection*, 83 (4), 668-676. 10.4315/0362-028x.jfp-19-433

Zurabov, F. M., Chernevskaya, E. A., Beloborodova, N. V., Zurabov, A.Y., Petrova, M. V., Yadgarov, M. Y., Popova, V. M., Fatuev, O. E., Zakharchenko, V.E., Gurkova, M. M., Sorokina, E. A., Glazunov, E. A., Kochetova, T. A., Uskevich, V. V., Kuzovlev, A. N. y Grechko, A. V. (2022). Bacteriophage Cocktails in the Post-COVID Rehabilitation. *Viruses*, 14 (12).
[10.3390/v14122614](https://doi.org/10.3390/v14122614)