



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A
STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Modalidad: Artículo Científico

Autora: Ilbay Mayta, Jennifer Elizabeth

Tutora: Mg. Rosero Freire, Daniela Alexandra

Ambato - Ecuador

Septiembre 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutora del trabajo de investigación sobre el tema:

“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA” desarrollado por Ilbay Mayta Jennifer Elizabeth, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos técnicos, científicos y méritos para pasar al siguiente eslabón, que es la evaluación del jurado examinador quien será designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, septiembre del 2023

LA TUTORA



Firmado electrónicamente por:
**DANIELA ALEXANDRA
ROSERO FREIRE**

Mg. Rosero Freire, Daniela Alexandra

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Los criterios emitidos en el Artículo de Revisión bibliográfica “**POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA**” como también el contenido, desarrollo y conclusiones plasmadas en este documento son de mi autoría y de mi responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, septiembre del 2023

LA AUTORA



Firmado electrónicamente por:
JENNIFER ELIZABETH
ILBAY MAYTA

Ilbay Mayta, Jennifer Elizabeth

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Ilbay Mayta Jennifer Elizabeth con CI: 1850306059 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA”**, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, septiembre 2023

LA AUTORA



.....
Ilbay Mayta, Jennifer Elizabeth

CI: 1850306059

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Mg. Rosero Freire Daniela Alexandra, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA”**, Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, septiembre 2023

LA AUTORA



Mg. Rosero Freire, Daniela Alexandra

CI: 1804152658

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema: **“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA”** de Ilbay Mayta Jennifer Elizabeth, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, septiembre del 2023

Para constancia firman

.....

Calificador 1

.....

Calificador 2

.....

Calificador 3



REVISTA PERUANA DE CIENCIAS DE LA SALUD
Señoritas.



Jennifer Elizabeth Ilbay Mayta

Daniela Alexandra Rosero Freire

Reciban un cordial saludo y sirva este medio para informarles que una vez realizado el proceso de arbitraje, el Comité Editorial de la **Revista Peruana de Ciencias de la Salud** ha decidido publicar su manuscrito (artículo de revisión bibliográfica) titulado:

“Potencial terapéutico de bacteriófagos frente a Staphylococcus aureus resistente a meticilina”

Mismo que cumple con los lineamientos estipulados para su publicación.

Su artículo es presentado de forma digital y formato PDF en el volumen 5 número 3 (2023) con ISSN: 2707-6946 (impreso); 2707-6954 (en línea) y dirección electrónica: <http://revistas.udh.edu.pe/index.php/RPCS>.

El Comité Editorial de la **Revista Peruana de Ciencias de la Salud** agradece su participación y los invita a seguir colaborando con nosotros, ya que es grato contar con valiosas aportaciones.

Quedamos a sus órdenes para cualquier duda o información adicional que requiera, favor de comunicarse a la siguiente dirección electrónica: revpercienciasdelasalud@udh.edu.pe

Sin otro particular, le saluda.

ATENTAMENTE




Mg. Eddy Roberto Segura Paucar
Editor General

Comité Editorial

Oficina de editorial universitaria

Huánuco, 20 de julio del 2023

Dirección: Edificio 4 of. 207. Carretera Central km 2.6 - Ciudad Universitaria - La Esperanza

Teléfono: 969 506 695 | **Correo :** revpercienciasdelasalud@udh.edu.pe

DEDICATORIA

El presente artículo de investigación se lo dedico con mucho amor y cariño a mi madre Verónica Mayta, quien es mi razón de seguir adelante cada día, quiero dedicarle todos mis logros y éxitos. Tu madre, has sido mi modelo de lucha y perseverancia, cada paso que doy es un reflejo de todos los sacrificios que tú haces por mí. Tu esfuerzo y entrega han forjado que yo hoy cumpla una de las tantas metas que he me propuesto en mi vida. Gracias por entregarme tu amor incondicional, tu paciencia y consejos han ayudado que yo haya tomado las mejores decisiones durante todo este largo trayecto. Te amo mucho mami y gracias por estar siempre a mi lado sin importar las adversidades.

A mi padre Rolando Ilbay que en paz descansa, su firmeza y carácter son el resultado de la persona que soy actualmente. Le estoy sumamente agradecida por haberme criado con sabiduría y amor. Sin él no lo hubiera logrado ya que gracias a su fortaleza y sustento diario ha buscado la manera de que no me falte nada y siempre ha hallado la manera de ofrecerme lo mejor. Tus enseñanzas, valores y principios siempre quedaran grabados en mi mente, alma y corazón.

A mis hermanas Fernanda y Romina quienes ahora son la razón para seguir esforzándome personal y profesionalmente, quiero dedicarles un logro mas del cual ustedes siempre han estado presentes con sus ocurrencias y me han sacado varias veces de momentos de aflicción. Quiero que este proyecto de investigación sea un modelo a seguir para ustedes en un futuro y que tengan siempre en cuenta todos los esfuerzos que nuestros padres han hecho por cada una de nosotras y no olviden que todas sus metas se pueden conseguir con esfuerzo y perseverancia.

Ilbay Mayta Jennifer Elizabeth

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios, por haberme guiado y bendecido en todo el transcurso de mi carrera universitaria, por ser mi apoyo, mi luz y mi camino.

A mis padres Verónica y Rolando, quienes han creído en mí siempre y me han brindado su apoyo incondicional tanto moral como económico. Les agradezco profundamente por haberme formado como la persona que soy hoy en día y alentado para cumplir cada uno de mis objetivos.

A mis tías Patricia y Mónica quienes han sido un pilar fundamental desde el inicio de mi formación académica, gracias por respaldarme en cada momento de mi vida, ustedes han sido un ejemplo de superación, humildad y las promotoras en gran parte de que haya cumplido una meta más en mi vida.

A la Lic. Daniela Rosero, quien le hago llegar mis más sinceros agradecimientos por haberme guiado e impartido sus conocimientos en el desarrollo del presente artículo de investigación, gracias por el apoyo, la motivación, la paciencia que me tuvo y por haber confiado en mis capacidades pese a mis fallas y limitaciones.

A mis amigos Joseline, Fernanda, Karen y Víctor por su amistad, ayuda y las experiencias compartidas durante todos los semestres de universidad, gracias a ustedes por el apoyo no solo académico sino también moral, ya que han aportado un gran porcentaje en mis ganas de seguir estudiando y formándome profesionalmente.

Y para finalizar le doy gracias a todas las personas, docentes, compañeros y familiares que han aportado un granito de arena en mi vida y han creído en mí incondicionalmente.

Ilbay Mayta Jennifer Elizabeth

“POTENCIAL TERAPÉUTICO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA”

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno en el cual los microorganismos como las bacterias se vuelven resistentes a los medicamentos que antes eran efectivos para eliminarlas o controlar su crecimiento. Según la OMS uno de los patógenos prioritarios que necesita una alternativa terapéutica es el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), debido a su gran cantidad de mecanismos de patogenicidad, su capacidad de sintetizar biopelículas y su particularidad de variación clonal para expandirse y colonizar nuevos medios. La terapia con bacteriófagos ha mostrado un amplio enfoque para tratar infecciones causadas por este patógeno, dada su alta especificidad y efectividad para matar a la bacteria huésped. Sin embargo, aún se hallan algunos obstáculos para su uso terapéutico en humanos, por lo que se requiere realizar más ensayos clínicos. En este artículo de investigación se detallan casos y estudios clínicos que proporcionan información útil que puedan acotar con otros estudios clínicos posteriores.

PALABRAS CLAVES: BACTERIÓFAGOS, FAGOTERAPIA, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (MRSA), RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (AMR).

THERAPEUTIC POTENTIAL OF BACTERIOPHAGES AGAINST METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is a phenomenon in which microorganisms such as bacteria become resistant to drugs that were previously effective in eliminating them or controlling their growth. According to WHO one of the priority pathogens in need of a therapeutic alternative is methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), due to its large number of pathogenicity mechanisms, its ability to synthesize biofilms and its particularity of clonal variation to expand and colonize new media. Bacteriophage therapy has shown a broad approach to treat infections caused by this pathogen, given its high specificity and effectiveness in killing the host bacterium. However, there are still some obstacles to its therapeutic use in humans, and further clinical trials are required. This research article details cases and clinical studies that provide useful information that can be used in further clinical studies.

KEYWORDS: BACTERIOPHAGES, PHAGE THERAPY, METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA), ANTIMICROBIAL RESISTANCE (AMR).

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por hongos, bacterias o fabricadas sintéticamente con el fin de matar a bacterias, dada su acción bactericida (1). Son utilizados como tratamiento de diferentes infecciones bacterianas, sin embargo, con el pasar de los años las bacterias han desarrollado resistencia a estos medicamentos logrando que los antibióticos pierdan su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano de forma eficaz.(1,2)

La causa principal de la resistencia a los antibióticos es la automedicación, debido a que la mayoría de la población intenta controlar infecciones víricas con antibióticos o a su vez, utilizan dosis o tiempos de tratamiento inadecuados (2–5). A nivel ganadero se utilizan antibióticos en bajas dosis como suplemento alimenticio para estimular el crecimiento de los animales, de igual manera a nivel agrícola se usan para estimular el crecimiento vegetal eliminando patógenos bacterianos de plantas, para evitar así las plagas agrícolas, en consecuencia, esto puede transmitirse a los seres humanos a través de la cadena alimentaria y contribuir a la resistencia bacteriana (6).

En 2022, la primera evaluación integral sobre el impacto de la resistencia a los antimicrobianos (AMR) en la salud mundial, estimó que 4,95 millones de muertes en 2019 estaban asociadas con AMR (7). Además las tres cuartas partes de las muertes por AMR son ocasionadas por seis especies catalogadas como patógenos prioritarios según la OMS (4,7). Por otra parte, se evaluó que para el año 2050 habrá 10 000 millones de muertes al año a nivel global por esta causa (8,9).

Uno de los patógenos prioritarios causante de muerte, es el *Staphylococcus aureus*, un coco Gram positivo causante de miles de muertes por infecciones cutáneas en la antigüedad, sin embargo, en 1940 el médico británico Alexander Fleming descubrió la penicilina como tratamiento para este patógeno (3,6,10,11). A pesar de ello, años después el *S.aureus* desarrolló resistencia a la penicilina y en 1960 se introdujo la meticilina, la cual volvió a tomar el control sobre las infecciones (3). En 1961 aparecieron cepas nuevas resistentes a la meticilina además de presentar

resistencia a todos los β -lactámicos (2,6,12). A partir de este acontecimiento los científicos han ido realizando experimentos contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) para controlar las infecciones ocasionadas por este microorganismo (13).

La OMS indica que el MRSA se ha convertido en un gran problema a tratar, debido a que ha causado más de 100.000 muertes atribuibles a la AMR en 2019 (1,7). A causa de esto se están experimentando nuevas estrategias terapéuticas en las que se incluye terapias con bacteriófagos (7,14).

Los bacteriófagos o fagos son virus que están compuestos por una cápside que contiene ADN o ARN y una vaina formada por fibras finas proteicas, se encuentran en todos los ecosistemas regulando las poblaciones de bacterias en la naturaleza, dado que las parasitan al introducir su ácido nucleico (15). Se clasifican en fagos líticos y temperados, los fagos que siguen el ciclo lítico van a introducir su material genético en la bacteria para posteriormente lisarla y provocar múltiples copias de sí mismos. Por otro lado, los fagos temperados o lisogénicos no van a ocasionar daño a la bacteria, dado que su replicación está vinculada con la replicación de la bacteria huésped. (15–17).

En la actualidad la ciencia ha dado grandes avances en cuanto al mejoramiento con el uso de fagos en algunas terapias, por ello se cree que el MRSA no es la excepción. Se han efectuado experimentos en modelos animales vertebrados e invertebrados donde se ha comprobado que la introducción de distintos bacteriófagos específicos erradican las infecciones causadas por este patógeno (8)(18).

Por ello, mediante revisión bibliográfica este artículo tiene como objetivo establecer el potencial terapéutico de bacteriófagos frente a MRSA como una posible alternativa para el tratamiento médico en humanos.

MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica de artículos relacionados a procedimientos terapéuticos con bacteriófagos en *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Para el desarrollo de la investigación se realizó una búsqueda en diferentes bases de datos, entre los que se encuentran: Scopus, Scielo, Pubmed, NCBI, Google académico, Medigraphic, e información epidemiológica obtenida de la OMS.

Se utilizaron artículos científicos en inglés y español publicados desde el año 2018 en adelante, de temas relacionados a la fagoterapia frente a MRSA. Además, se incluyeron aquellos artículos publicados antes del año 2018 que acotaron información relevante del tema.

DESARROLLO

El *Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo, β -hemolítico, coagulasa y catalasa positivo(19,20). Se encuentra agrupado en racimos y habita normalmente en la microflora normal del cuerpo humano exactamente en pliegues cutáneos, cavidad nasofaríngea y piel. También se ha observado que se hallan en los alimentos y algunas superficies como dispositivos médicos (3,6,12,19). Este agente es causante de diversas infecciones locales de la epidermis además de endocarditis, neumonía, bacteriemia y osteomielitis, que se deben a diferentes factores de virulencia sintetizados por genes que expresan a lo largo de su vida (2,4,12,18,19,21).

Las cepas del *S.aureus* han ido adquiriendo factores de resistencia a los antibióticos a lo largo de los años. La resistencia a la meticilina del *S.aureus* se caracteriza por la presencia del gen *mecA*, transferido genéticamente por el casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*), un elemento genético móvil(22,23). El gen *mecA* sintetiza la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2a) responsable del entrecruzamiento de los peptidoglicanos en la pared celular del *S.aureus*, que le otorga una baja afinidad por los β -lactámicos obstaculizando su control y tratamiento(6,20–23).

MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) expresa una amplia gama de mecanismos de patogenicidad en los que se incluyen proteínas de superficie, toxinas pirogénicas, enzimas y genes (Figura 1) que se encuentran en

elementos genéticos móviles de la bacteria, los cuales facilitan la adhesión tisular, la evasión inmunitaria y el daño a la célula huésped (6,20–24).

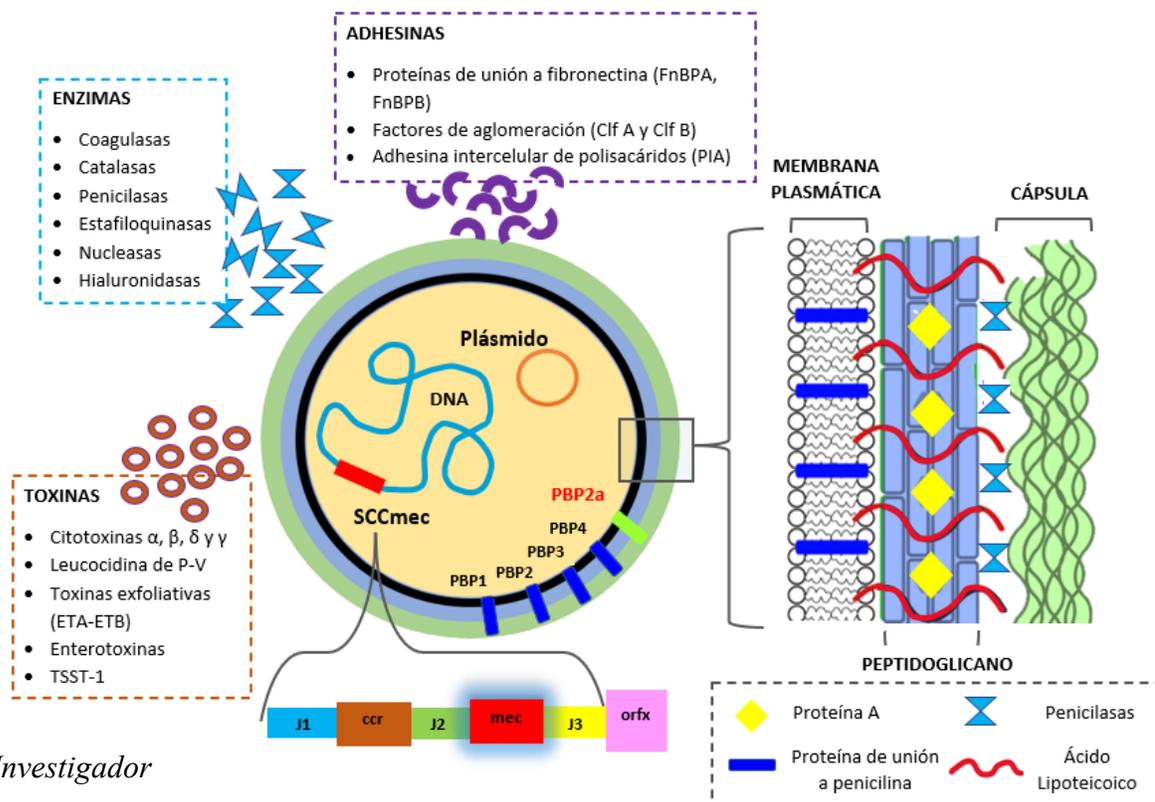
El factor de virulencia más importante del MRSA, es la capacidad para sintetizar biopelículas (6,14,17,19,23). Las biopelículas están conformadas por exopolisacáridos y proteínas estructurales de superficie como la adhesina intercelular de polisacáridos (PIA), que representa el 90% de la biomasa de las biopelículas(14,19,25). Este mecanismo se asocia principalmente con la colonización de dispositivos médicos como catéteres, válvulas cardiacas, prótesis articulares, entre otros, generando un problema de gran relevancia a nivel hospitalario por su difícil erradicación(2–4,14,19,26).

Así como las biopelículas, existen otros factores patogénicos propios del MRSA los cuales se mencionan a continuación.

Proteínas de superficie

- **Proteína A:** Se adhiere a la inmunoglobulina IgG previniendo la opsonización del sistema de complemento y la fagocitosis.
- **Proteínas de unión a fibronectina (FnBPA, FnBPB):** Reconocen la fibronectina para invadir y colonizar los tejidos heridos.

Fig 1. Estructura celular y factores de patogenicidad de S. aureus



Factores de aglomeración (Clf A y Clf B): Reconocen el fibrinógeno en el plasma del huésped provocando una aglomeración de bacterias.

Toxinas pirogénicas

- **Citotoxinas α , β , δ , γ :** Son tóxicas para varias células. Dentro de estas citotoxinas se destaca la hemolisina α , cuya función es hidrolizar a los eritrocitos para aumentar la disponibilidad de hierro a la bacteria.
- **Leucocidina de Panton Valentine (PVL):** Hidroliza a los leucocitos principalmente neutrófilos.
- **Toxinas exfoliativas:** Destruye las uniones intercelulares de las células de la capa granulosa de la epidermis. Se asocia con el síndrome de la piel escaldada o enfermedad de Ritter y ocurre en bebés o niños menores de cinco años.
- **Enterotoxinas (A-E):** Superantígenos que causan intoxicación alimentaria en humanos, debido a que es una toxina termoestable, resistente a ebullición y a enzimas digestivas.
- **Toxina 1 del Síndrome de Shock Tóxico (TSST-1):** Superantígeno que destruye las células endoteliales.

Enzimas

- **Coagulasas:** Transforma el fibrinógeno en fibrina.
- **Catalasas:** Cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno.
- **Hialuronidasas:** Cataliza la degradación del ácido hialurónico facilitando la dispersión de la bacteria a los tejidos del huésped.
- **Nucleasas:** Hidrolizan el DNA.
- **Penicilasas:** Hidrolizan las penicilinas
- **Estafiloquinasas:** Lisan los coágulos de fibrina(2,6,14,20,21,23,24,26,27)

CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA

Cepas de *S.aureus* resistente a la meticilina asociadas a la atención hospitalaria (MRSA-HA)

Las cepas de MRSA-HA son más persistentes, virulentas y difíciles de eliminar debido a que en el ambiente hospitalario la resistencia antimicrobiana se expresa al límite, dado que los pacientes se encuentran agrupados en un espacio limitado recibiendo antimicrobianos, lo que implica una “presión” sobre las bacterias logrando que desarrollen mecanismos de resistencia y su transmisión en el ambiente sanitario(2,4,6,23). El MRSA-HA se transmite fácilmente a pacientes con hospitalización prolongada o que tengan heridas postoperatorias, debido a que sintetiza biopelículas que colonizan instrumentos médicos como catéteres, tubos endotraqueales e instrumentos quirúrgicos, siendo estos pacientes los más vulnerables para infectarlos(2,6,13,19).

Cepas de *S.aureus* resistente a la meticilina asociadas a la comunidad (MRSA-CA)

El MRSA-CA se originó en personas fuera de la atención médica, dejando de considerarse este patógeno una bacteria nosocomial(6,14,23). Las cepas de MRSA-CA se manifiestan en personas fuera de la atención médica y se transmite por contacto directo o indirecto con el hospedero generando infecciones cutáneas leves y de tejidos blandos (2,6,20,23).

Cepas de *S.aureus* resistente a la meticilina asociadas a la ganadería (MRSA-LA)

El MRSA-LA se hallan en animales domésticos principalmente en cerdos. Las personas con más probabilidad a infectarse son las personas que laboran en camales, los veterinarios y granjeros. Por otra parte, algunos informes han indicado la presencia de MRSA-LA en la producción de alimentos cárnicos derivados de estos animales, sin embargo, no se ha comprobado el origen de estos hallazgos, debido a la gran variedad de métodos utilizados y la falta de datos cuantitativos en los niveles de MRSA en la mayor parte de las investigaciones. (2,6,23).

EPIDEMIOLOGÍA DEL MRSA

El MRSA continúa siendo un patógeno importante en el ámbito de la medicina puesto que es la principal causa de infecciones a nivel hospitalario, comunitario y

ganadero, dada su alta tasa de prevalencia y expansión en todo el mundo. Según la OMS se estima que los pacientes portadores de MRSA tienen una probabilidad de morir de un 64% (1,4,7,20,28).

En el 2019 según el estudio Global Burden of Disease Study (GBD) de los seis patógenos principales causantes de muertes por resistencia a los antimicrobianos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*) la resistencia del *S.aureus* a la meticilina fue más alta (60 % a menos del 80 %) en países del norte de África y el Medio Oriente y más baja (menos del 5 %) en varios países de Europa y África subsahariana(7). En el mismo año el MRSA causó más de 100 000 muertes y 3.5 millones de casos de AVAD (años de vida ajustados por discapacidad) atribuibles a la resistencia a antibióticos (7).

Un estudio realizado por Gallo J. indica que en América Latina existe una carencia de recursos para el monitoreo de la epidemiología de MRSA, por lo que recomienda crear programas con mayores alcances para proveer informes de vigilancia de MRSA en Latinoamérica (28).

TRATAMIENTO ACTUAL

El método estándar de vigilancia para detectar infecciones ocasionadas por el MRSA es el cultivo, sin embargo, no existe un tratamiento específico para los pacientes afectados por este patógeno, por lo que la terapia debe acoplarse al sitio y a la gravedad de infección de cada persona tomando en cuenta los resultados de los cultivos microbiológicos, las pruebas de susceptibilidad y la clínica del paciente (28–30).

Los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina), la daptomicina, linezolid, clindamicina, trimetoprima-sulfametoxazol o la doxiciclina son medicamentos de elección por los médicos para combatir las infecciones causadas por bacterias Gram positivas multirresistentes como el MRSA(2,6,20,23). No obstante, actualmente este patógeno ha desarrollado mecanismos de resistencia en varias familias de antibióticos como macrólidos, lincosamidas, estreptograminas (MLSB) y peor aún,

resistencia intermedia y total a la vancomicina (VISA, VRSA)(2,12,25). Esto genera una crisis creciente con una elevada carga sanitaria y económica, por lo que es urgente hallar estrategias alternativas para las diferentes patologías derivadas de estas cepas multirresistentes(8,31).

TERAPIA CON BACTERIÓFAGOS

La terapia con bacteriófagos es una alternativa para combatir infecciones ocasionadas por bacterias multirresistentes, ya que poseen una alta especificidad y tienen espectros de acción estrechos, por lo que evitan la disbiosis bacteriana(12,14,32,33).

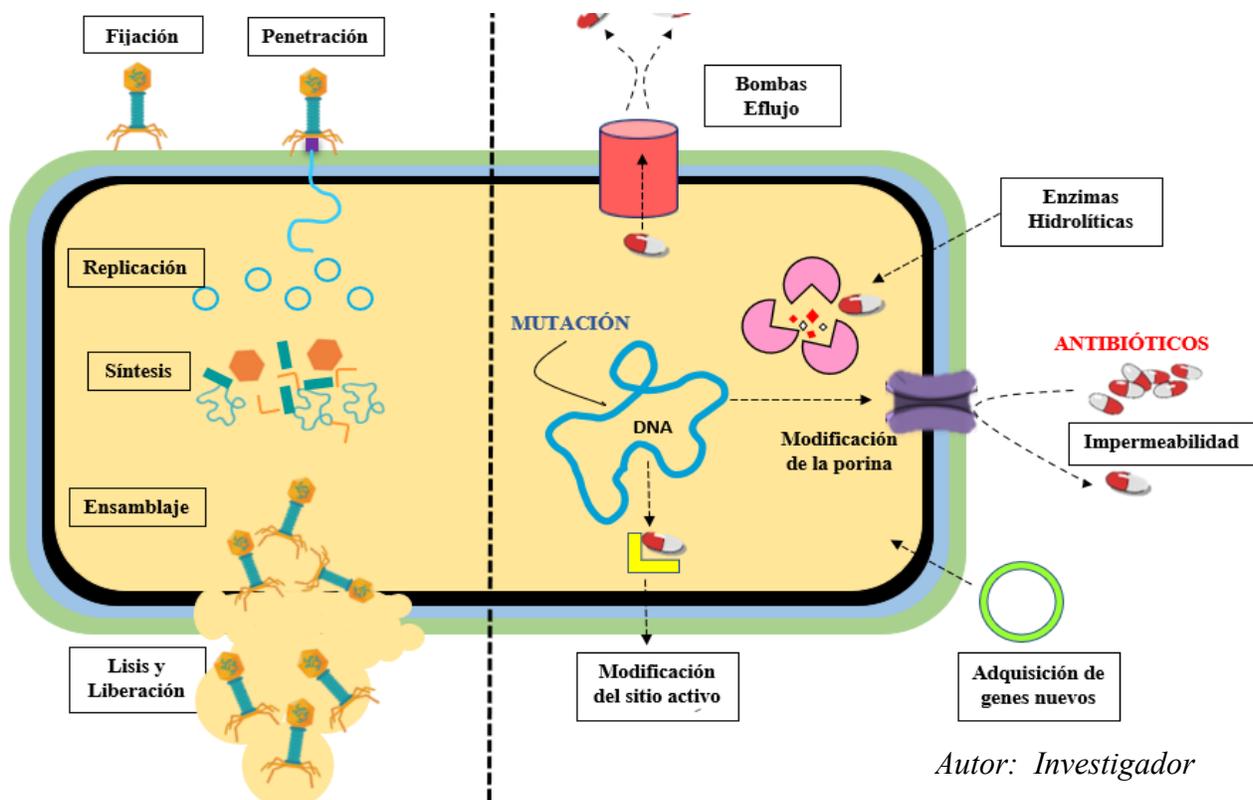
Los bacteriófagos o fagos son virus que requieren de un huésped bacteriano para sobrevivir y pueden entrar en el ciclo lisogénico o lítico después de la infección. En la etapa lisogénica, el fago integra su material genético en el genoma de la bacteria lo que se denomina profago, el cual permanece inactivo dentro del huésped(15,17,32). El fago lisogénico, puede codificar factores de virulencia letales y transferirlos a otras bacterias de forma horizontal en cada división celular(8,24,34). Durante el ciclo lítico, los fagos invaden la bacteria diana donde se replican rápidamente para lisar la pared celular mediante endolisinas y finalmente liberar los fagos nuevos(15,17,24).

Para fines terapéuticos, los fagos líticos son los más adecuados como terapia frente al MRSA(34). La mayoría de estos fagos pertenecen a las familias Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae, los cuales han mostrado mayor eficacia para matar bacterias multirresistentes y erradicar biopelículas que conllevan a infecciones crónicas(8,24,33).

Los fagos al igual que otros virus son reconocidos por el sistema inmune, el cual estimula a un sinnúmero de anticuerpos para eliminarlos de la circulación por medio del sistema reticuloendotelial o la respuesta inmune innata, antes de que los fagos logren infectar a las bacterias diana(32). Este evento influye negativamente en la eficacia de la fagoterapia, especialmente si se aplican dosis repetidas de fagos durante un largo periodo de tiempo(24,31).

La ingeniería genética a causa de este suceso, ha desarrollado diferentes aplicaciones para modificar el genoma de los fagos, disminuyendo su inmunogenicidad y de esta manera mejorar la clínica del paciente(24). A diferencia de los antibióticos existe una mínima probabilidad de que las bacterias adquieran resistencia a los fagos. Algunos estudios han combinado diferentes fagos (coctel de fagos) o fagos con antibióticos como métodos más seguros para evitar resistencias y proporcionar un tratamiento más concreto y seguro(5,25,35).

Fig 2. Acción lítica de los bacteriófagos y Mecanismos de resistencia a los antibióticos por MRSA.



Autor: Investigador

Es una labor desafiante encontrar fagos específicos y adecuados que satisfagan los requisitos reglamentarios para la aplicación en diferentes cepas de MRSA(8). Los bacteriófagos tienen la particularidad de unirse a la bacteria mediante un receptor específico. Los ácidos teicoicos que conforman la pared celular (WTA) son receptores comunes de las bacterias Gram positivas que los fagos utilizan para penetrar su material genético(24). Se han identificado más de 200 fagos estafilocócicos líticos, en su mayoría procedentes de aguas residuales que han sido probados en diferentes animales de experimentación e incluso en

humanos(8,12,18). La mayoría de estas investigaciones realizadas a lo largo de los años hasta la actualidad se encuentran en la fase I y II de los ensayos clínicos los cuales han mostrado resultados positivos y alentadores (Tabla 1)(2,32).

Recientemente, se han revelado ensayos clínicos aleatorios relacionados a la terapéutica con fagos en humanos para combatir patologías causadas por el *S. aureus* y otras bacterias multirresistentes en los que aún no se han publicado resultados(2,18). Uno de los estudios evalúa la terapia con fagos en combinación con antibióticos en infecciones de prótesis articulares de cadera o rodilla mediante un estudio de grupos paralelos(18). Otro estudio evalúa la seguridad y la tolerancia de un cóctel SPK de 14 fagos, administrado por vía tópica en heridas o infecciones por quemaduras de segundo grado y un tercer ensayo clínico multicéntrico, controlado, de 2 grupos paralelos, doble ciego analiza la efectividad de un fago administrado por vía tópica en úlceras infectadas de pie diabético (2,18).

Tabla 1. Ejemplos de fagos empleados en modelos animales y humanos para tratar infecciones por el MRSA o VISA.

Fago/ Coctel de fago	Cepa de Bacteri ana	Combinaci ón	Tipo de Infección	Resultados	Ref
VB_SauS_S H-St 15644	MRSA	-	Abscesos (ratones)	Disminución de infiltración de células inflamatorias y el daño de la estructura tisular en los abscesos. Se inyectó 108 UFP por vía subcutánea.	(12)
M ^{Sa}	MRSA	-	Infección sistémica y formación de Abscesos (ratones)	Eliminación de bacterias en la sangre con una dosis de 106 a 109 UFP por vía subcutánea e intravenosa.	(36)
MR-10	MRSA	Linezolid		Se controló considerablement e la infección 30	

			Infección sistémica (ratones)	minutos después de la administración de una dosis de 108 UFP .	(37)
J-Sa36, Sa83 y Sa87	MRSA	-	Herida en piel y tejidos blandos (ratones diabéticos)	Disminución de bacterias y cierre de heridas después de los 3, 5 y 7 días después de la infección con una dosis de 7.9 a 10 UFP.	(38)
MR-5 y MR-10	MRSA	-	Infección de piel y tejidos blandos (ratas)	Supervivencia del 100% después de 12 horas postinfección con dosis administradas de 108 o 110 UFP por vía intramuscular	(39)
MR-5	MRSA	Linezolid y Biopolímeros	Infecciones óseas y articulares (ratones)	Erradicación de las infecciones eficazmente con una inyección en la articulación de 109 UFP.	(40)
Sb-1	MRSA	Teicoplanina	Osteomielitis e infección de implantes ortopédicos (ratones)	Neutralizó la formación de biofilms y redujo la carga bacteriana. Se inyectó 107 UFP vía tópica.	(41)
2003, 2002, 3A y K	MRSA	Teicoplanina	Neumonía asociada al ventilador (ratas)	Mejoría en los resultados histopatológicos y tasas de supervivencia significativas. Se inyectaron 109 UFP a las 2, 4, 12, 24, 48 y 72 horas postinfección. Tipo de	(42)

				administración: vía intravenosa	
Sb-1	MRSA	-	Osteomielitis de falange distal (Humano)	Se volvió a osificar la falange distal exitosamente	(43)
Sb-1	VISA	Daptomicina Ceftarolina	Aislados de pacientes	Reducción de las poblaciones de <i>S.aureus</i> incluso de las biopelículas.	(35)
phiMR003	MRSA	-	Infección de heridas y abscesos (ratones)	Disminución de la carga bacteriana y células inflamatorias	(31)
4PHCISA25	MRSA	-	Abscesos (ratones)	Inhibición del desarrollo de abscesos dentro de las 24 horas Inyección: 10^9 UFP	(34)
PHB22a, PHB25a, PHB38a y PHB40a	MRSA	Ca ²⁺ Zn ²⁺	Infección sistémica (larvas)	Disminución de la carga bacteriana y aumento de la tasa de supervivencia. En los ratones se inyectó 1×10^9 UFP por vía intraperitoneal y en las larvas 4×10^7 UFP en su vientre.	(25)
44AH, P68 y K	MRSA	-	Aislados clínicos de diferentes muestras (orina, sangre y heridas)	Se lisaron 24 de 30 aislamientos de MRSA	(8)

Diferentes estudios anteriores y actuales han mostrado resultados eficaces y alentadores para la aplicación futura de la fagoterapia (2,18,24,44). En el 2018 inclusive se abrió un centro de experimentación con fagos (Centro de Aplicaciones

y Terapéutica Innovadoras de Fagos) en California, el cual ha contribuido con la formulación e identificación de diversos fagos para uso terapéutico(44). Es importante recalcar que el uso de bacteriófagos en el tratamiento de infecciones bacterianas es un campo de investigación activo y en evolución.

Existen países desarrollados como Georgia o Rusia que proveen productos comerciales a base de fagos a ciertos países Occidentales, esto dependiendo de las políticas en que se rija cada país, ya que dichos productos pueden tener problemas de importación debido a la falta de certificación, información analítica o trazabilidad del producto(44). Actualmente no hay productos de uso comercial registrados que hayan sido aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), mucho menos que se han establecido protocolos de terapia estandarizados para tratar infecciones por MRSA, VISA o VRSA(31,44). Hay que tener en cuenta que la información médica avanza rápidamente y es posible que en el futuro se desarrollen fagos específicos para el tratamiento de infecciones por bacterias multirresistentes.

DISCUSIÓN

En el presente artículo se muestran diferentes estudios clínicos ya realizados que destacan la eficacia de los bacteriófagos como posible terapia para combatir el MRSA. Los fagos conservan características únicas que han proporcionado grandes avances favorables sin manifestar efectos secundarios negativos en los pacientes que han presentado dichas infecciones estafilocócicas.

Existen parámetros importantes que se deben tomar en cuenta para determinar la eficacia de un tipo de bacteriófago. Entre estas características se encuentran el periodo de latencia y el tamaño de explosión los cuales se analizan mediante la curva de crecimiento bacteriano de un paso (14,33). En el estudio in vivo e in vitro de Xinxin Li, se utilizó un coctel de fagos (PHB22a, PHB25a, PHB38a y PHB40a) contra la cepa de MRSA S-18 en el que su periodo de latencia fue de 10 min y 20 min y un tamaño de explosión entre 25 y 180 UFC por célula infectada, destacándose de entre los demás estudios (25).

La mayoría de los estudios apoyan el uso de cocteles de fagos o la combinación con antibióticos para aumentar la eficacia del tratamiento con fagos. Coyne en su investigación demostró que los fagos complementados con Daptomicina y Ceftarolina redujo las poblaciones bacterianas en diferentes cepas de VISA y de biopelículas(35). De igual forma en uno de los estudios actuales, Kifelew indicó que el coctel de fagos (J-Sa36, Sa83 y Sa87) aplicado tópicamente en ratones diabéticos con heridas de piel y tejidos blandos redujo significativamente la carga bacteriana en comparación con el grupo de ratones no tratados.

Al igual que las experimentaciones en animales también se ha hecho uso de estos fagos en algunos estudios aplicados en humanos. Por ejemplo, Fish informó de una mujer de 63 años que sufría osteomielitis de la falange distal. Se aplicó una dosis del fago Sb-1 una vez por semana por aproximadamente seis semanas donde los resultados fueron la reosificación de la falange y disminución del eritema(43). Esto evidencia que los fagos pueden ayudar en el tratamiento de la osteomielitis del pie diabético(43).

A pesar de los resultados positivos en varias investigaciones, se han evidenciado disconformidades por algunos autores en cuanto a la aplicación de fagos en algunos ensayos. En un estudio realizado por Kishor demostró el éxito que tuvo un coctel de fagos en modelos de conejos que presentaban osteomielitis(18,45). No obstante la conclusión de dicho autor fue cuestionada debido a que la afección del conejo no coincidía con la condición del paciente en quien se replicó el estudio, el cual presentaba una infección crónica persistente(18). Este es uno de los grandes errores que generan algunos autores en relación a la fagoterapia, ya que se emplean modelos animales para el análisis de infecciones agudas y posteriormente se intenta ajustar a las afecciones crónicas en humanos.

La inmunogenicidad de los bacteriófagos también es otro tema de debate, dado que algunos autores mencionan que la capacidad de los fagos de estimular al sistema inmunológico varía dependiendo de varios factores como el tipo de fago, la dosis y el modo de administración o su vez la condición inmunológica del huésped (31). Sin embargo estudios clínicos como el de Zimecki en el que se examina los efectos de

la administración de fagos en ratones inmunosuprimidos infectados con *S.aureus* demostró ser segura y se cree que se cumplió una función de reemplazo de la función inmunológica(46).

En efecto, es necesario realizar ensayos aleatorizados, doble ciego muy bien estructurados que se basen en la evidencia de la terapia con fagos, así como el mejoramiento de los controles de calidad y seguridad de los preparados fágicos en los que se precise la mejor vía de administración y dosis requerida de fagos en la terapia(31,32,44).

CONCLUSIÓN

El MRSA y el VISA son cepas de *Staphylococcus aureus* que han desarrollado resistencia a múltiples antibióticos, lo que los hace difíciles de tratar con los fármacos convencionales. Sin embargo, los bacteriófagos pueden ser una alternativa prometedora debido a su capacidad para infectar y matar bacterias de manera específica, incluidas las cepas resistentes a los antibióticos.

La ventaja de los fagos como terapia es su capacidad para multiplicarse dentro de las bacterias objetivo, lo que amplifica su efecto. Además, los fagos tienen la capacidad de evolucionar rápidamente para adaptarse a las mutaciones bacterianas, lo que puede ayudar a superar la resistencia bacteriana.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que la terapia con bacteriófagos todavía se encuentra en la fase I y II de investigación y desarrollo, debido a la falta de estudios y protocolos bien elaborados por lo que su uso clínico no está ampliamente establecido en la mayoría de los países. Se requiere más investigación para determinar la seguridad, eficacia y aplicaciones específicas de los fagos en el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes.

BIBLIOGRAFÍA:

1. OMS. Resistencia antimicrobiana [Internet]. 2021 [citado 2 de mayo de 2023]. p. 1. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

2. Álvarez A, Fernández L, Gutiérrez D, Iglesias B, Rodríguez A, García P. Methicillin-resistant staphylococcus aureus in hospitals: Latest trends and treatments based on bacteriophages. *J Clin Microbiol.* 2019;57(12).
3. Gabriela A, Toasa N, Andrés F, Montoya M, Geovanny ;, Anchundia MA, et al. Staphylococcus aureus resistente a meticilina Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Staphylococcus aureus resistente à meticilina. 2020;4(3).
4. Liu S, Hon K, Bouras GS, Psaltis AJ, Shearwin K, Wormald PJ, et al. APTC-C-SA01: A Novel Bacteriophage Cocktail Targeting Staphylococcus aureus and MRSA Biofilms. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11).
5. Save J, Que YA, Entenza J, Resch G. Subtherapeutic Doses of Vancomycin Synergize with Bacteriophages for Treatment of Experimental Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infective Endocarditis. *Viruses.* 2022;14(8).
6. Lee AS, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nat Rev Dis Prim [Internet].* 2018;4(May):1-23. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
7. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022;399(10325):629-55.
8. Samir S, El-Far A, Okasha H, Mahdy R, Samir F, Nasr S. Isolation and characterization of lytic bacteriophages from sewage at an egyptian tertiary care hospital against methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical isolates. *Saudi J Biol Sci.* 2022;29(5):3097-106.
9. Kawada-Matsuo M, Le MNT, Komatsuzawa H. Antibacterial peptides resistance in staphylococcus aureus: Various mechanisms and the association with pathogenicity. *Genes (Basel).* 2021;12(10).
10. Alejandro DF, Megan NB, Daniela AS. Fortuna and Serendipity: history of

- some drugs used in Pediatric Intensive Care. *Andes Pediatr.* 2022;93(4):591-8.
11. Giraldo-Hoyos N. History of penicillin: Beyond heroes, a social construction. *Iatreia.* 2021;34(2):172-9.
 12. Ji J, Liu Q, Wang R, Luo T, Guo X, Xu M, et al. Identification of a novel phage targeting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* In vitro and In vivo. *Microb Pathog* [Internet]. 2020;149(June):104317. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104317>
 13. Tamariz JH, Lezameta L, Guerra H. Phagotherapy faced with *Staphylococcus aureus* methicillin resistant infections in mice. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014;31(1):69-77.
 14. Rezaei Z, Elikaei A, Barzi SM, Shafiei M. Isolation, characterization, and antibacterial activity of lytic bacteriophage against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing bed sore and diabetic wounds. *Iran J Microbiol.* 2022;14(5):712-20.
 15. Domínguez Navarrete N. Bacteriófagos. *Rev la Fac Med Humana.* 2020;20(1):164-5.
 16. Criscuolo E, Spadini S. Phage therapy: An alternative to antibiotics. *Biocommunication of Phages.* 2020;31(2):335-46.
 17. Ramirez-Sanchez C, Gonzales F, Buckley M, Biswas B, Henry M, Deschenes M V., et al. Successful treatment of *staphylococcus aureus* prosthetic joint infection with bacteriophage therapy. *Viruses.* 2021;13(6):1-10.
 18. Plumet L, Ahmad-Mansour N, Dunyach-Remy C, Kissa K, Sotto A, Lavigne JP, et al. Bacteriophage Therapy for *Staphylococcus Aureus* Infections: A Review of Animal Models, Treatments, and Clinical Trials. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12(June):1-16.
 19. Pasachova J, Ramirez S, Muñoz L. *Staphylococcus aureus*: generalities, mechanisms of pathogenicity and cell colonization. *Nova.* 2019;17(32):25-38.

20. Algammal AM, Hetta HF, Elkelish A, Alkhalifah DHH, Hozzein WN, Batiha GES, et al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA): One health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. *Infect Drug Resist.* 2020;13:3255-65.
21. Silva V, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. Molecular epidemiology of staphylococcus aureus lineages in wild animals in europe: A review. *Antibiotics.* 2020;9(3):1-28.
22. Bastidas B, Méndez M V., Vásquez Y, Requena D. Tipificación del cassette cromosómico estafilocócico de *Staphylococcus aureus* resistentes al meticilino en el estado de Aragua, Venezuela. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2020;37(2):239-45.
23. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol [Internet].* 2019;17(4):203-18. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>
24. Walsh L, Johnson CN, Hill C, Ross RP. Efficacy of Phage- and Bacteriocin-Based Therapies in Combatting Nosocomial MRSA Infections. *Front Mol Biosci.* 2021;8(April).
25. Li X, Chen Y, Wang S, Duan X, Zhang F, Guo A, et al. Exploring the Benefits of Metal Ions in Phage Cocktail for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infection. *Infect Drug Resist.* 2022;15:2689-702.
26. Nandhini P, Kumar P, Mickymaray S, Alothaim AS, Somasundaram J, Rajan M. Recent Developments in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Treatment: A Review. *Antibiotics.* 2022;11(5):1-21.
27. Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A, Marusza W. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Mol Sci.* 2022;23(15).

28. Quishpe, Almeida V. Universidad Técnica De Ambato Centro De Estudios De Posgrado. Tesis de Grado [Internet]. 2022;1-84. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2163/4/Maestría V. T. 33 - Almeida Lema Vinicio Fabián.pdf>
29. Wu Q, Sabokroo N, Wang Y, Hashemian M, Karamollahi S, Kouhsari E. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of vancomycin-resistance *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2021;10(1):1-13. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00967-y>
30. Haas W, Singh N, Lainhart W, Mingle L, Nazarian E, Mitchell K, et al. Genomic Analysis of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the 3rd Case Identified in the United States Reveals Chromosomal Integration of the vanA Locus. 2023;
31. Suda T, Hanawa T, Tanaka M, Tanji Y, Miyanaga K, Hasegawa-Ishii S, et al. Modification of the immune response by bacteriophages alters methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Sci Rep* [Internet]. 2022;12(1):1-14. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19922-x>
32. Reina J, Reina N. 10.1016/j.coph.2005.06.002. *Biocommunication of Phages*. 2020;31(2):335-46.
33. Mohammadian F, Rahmani HK, Bidarian B, Khoramian B. Isolation and evaluation of the efficacy of bacteriophages against multidrug-resistant (MDR), methicillin-resistant (MRSA) and biofilm-producing strains of *Staphylococcus aureus* recovered from bovine mastitis. *BMC Vet Res* [Internet]. 2021 [citado 19 de abril de 2023];18:406. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03501-3>
34. Shuang Wang, Xi Huang, Jie Yang, Dan Yang, Yue Zhang, Yanyan Hou, Lin Lin, Lin Hua, Wan Liang, Bin Wu ZP. No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析Title. *Microbiol Res*. 2023;267:2019-22.

35. Coyne AJK, Lehman SM, Rybak J, Morrisette T. Eradication of Bio fi Im-Mediated Methicillin-Resistant Antibiotic Combination. 2022;10(2):1-31.
36. Capparelli R, Parlato M, Borriello G, Salvatore P, Iannelli D. Experimental phage therapy against Staphylococcus aureus in mice. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(8):2765-73.
37. Chhibber S, Kaur T, Kaur S. Co-Therapy Using Lytic Bacteriophage and Linezolid: Effective Treatment in Eliminating Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from Diabetic Foot Infections. PLoS One. 2013;8(2):1-11.
38. Kifelew LG, Warner MS, Morales S, Vaughan L, Woodman R, Fitridge R, et al. Efficacy of phage cocktail AB-SA01 therapy in diabetic mouse wound infections caused by multidrug-resistant Staphylococcus aureus. BMC Microbiol. 2020;20(1):1-10.
39. Chhibber S, Shukla A, Kaur S. crossm Transfersomal Phage Cocktail Is an Effective Treatment against Methicillin-. Am Soc Microbiol. 2017;61(10):1-9.
40. Kaur S, Harjai K, Chhibber S. In Vivo Assessment of Phage and Linezolid Based Implant Coatings for Treatment of Methicillin Resistant S. aureus (MRSA) mediated orthopaedic device related infections. PLoS One. 2016;11(6):1-23.
41. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage Therapy in Implant-Related Infections. J Bone Jt Surgery-American Vol. 2013;95(2):117-25.
42. Prazak J, Iten M, Cameron DR, Save J, Grandgirard D, Resch G, et al. Bacteriophages improve outcomes in experimental staphylococcus aureus ventilator-associated pneumonia. Am J Respir Crit Care Med. 2019;200(9):1126-33.
43. Fish R, Kutter E, Bryan D, Wheat G, Kuhl S. Resolving digital staphylococcal osteomyelitis using bacteriophage—A case report. Antibiotics. 2018;7(4):1-6.

44. Patey O, McCallin S, Mazure H, Liddle M, Smithyman A, Dublanchet A. Clinical indications and compassionate use of phage therapy: Personal experience and literature review with a focus on osteoarticular infections. *Viruses*. 2019;11(1):1-21.
45. Abedon ST. Commentary: Phage therapy of staphylococcal chronic osteomyelitis in experimental animal model. *Front Microbiol*. 2016;7(AUG):1-4.
46. Zimecki M, Artym J, Kocięba M, Weber-Dąbrowska B, Borysowski J, Gárski A. Effects of prophylactic administration of bacteriophages to immunosuppressed mice infected with *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol*. 2009;9:1-8.