

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Bacteriófagos como terapia para combatir el cáncer en el sistema digestivo causado por  
*Helicobacter pylori***

**Monografía previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología**

**DENNIS ALEXANDER MOYA ARGUELLO**

**Quito, 2025**

## CERTIFICACIÓN

Por medio del presente, certifico que la Monografía de la Carrera de Microbiología, elaborada por el estudiante Dennis Alexander Moya Arguello ha sido concluida conforme a las normas establecidas. Por lo tanto, se autoriza su presentación para la calificación correspondiente.

Firma del tutor de la monografía

MSc. Fernando René Santacruz Flores

Quito, 04 de Julio de 2025

## DEDICATORIA

A mis padres, por su apoyo constante que me han brindado a lo largo de la carrera y a toda mi familia que también me han motivado a seguir adelante. Sin ustedes no hubiera sido posible alcanzar este objetivo tan importante en mi vida

## TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	6
5. DESARROLLO TEÓRICO.....	7
5.1. PREVALENCIA DE <i>HELICOBACTER PYLORI</i> EN ECUADOR Y LATINOAMÉRICA.....	7
5.1.1. Casos reportados en Latinoamérica.....	8
5.1.2. Terapias usadas para combatir el cáncer en el sistema digestivo.....	10
5.2. <i>HELICOBACTER PYLORI</i> Y LOS BACTERIÓFAGOS.....	11
5.2.1. Características generales del género <i>Helicobacter</i> .....	11
5.2.2. <i>Helicobacter</i> en patologías digestivas.....	12
5.2.3. Pared celular y factores de virulencia de <i>H. pylori</i> .....	13
5.2.4. Los bacteriófagos y su función en el microbioma humano.....	14
5.2.5. Los bacteriófagos y su relevancia en la terapia contra el cáncer.....	17
5.2.6. Los bacteriófagos que proliferan en <i>H. pylori</i> .....	19
5.2.7. Caracterización del fago HPy1R .....	20
5.2.8. Fagoterapia utilizando el fago HPy1R.....	20
5.2.9. Estrategias para el funcionamiento del fago HPy1R en el sistema digestivo.....	22
5.2.10. Caracterización morfológica del fago 1961P.....	23
5.2.11. Relevancia del fago 1961P frente a <i>H. pylori</i> y su potencial terapéutico.....	24
5.2.12 Caracterización morfológica de los fagos $\phi$ HPE1 y $\phi$ HPE2.....	25
5.2.13. Relevancia de $\phi$ HPE1 y $\phi$ HPE2 en la terapia contra <i>Helicobacter pylori</i> .....	25
5.3. BACTERIÓFAGOS M13 Y T4 EN USO DE TERAPIA ONCOGÉNICA.....	26
5.3.1. Biología del Fago M13.....	27
5.3.2. Bacteriófago M13 y <i>H. pylori</i> .....	27

5.3.3 El Bacteriófago T4 y <i>H. pylori</i> .....	28
5.3.4. Relaciones terapéuticas del fago T4 y <i>H. pylori</i> .....	29
5.3.5. Avances en el uso de fagos en humanos: ensayos clínicos y patentes.....	31
5.3.6. Desafíos y potencial de la nanomedicina basada en fagos.....	31
5.4. AISLAMIENTO DE BACTERIÓFAGOS.....	32
5.4.1. Aislamiento y caracterización de bacteriófagos contra <i>H. pylori</i> .....	32
5.4.2. Aislamiento de bacteriófagos líticos contra <i>H. pylori</i> .....	33
5.4.3. Estudios realizados sobre el aislamiento de bacteriófagos contra <i>H. pylori</i> .....	34
6. CONCLUSIONES.....	37
7. RECOMENDACIONES.....	38
8. BIBLIOGRAFÍA.....	39
9. ANEXOS.....	48

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>H. pylori</i> en el mundo .....	7
Figura 2. Bacterias del género <i>Helicobacter</i> ( <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Helicobacter pylori</i> ).....	12
Figura 3. Ciclo lítico y lisogénico de fagos.....	14
Figura 4. Tabla de bacteriófagos líticos y lisogénicos de <i>H. pylori</i> . .....	19
Figura 5. Bacteriófago HPy1R.....	20
Figura 6. Morfología del fago 1961 P.....	24
Figura 7. Esquematización morfológica y proteica.....	27
Figura 8. Visualización de un fago de <i>H. pylori</i> con un tamaño de 700 nm. ....	34
Figura 9. Placas de inhibición de crecimiento inducido por mitomicina y fagos.....	36

## 1. RESUMEN

Esta revisión bibliográfica explora el potencial terapéutico de los bacteriófagos como alternativa innovadora frente a los tratamientos convencionales del cáncer gástrico asociados a infecciones por *Helicobacter pylori*. Esta bacteria, ampliamente distribuida en Latinoamérica y con una alta prevalencia en Ecuador, ha sido clasificada como carcinógeno tipo 1 por la OMS debido a su relación directa con el desarrollo de cáncer gástrico y otras patologías digestivas. Ante la creciente resistencia a los antibióticos y los altos costos de tratamientos como la quimioterapia, IBP, entre otros, se plantea el uso de fagos como una opción efectiva y específica. Se revisan los mecanismos de acción de los fagos, tipos de infección de la entidad biológica y cómo podrían aplicarse para modular el microbioma tumoral o combatir a *H. pylori* de manera directa. Se estudian fagos específicos como el HPy1R, 1961P,  $\phi$ HPE1 y  $\phi$ HPE2, los cuales demostraron actividad lítica contra cepas de *H. pylori* y estabilidad en condiciones fisiológicas simuladas del estómago. De la misma manera, se describen fagos modificados como el fago M13, utilizado como plataforma para transportar fragmentos de anticuerpos contra *H. pylori*, y otros como T4, aplicables en terapias oncológicas por su capacidad de inducir respuestas inmunológicas o destruir biofilms bacterianos, relacionando sus investigaciones científicas para futuros estudios contra *H. pylori*. A pesar de los beneficios, se reconocen retos como la estabilidad en pH gástrico, la inmunogenicidad y la dificultad para aislar fagos líticos efectivos, lo que requiere estrategias complementarias para garantizar su uso en pacientes que presenten dificultades relacionadas al cáncer en el sistema digestivo.

**PALABRAS CLAVE:** bacteriófagos, fagoterapia, *Helicobacter pylori*, cáncer gástrico, sistema digestivo.

## 2. ABSTRACT

This literature review explores the therapeutic potential of bacteriophages as an innovative alternative to conventional treatments for gastric cancer associated with *H. pylori* infections. This bacterium, widely distributed in Latin America and highly prevalent in Ecuador, has been classified as a type 1 carcinogen by the WHO due to its direct relationship with the development of gastric cancer and other digestive pathologies. Given the growing resistance to antibiotics and the high costs of treatments such as chemotherapy and PPIs, among others, the use of phages is proposed as an effective and specific option. The mechanisms of action of phages, types of infection of the biological entity, and how they could be applied to modulate the tumor microbiome or directly combat *H. pylori* are reviewed. Specific phages such as HPy1R, 1961P,  $\phi$ HPE1, and  $\phi$ HPE2 are studied, which demonstrated lytic activity against *H. pylori* strains and stability under simulated physiological conditions of the stomach. Similarly, modified phages such as phage M13, used as a platform to transport antibody fragments against *H. pylori*, and others such as T4, applicable in oncology therapies due to their ability to induce immune responses or destroy bacterial biofilms, are described. Their scientific research is linked to future studies against *H. pylori*. Despite their benefits, challenges such as stability in gastric pH, immunogenicity, and the difficulty in isolating effective lytic phages are recognized, which requires complementary strategies to guarantee their use in patients with cancer-related difficulties in the digestive system.

**Keywords:** bacteriophages, phage therapy, *Helicobacter pylori*, stomach cancer, digestive system.

### 3. INTRODUCCIÓN

El cáncer producido en el sistema digestivo representa una de las principales causas de mortalidad en el mundo, con un estimado de 9,6 millones de muertes registradas hasta los años del 2018, según información proporcionada por la Organización Mundial de la Salud. En el año 2020, se registraron un total de 1,93 millones de muertes ocasionadas al cáncer colorrectal y cerca de los 1,09 millones de casos relacionados al cáncer gástrico (OMS, 2022). El cáncer gástrico es el cuarto más común y la segunda causa de muerte por tumores malignos en el mundo (OMS, 2022). Entre los tipos de cáncer con altas tasa de mortalidad en Ecuador destacan, el cáncer de estómago, el de mama y el de próstata, debido al diagnóstico tardío, factores biológicos y ambientales (Checa y Ruales, 2018). Según registros estadísticos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, en Ecuador para el año del 2022 el cáncer al estómago es considerado la novena causa de muerte en el territorio y el cáncer colorrectal ocupa el segundo lugar en Latinoamérica (Sociedad Ecuatoriana de Oncología, 2023). Estas formaciones tumorales suelen ser asociados con la infección por *Helicobacter pylori*, un microorganismo letal que ha venido afectando a países en desarrollo. (Instituto Nacional del Cáncer, 2023). Debido a este potencial oncogénico, la OMS clasificó a *H. pylori* como un carcinógeno de tipo 1 desde 1994, reconociendo su papel causal en el desarrollo del cáncer gástrico.

En la última década, la lucha contra el cáncer digestivo ha experimentado transformaciones radicales gracias a avances terapéuticos que incluyen cirugías para la extirpación de tumores, quimioterapia, radioterapia y el uso de antibióticos. Sin embargo, desafíos como la resistencia microbiana, la heterogeneidad tumoral y los limitantes económicos exigen el desarrollo de nuevos métodos de control (Instituto Nacional del Cáncer, 2023). La detección temprana es clave para mejorar el pronóstico y reducir la mortalidad. Por ese motivo, se exploran alternativas terapéuticas más accesibles y eficaces, como el uso de bacteriófagos, para reducir los riesgos en la generación de células cancerígenas o atacar directamente a microorganismos causantes de esta enfermedad (Aznar, 2014).

Estas entidades biológicas pueden dirigirse específicamente a bacterias relacionadas con el

desarrollo tumoral o al microbioma presente en el entorno tumoral, minimizando efectos secundarios y preservando a bacterias beneficiosas que se encuentren dentro del organismo humano (Marques, 2011). Su uso también puede tener efectos secundarios y desafíos relacionados con la generación de respuestas inmunitarias adversas, ya que los fagos, como partículas virales, pueden ser reconocidos como agentes extraños por el organismo, provocando inflamación o incluso reacciones alérgicas (Encina, 2022). Otros de los desafíos se relacionan con la transferencia horizontal de genes y el aislamiento de bacteriófagos específicos, que presentan complicaciones en la búsqueda de estos (Marques, 2011).

Se han podido investigar la presencia de algunos bacteriófagos que pueden ser utilizados como terapia para combatir el cáncer en el sistema digestivo, como los bacteriófagos M13 y T4 (Fan et al., 2023). El bacteriófago M13 ha despertado interés en la investigación oncológica debido a su capacidad para ser modificado genéticamente. Estas modificaciones permiten que el M13 actúe como vehículo para medicamentos anticancerígenos, ARN o ADN terapéuticos, o inclusive para reconocer y adherirse a marcadores en la superficie de células cancerosas (Bustamante, 2013). Este enfoque reduce el daño a células sanas, mejora la especificidad del tratamiento y estimula el sistema inmunológico, incrementando la efectividad de la inmunoterapia. Esta entidad biológica puede ser utilizado para combatir a *Helicobacter pylori*, a pesar de no tener especificidad de contagio a esta bacteria, adhiriéndose a la pared celular de este tipo de bacterias e impedir su proliferación en la mucosa gástrica (Cao et al., 2000). El aislamiento de bacteriófagos específicos que ataquen a *H. pylori*, ha sido uno de los desafíos en busca de nuevos tratamientos para el cáncer gástrico; sin embargo, se ha logrado en pocas ocasiones, ya sean de naturaleza lítica o temperada (Sharma et al., 2017). La procedencia de su naturaleza es importante para poder aplicarlos en terapia oncológica, debido a que, en la mayoría de los tratamientos a enfermedades ocasionadas por bacterias, se busca que sean de origen lítico, con el fin de erradicar a los distintos patógenos; sin embargo, se requiere más énfasis en la práctica experimental para poder seguir con investigaciones futuras en este campo (Cisek et al., 2017).

En Ecuador, los tratamientos para el cáncer, como cirugías, quimioterapia y la terapia hormonal, son accesibles en el sistema público de salud, pero suelen tener costos elevados en clínicas privadas. Esto representa un desafío para los pacientes, quienes en muchos casos no pueden cubrir estos gastos. Por otro lado, el tratamiento inicial contra *H. pylori* con antibióticos busca reducir el riesgo de cáncer gástrico, pero las opciones actuales para los casos avanzados suelen ser invasivas y costosas (Boscán et al., 2020). Frente a estas limitaciones, los bacteriófagos ofrecen una opción innovadora y de menor costo. El limitado conocimiento en Ecuador sobre tratamientos alternativos para tumores y el impacto del aumento de tumores malignos, ya sea por mutaciones genéticas o infecciones como las causadas por *H. pylori*, refuerzan la necesidad de explorar métodos menos invasivos y más asequibles (Boscán et al., 2020). La presente revisión explora el uso de bacteriófagos como alternativa en el tratamiento de cáncer en el sistema digestivo ocasionado por *Helicobacter pylori*, destacando su potencial para transformar la atención oncológica, así como los retos y posibles complicaciones que deben ser abordados en la investigación futura.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. OBJETIVO GENERAL

Explorar el uso de bacteriófagos como alternativa terapéutica para el cáncer digestivo, enfocándose en *Helicobacter pylori*, evaluando su eficacia y posibles riesgos.

### 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

**4.2.1.** Analizar la incidencia de *Helicobacter pylori* en Ecuador y Latinoamérica, así como su impacto en la salud pública y las estrategias disponibles para reducir su prevalencia.

**4.2.2.** Estudiar el papel de los bacteriófagos en el microbioma digestivo y su efecto sobre *H. pylori*.

**4.2.3.** Revisar las ventajas y limitaciones de los bacteriófagos M13 y T4 como terapia oncológica, considerando su especificidad y capacidad para modular el microbioma tumoral.

**4.2.4.** Investigar métodos de aislamiento de bacteriófagos anti-*H. pylori* y su eficacia.

## 5. DESARROLLO TEÓRICO

### 5.1. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en Ecuador y Latinoamérica

Los estudios epidemiológicos revelan marcadas diferencias en la distribución de la infección por *H. pylori* según el nivel de desarrollo de los países. En las naciones industrializadas, como en la Unión Europea y Norteamérica, las tasas de prevalencia oscilan entre un 14% y 40% de la población (Aroca y Vélez, 2021). En contraste, en las regiones en vías de desarrollo como Latinoamérica, los índices de infección muestran cifras más elevadas, alcanzando entre el 60% y 80% en la población adulta, con porcentajes que pueden superar el 90% en la población infantil (Aroca y Vélez, 2021). *Helicobacter pylori* se transmite por medio de tres vías que pueden ser contacto oral-oral, fecal-oral y gástrico-oral (Hooi et al., 2017). A pesar de no ser considerado un patógeno de transmisión hídrica o alimentaria en sentido estricto, diversas investigaciones han identificado una posible relación entre la infección por *H. pylori* y el consumo de agua no tratada, particularmente en contextos de pobreza (Percival y Thomas, 2009). Esta asociación se explica por la falta de acceso a sistemas de saneamiento básico, prácticas higiénicas deficientes y condiciones de vida precarias, factores vinculados al nivel socioeconómico de las poblaciones afectadas.



**Figura 1. *H. pylori* en el mundo.**

Prevalencia de *H. pylori* a nivel global, en donde el color rojo significa una mayor prevalencia por encima del 70%. La prevalencia en Ecuador esta en aproximadamente un 70%. Extraída de (Hooi et al., 2017).

Diversas investigaciones científicas han abordado el análisis de la frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* en individuos que presentan manifestaciones clínicas digestivas. Los estudios epidemiológicos demuestran que existe una correlación significativa entre la presencia de síntomas gastrointestinales y la colonización por este microorganismo, en especial pacientes que presentan cuadros de dispepsia, gastritis o úlcera péptica (Fiallos et al., 2024). Los pacientes sintomáticos presentan náuseas, vómito, anemia, sangrados, sensación de vacío y hematemesis; por otro lado, existe un porcentaje bajo de la población a nivel mundial, aproximadamente el 15%, que no presentan los síntomas mencionados anteriormente en los primeros meses, pero que a largo plazo se intensifican (Aroca y Vélez, 2021). La patogénesis de las úlceras gástricas y duodenales está determinada por una compleja interacción entre factores bacterianos, características del huésped y la persistencia de la infección. Estos elementos en conjunto crean un ambiente propicio para el desarrollo de lesiones ulcerosas que, en casos severos, pueden evolucionar hacia complicaciones hemorrágicas (Aroca y Vélez, 2021).

**5.1.1. Casos reportados en Latinoamérica**

La elevada prevalencia de *H. pylori* en la población ecuatoriana se desarrolla a lo largo del territorio según el género, la edad y la ubicación en el territorio. Investigaciones realizadas en Guayaquil con 102 pacientes pediátricos reportaron tasas de infección del 45.2% en niños y 54.8% en niñas, con mayor frecuencia en el grupo de 5 a 9 años (Aroca y Vélez, 2021). En contraste, estudios en adultos mayores revelaron una prevalencia del 68.4%, siendo más común entre los 60 y 69 años (Castro et al., 2019). Esta bacteria se asocia significativamente con el desarrollo de gastritis, donde se han identificado como principales factores de riesgo la propia infección bacteriana, la edad menor a 50

años, el consumo de tabaco y alcohol, así como los altos niveles de estrés (Batista et al, 2020). Adicionalmente, investigaciones en el Hospital "Dr. Efrén Jurado López" de Guayaquil demostraron que el 47.66% de los pacientes asintomáticos presentaban infección, con mayor incidencia en personas mayores y una clara relación con hábitos de higiene inadecuados (Batista et al, 2020).

En un estudio realizado en Quito, Ecuador, se identificó una alta frecuencia de genes de virulencia de *Helicobacter pylori* en pacientes con infección gástrica. El gen *oipA* fue el más prevalente presentando un porcentaje del 93.6%, asociado con un mayor riesgo de inflamación gástrica (Baldeón-Rojas et al., 2023). Los genotipos *vacA-s1* y *vacA-s1m1* mostraron una fuerte vinculación con el desarrollo de metaplasia intestinal con un 70.9%; mientras que, *babA2* se relacionó con hiperplasia folicular linfoide presentando un 70,2% (Baldeón-Rojas et al., 2023). Por otro lado, el gen *cagA* estuvo presente en el 31.9% de los casos y se asoció con inflamación aguda de la mucosa gástrica. Estos hallazgos demuestran que las cepas de *H. pylori* circulantes en Quito poseen un perfil genotípico de alta patogenicidad, lo que podría explicar la elevada incidencia de complicaciones gastrointestinales en la población estudiada (Baldeón-Rojas et al., 2023).

Según una investigación realizada en Chile, este país presenta una de las tasas más elevadas de cáncer gástrico a nivel global, ubicándose en la quinta posición mundial (OMS, 2022). El estudio analizó específicamente la asociación entre la infección por *Helicobacter pylori* y la mortalidad por cáncer gástrico en diversas comunas del país. Los resultados mostraron que el 73% de la población estudiada estaba infectada con esta bacteria, con una mayor prevalencia en el sexo masculino y una mayor frecuencia en el grupo de pacientes con edades entre 45 a 64 años (Ferrecchio et al., 2007). Estos hallazgos resaltan la importancia de *H. pylori* como factor de riesgo significativo para el desarrollo de neoplasias gástricas en la población chilena (Ferrecchio et al., 2007).

En Colombia, con una población que ronda los 51 millones de habitantes, se estima que aproximadamente el 60% de los adultos están infectados por *Helicobacter pylori*, lo que representa un importante desafío de salud pública (Otero et al., 2024). Esta elevada prevalencia se ve agravada

por la creciente resistencia antimicrobiana que ha desarrollado la bacteria frente a antibióticos empleados en su tratamiento. Se ha registrado una resistencia superior al 80% frente al metronidazol, mientras que, para claritromicina y levofloxacina las tasas alcanzan el 25% y 27%, respectivamente (Otero et al., 2024). Por otro lado, en Perú la prevalencia de *H. pylori* en la población general alcanza aproximadamente el 80%, una de las más altas a nivel regional. Esta elevada tasa de infección se asocia con la alta incidencia de cáncer gástrico en el país, el cual representa la neoplasia más letal en Perú (Otero et al., 2024). La vinculación entre *H. pylori* y el desarrollo de cáncer de estómago ha sido ampliamente reconocida, lo que refuerza la necesidad de implementar estrategias efectivas orientadas a la erradicación de esta bacteria. La creación de registros nacionales y el análisis sistemático de los patrones de resistencia antibiótica permitirán obtener información representativa de distintas regiones, facilitando así el diseño de intervenciones terapéuticas más específicas y adaptadas a las condiciones epidemiológicas locales, con el fin de optimizar su eficacia.

### **5.1.2. Terapias usadas para combatir el cáncer en el sistema digestivo**

Entre las terapias utilizadas en la última década, se han destacado el uso de inhibidores de la bomba de protones combinados con antibióticos que han demostrado ser altamente efectivas, especialmente cuando se ajustan a las resistencias bacterianas locales (Gisbert et al., 2022). Para que el tratamiento se lo considere de manera efectiva y aceptada en el ámbito clínico, debe llegar a superar una tasa del 90% en relación a la recuperación que van a tener los pacientes que presentan los síntomas ocasionados por *Helicobacter pylori* (Gisbert et al., 2022). Según Otero et al. (2024), en Colombia, las terapias que se efectúan en este territorio tienen una tasa de efectividad que varía en un porcentaje del 60% al 70%, lo que no permite la confiabilidad de la terapia.

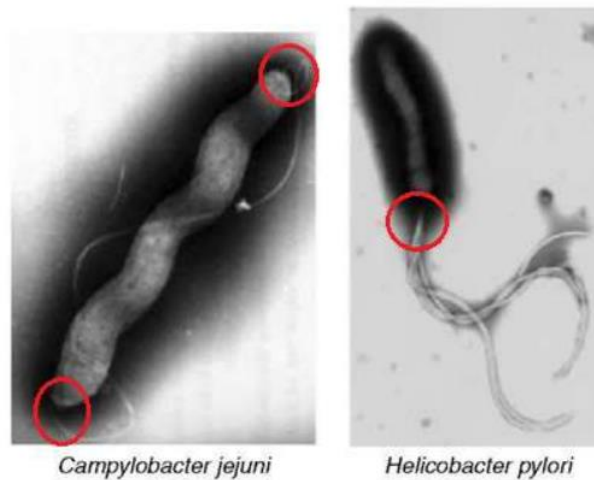
El tratamiento de *H. pylori* en Ecuador enfrenta importantes retos debido al desarrollo de resistencia a los antibióticos. Estudios realizados en Quito evaluaron la efectividad de cinco antibióticos en adultos con dispepsia recurrente, encontrando altos porcentajes de resistencia a metronidazol y claritromicina (Boffill et al., 2019). Este fenómeno representa un problema clínico

relevante, ya que un número considerable de cepas bacterianas ha desarrollado resistencia a los esquemas terapéuticos convencionales, lo que obliga a reconsiderar los protocolos de tratamiento y buscar alternativas más efectivas. La combinación de alta prevalencia en diferentes grupos poblacionales, su asociación con patologías gástricas y el incremento en la resistencia antimicrobiana, plantean la necesidad de implementar estrategias integrales que incluyan mejores métodos diagnósticos, tratamientos personalizados y programas de prevención enfocados en mejorar las condiciones sanitarias de la población.

## **5.2. *Helicobacter pylori* y los bacteriófagos**

### **5.2.1. Características generales del género *Helicobacter***

Desde un punto de vista taxonómico, el género *Helicobacter* se clasifica dentro de la subdivisión *Proteobacteria*, orden *Campylobacterales* y familia *Helicobacteraceae*, lo que refleja su relación filogenética con otros microorganismos de importancia clínica y ambiental (Jones et al., 1985). Se los describe como bacilos Gram negativos de morfología variable, que pueden presentarse en formas helicoidales o curvadas, rectas y en condiciones de supervivencia en forma cocoide (Shahamat et al., 1991). Estas bacterias poseen flagelos que se pueden localizar en un extremo o a ambos lados de la bacteria que están recubiertos por una vaina, que es como una cubierta protectora formada por lipopolisacáridos o glicoproteínas (Shahamat et al., 1991). Además, posee un engrosamiento en la punta del flagelo, lo que lo ayuda a adherirse a las distintas superficies y a interactuar con el entorno. Desde el punto de vista bioquímico, son microorganismos oxidasa y catalasa positivos, y crecen en condiciones microaerófilas a una temperatura óptima de 37°C. En cuanto a su perfil de susceptibilidad antimicrobiana, muestran sensibilidad a un grupo de antibióticos los cuales destacan la penicilina, ampicilina, amoxicilina, eritromicina, entre otros (Aznar, 2014).



**Figura 2. Bacterias del género *Helicobacter* (*Campylobacter jejuni* y *Helicobacter pylori*).**

Observación de flagelos bipolares en *Campylobacter jejuni*; mientras que, *Helicobacter pylori* solo muestra un flagelo en uno de sus polos (Guendulain et al., 2023).

### 5.2.2. *Helicobacter* en patologías digestivas

Algunas especies del género *Helicobacter* se caracterizan por su capacidad de producción de ureasa y presencia de flagelos que les permiten moverse a través del pH del estómago de algunos animales y adherirse a la capa de la mucosa gástrica. Entre estas especies destacan *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. acynonichis* y *H. mustelae* que en su mayoría se los ha localizado en perros y gatos; sin embargo, se han encontrado estas especies en el interior del estómago de algunos pacientes con problemas relacionados a gastritis (Guendulain et al., 2023). La presencia de estos patógenos ha sugerido la posible asociación con cáncer gástrico y linfomas, los cuales pueden causar infecciones en humanos en un porcentaje que varía entre 0,2% y 6% según la zona geográfica en la que se encuentren (Zamani et al., 2018); mientras que, la presencia de *H. pylori* en gastroscopías varía de un 30% a 100% (Overby et al., 2017). Por otro lado, especies como *H. cinaedi*, *H. pullorum*, *H. winghamensis*, *H. canis*, *H. rappini*, *H. canadensis* y *H. fennelliae* se han relacionado con cuadros de diarrea y en casos de bacteriemia, especialmente en pacientes inmunodeprimidos (Aznar, 2014). De la misma manera, algunas cepas como *H. bilis*, *H. rappini*, *H. rodentium* y *H. pullorum* son conocidas por causar

patologías hepatobiliares en animales que han sido identificadas mediante técnicas serológicas, cultivo o PCR en pacientes con enfermedades como cáncer de vesícula biliar, colangitis esclerosante primaria y cirrosis biliar primaria, lo que sugiere un posible papel patógeno en humanos (Aznar, 2014).

*Helicobacter pylori* posee dimensiones típicas que varían de 2,5 a 4,5  $\mu\text{m}$  de longitud y su diámetro varía de 0,5 a 1  $\mu\text{m}$ . Esta especie puede tener desde 2 hasta 6 flagelos unipolares, de aproximadamente 2,5  $\mu\text{m}$  de largo y 30 nm de ancho (Costa et al., 1999). Su forma espiralada, observable en muestras frescas y en condiciones in vivo, tiende a perderse en cultivos prolongados o tras múltiples subcultivos, dando lugar a formas cocoides cuya viabilidad sigue siendo objeto de debate, en donde se sugiere que puede existir muerte celular de la bacteria en este estado (Enroth et al., 1999). Sin embargo, otros estudios sugieren que estas formas representan un estado no cultivable o de degeneración celular frente a diferentes cambios en el entorno o en situaciones de stress. (Kusters et al., 1997).

### **5.2.3. Pared celular y factores de virulencia de *H. pylori***

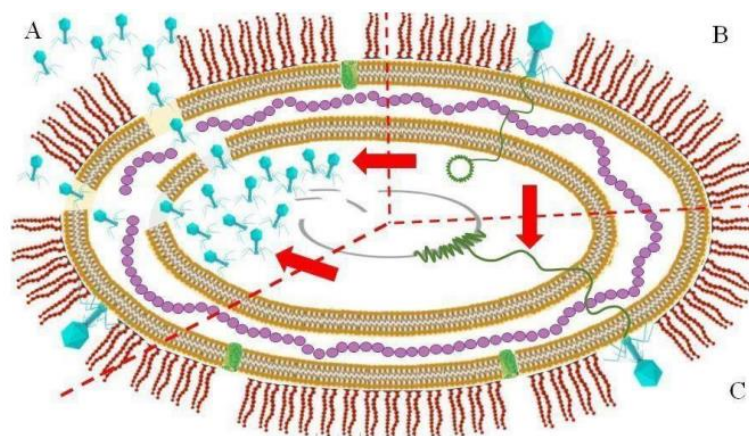
La pared celular de *H. pylori* sigue el esquema típico de las bacterias Gram negativas, pero con algunas características notables. Posee glucósidos de colesterol, una característica exclusiva del género *Helicobacter* (Haque et al., 1996), y un peptidoglicano estructuralmente distinto al de *Escherichia coli*, que sufre modificaciones en las formas cocoides (Costa et al., 1999). Su lipopolisacárido presenta un lípido A con baja actividad biológica y un antígeno O que mimetiza los antígenos de Lewis humanos, permitiendo evadir la respuesta inmune (Monteiro et al., 1998). Además, este LPS varía su composición en función del pH ambiental (McGowan et al., 1998).

La presencia de proteínas producidas en el citoplasma, como la ureasa, el superóxido dismutasa y la catalasa, facilita su adaptación al nicho gástrico (Bode et al., 1993). Otra estrategia adaptativa se debe a su sistema de secreción tipo IV, la cual libera la oncoproteína CagA y la toxina VacA, ambos críticos en su patogenicidad. Entre sus adhesinas sobresalen BabA y HopZ, que median

la unión a células epiteliales (Costa et al., 1999). A nivel intracelular, se han observado gránulos de polifosfato asociados a la gestión energética y depósitos de ferritina en condiciones de alto hierro reflejando su adaptación metabólica a ambientes hostiles (Costal et al., 1999).

#### 5.2.4. Los bacteriófagos y su función en el microbioma humano

Los bacteriófagos representan las entidades biológicas más diversas y abundantes en la Tierra, con una amplia variabilidad en estructura, genoma y estrategias de infección. Su morfología incluye estructuras complejas como cápsides icosaédricas, colas contráctiles y fibras de unión, adaptadas para reconocer receptores específicos en la superficie bacteriana (Simmonds y Aiewsakun, 2018). Esta especificidad limita su rango de hospedadores, generalmente a una sola especie o incluso a cepas bacterianas particulares, lo que los convierte en herramientas potenciales para aplicaciones terapéuticas y ecológicas (Simmonds y Aiewsakun, 2018). Durante la infección, los fagos emplean dos ciclos principales, los cuales son lítico y lisogénico. En el ciclo lítico, el genoma viral se introduce dentro de las bacterias para replicarse, provocando la lisis bacteriana y liberando nuevas partículas virales (Doore y Fane, 2016). En el ciclo lisogénico, el genoma de fago se une al cromosoma bacteriano y no se replica dentro de la bacteria hasta que el fago se encuentre en condiciones de stress. Si se encuentra en estas condiciones se activa su ciclo lítico llegando a multiplicarse para su supervivencia y perpetuando su especie (Hatfull y Hendrix, 2011).



**Figura 3. Ciclo lítico y lisogénico de fagos.** (A) Salida de bacteriófagos de la célula por lisis celular. (B) Profago en un plásmido. (C) Entrada del material genético viral a la célula (Doore y Fane, 2014).

A pesar de que la fagoterapia ha surgido como una alternativa prometedora a los antibióticos, su aplicación clínica enfrenta desafíos, como la inmunogenicidad de los fagos y la rápida eliminación por el sistema reticular endotelial (Canchaya et al., 2003). Los mecanismos de resistencia bacteriana, como los sistemas CRISPR- Cas, limitan la eficacia de los fagos naturales (Doore y Fane, 2016). Investigaciones recientes proponen el uso de enzimas fágicas, como endolisinas, para superar estas barreras, aunque aún se requieren estudios controlados que demuestren su seguridad y eficacia en humanos (Doore y Fane, 2016). Estos avances resaltan el potencial de los fagos en biotecnología y medicina, aunque su implementación requiere un enfoque multidisciplinario para abordar las limitaciones actuales (Doore y Fane, 2016).

En lugares como el intestino, la piel o la cavidad oral, los fagos tienen la capacidad de regular poblaciones a través de la lisis o el uso de transferencia horizontal de genes (Townsend et al. 2021). Estas acciones no solo alteran la composición bacteriana, sino que contribuyen a modificar procesos biológicos de bacterias específicas, en donde la respuesta inflamatoria y la interacción con el sistema inmunológico son efectos producto de la interacción entre estas poblaciones. Además, promueven la estabilidad y diversidad del microbioma en respuesta a cambios ambientales como el uso de antibióticos o cambios ocasionados en el consumo diario de alimentos. Sin embargo, los fagos lisogénicos, que integran su genoma en las bacterias, pueden alterar funciones bacterianas al portar genes que codifican toxinas o resistencia antibiótica, creando nuevas especies de patógenas listas para interactuar dentro del organismo humano (Hatfull y Hendrix, 2011).

#### **5.2.5. Los bacteriófagos y su relevancia en la terapia contra el cáncer**

Las investigaciones realizadas con fagos en el ámbito oncológico han ido surgiendo de una manera más acelerada por la urgencia en encontrar soluciones a problemas de salud relacionados a la formación de tumores malignos. Estudios recientes sugieren que ciertas cepas bacterianas

asociadas al cáncer, como *Fusobacterium nucleatum*, que afecta a las zonas del colon y recto, pueden ser eliminadas mediante el uso de fagos, reduciendo así la inflamación crónica y la progresión tumoral (Bullman et al., 2017). Los fagos modificados genéticamente han demostrado la capacidad de transportar agentes químicos que, una vez adheridos a las células cancerosas, reducen la formación de masas anormales dentro del organismo. En el caso del fago T4, modificado con anticuerpos específicos, es utilizado para llevar nanopartículas de doxorubicina, un fármaco quimioterapéutico que pertenece al grupo de las antraciclinas, a tumores de mama en modelos murinos (Bullman et al., 2019). Reducir la toxicidad en tejidos sanos es posible debido a la alta especificidad de los fagos, un principio que aprovecha la terapia fágica dirigida.

Los bacteriófagos tienen la capacidad de potenciar respuestas inmunitarias contra tumores mediante su interacción con el sistema inmune del hospedador. Estudios recientes demuestran que fagos filamentosos, como el M13, son capaces de activar células dendríticas, lo que promueve la llegada y acumulación de linfocitos T citotóxicos dentro del tumor, contribuyendo así a la respuesta antitumoral. (Chang et al., 2023). Un ejemplo clínico destacado es el uso del cóctel de fagos específicos en pacientes con melanoma avanzado, donde se observó una regresión tumoral asociada a la producción del interferón gamma (Chang et al., 2023). Sin embargo, la neutralización de fagos por anticuerpos humanos o la aparición de resistencia bacteriana, son factores para tomar en cuenta antes de realizar medicamentos. A pesar de esto, ensayos actuales exploran la seguridad de fagos modificados en cánceres gastrointestinales, por lo que los estos avances proponen cambios en la salud de los pacientes afectados (Chang et al., 2023).

Los fagos diseñados para presentar antígenos tumorales en su superficie han emergido como una estrategia prometedora en el tratamiento del cáncer. Esta tecnología aprovecha la capacidad de los fagos, como el M13, para exhibir fragmentos específicos en sus proteínas de cápside, lo que permite una unión selectiva a las células cancerosas y un potente estímulo inmunológico. Por ejemplo, en modelos preclínicos, fagos que muestran antígenos asociados al melanoma han inhibido el crecimiento tumoral y activado tanto CD4+ como CD8+ T-células, además de incrementar la

infiltración de macrófagos, sin evidenciar efectos adversos significativos (Mohammad et al., 2023). Gracias a su facilidad de producción, bajo coste y perfil de seguridad, los fagos se perfilan como plataformas viables para el desarrollo de vacunas terapéuticas a escala. Con relación a la administración del medicamento, las inyecciones intramusculares y subcutáneas siguen siendo las vías más empleadas; mientras que, los fagos del tipo M13 presentan potencial para formulaciones orales. Estos fagos mantienen su estabilidad al atravesar el tracto gastrointestinal y, en estudios en humanos, no alteran la microbiota intestinal ni elevan marcadores inflamatorios, lo que indica una buena tolerancia a ambientes hostiles (Ragothaman y Yoo, 2023). Para minimizar cualquier riesgo, se han usado fagos no líticos o con fibras de unión inactivas, evitando así impactos negativos sobre bacterias beneficiosas. Estos avances abren la puerta a vacunas orales basadas en fagos: sencillas, seguras y capaces de estimular tanto la inmunidad de la mucosa como sistémica.

#### **5.2.6. Los bacteriófagos que proliferan en *H. pylori***

Los bacteriófagos asociados a *Helicobacter pylori* han emergido como elementos clave para comprender la diversidad genética y la evolución de esta bacteria, así como posibles herramientas terapéuticas frente a su creciente resistencia a antibióticos. Los fagos de *H. pylori* se clasifican principalmente en líticos y lisogénicos, siendo estos últimos los más estudiados debido a su integración en el genoma bacteriano como profagos. Estos elementos móviles contribuyen significativamente a la variabilidad genética de *H. pylori* mediante transferencia horizontal de genes y recombinación, lo que ha permitido diferenciar cepas según su origen geográfico (Lehours et al., 2011). Estudios genómicos han identificado cuatro poblaciones principales de profagos los cuales son hpAfrica1, hpEastAsia, hpNEurope y hpSWEurope, que reflejan la coevolución entre el fago y su huésped bacteriano (Vale et al., 2017). Además, se ha observado que los profagos pueden insertarse cerca de genes de virulencia como *cagA* o *vacA*, lo que sugiere un papel potencial en la modulación de la patogenicidad (Kyrillos et al., 2016). Sin embargo, aún no se han elucidado completamente los mecanismos específicos mediante los cuales estos profagos influyen en la adaptación o fitness de *H. pylori* en su nicho gástrico (Vale y Lehours, 2018).

En contraste, los fagos líticos de *H. pylori* representan una prometedora alternativa terapéutica ante el fracaso de los regímenes antibióticos convencionales. Aunque los reportes son escasos, se han aislado fagos líticos como ΦHPE1 y ΦHPE2 de aguas residuales, los cuales pertenecen a las familias *Podoviridae* y *Siphoviridae*, que exhiben altos títulos infecciosos (véase en el anexo A) (Abdel-Haliem y Askora, 2013). Por otro lado, El fago Hp φ, combinado con lactoferrina y nanopartículas de hidroxiapatita, muestra una actividad antimicrobiana mejorada, superando las limitaciones del pH gástrico (Cuomo et al., 2020). Sin embargo, el desarrollo de terapias basadas en fagos enfrenta desafíos, como la falta de secuenciación genómica completa de estos virus y la posible resistencia bacteriana (Hyman y Abedon, 2010). Además, enzimas derivadas de fagos, como lisinas y holinas, podrían complementar estas estrategias al degradar la pared bacteriana (Fischetti, 2018). En conjunto, aunque el estudio de los fagos de *H. pylori* está en etapas iniciales, su potencial para modular la diversidad bacteriana y erradicar infecciones resistentes los posiciona como un área de investigación prioritario en la lucha contra este patógeno (Abedon, 2019).

*Helicobacter pylori* es un ejemplo notable de coevolución entre microorganismos y humanos, reflejada en su notable diversidad genética y distribución global. Esta bacteria presenta una estructura poblacional estratificada por regiones geográficas, lo que ha permitido identificar siete grupos principales, como hpAfrica1, hpEurope y hpEastAsia, entre otros (Shiota et al., 2014). Estas genéticas no solo ofrecen indicios sobre la evolución de la bacteria, sino también sobre los patrones migratorios de la humanidad desde su origen en África hasta su dispersión por el planeta.

Uno de los factores que explican esta diversidad es la elevada tasa de mutaciones y recombinación genética, junto con la incorporación de elementos móviles como los profagos. Estos fragmentos de ADN viral integrados en el genoma bacteriano no solo aumentan la variabilidad genética de *H. pylori*, sino que también presentan una distribución que varía según la región geográfica. Se han clasificado en al menos cuatro grupos distintos mediante análisis de secuencias, lo que sugiere que podrían tener un papel en la adaptación local de la bacteria (Shiota et al., 2014)

Aunque se ha propuesto que los profagos pueden influir en la virulencia del patógeno, aún

no se ha establecido una relación clara con enfermedades específicas. Sin embargo, gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación y análisis genómico, ha sido posible estudiar con mayor precisión estos elementos, lo que ha permitido considerarlos no solo como herramientas útiles en estudios epidemiológicos, sino también como posibles factores clave en la capacidad de *H. pylori* para adaptarse al ambiente gástrico (Vale et al., 2017).

En estudios recientes, se ha observado que los profagos de tipo temperado son los más comunes en esta especie, y que algunos de ellos podrían estar relacionados con mecanismos de adaptación frente al estrés ácido del estómago. Aunque el uso de fagoterapia para combatir *H. pylori* aún se encuentra en fases preliminares, algunos fagos líticos como HP1 y KHP30 han mostrado potencial como agentes terapéuticos (Uchiyama et al., 2013).

La Organización Mundial de la Salud clasificó a *H. pylori* como un patógeno prioritario en 2022, por lo que se requiere desarrollar vías alternativas a los antibióticos. El estudio de los aspectos genómicos, evolutivos y funcionales de los profagos podría abrir nuevas posibilidades para comprender mejor la biología de esta bacteria y, eventualmente, proponer nuevas estrategias clínicas para tratar las infecciones que provoca.

TABLE 1 | Main bacteriophages of *H. pylori*.

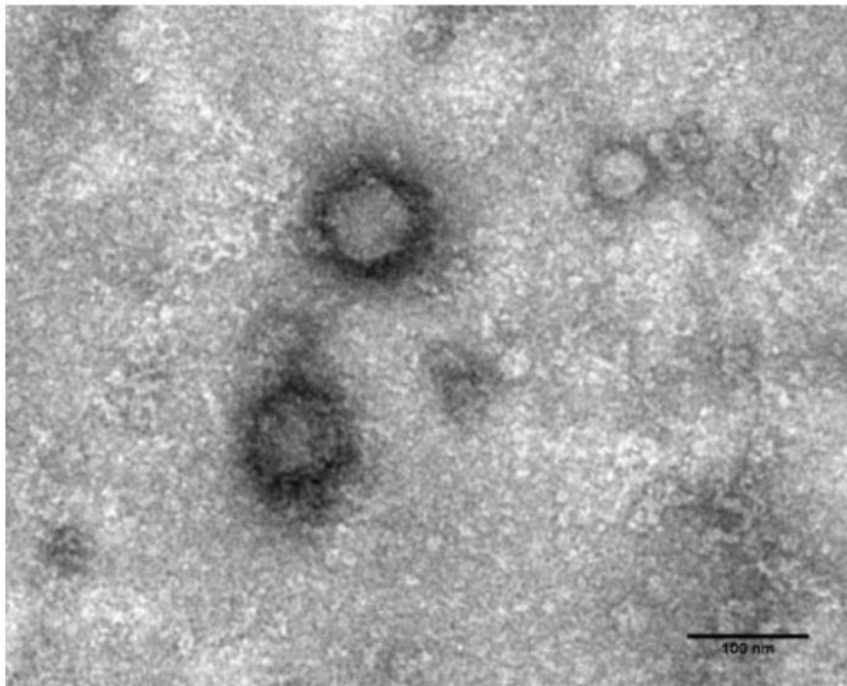
Bacteriophage	Type	Family	Genome size (Kb)	Details	References
1961P	Prophage	Podoviridae	26.8	Accession number: NC_019512.1 Head: 68-74 nm Tail: 23 x 13.3 nm	(Luo et al., 2012)
Campylobacter piloridis strain	Prophage	No data	No data	Intracellular particles of 40 nm in diameter	(Marshall et al., 1987)
Campylobacter pylori strain	Prophage	No data	No data	Intracellular particles of 85 nm in diameter	(Goodwin et al., 1989)
De-M53-M	Prophages	No data	28.1	Prophage population: hpNEurope Accession number: KX119205	(Vale et al., 2017)
Fr-ANT170-U	Prophage	No data	31.2	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119201	(Vale et al., 2017)
Fr-B41-M	Prophage	No data	29.4	Prophage population: hpSWEurope Accession number: KX119190	(Vale et al., 2017)
Fr-B58-M	Prophage	No data	22.6	Prophage population: hpEastAsia Accession number: KX119193	(Vale et al., 2017)
Fr-G12-G	Prophage	No data	28.6	Prophage population: hpEastAsia Accession number: KX119194	(Vale et al., 2017)
Fr-GC49-A	Prophage	No data	33.0	Prophage population: hpEastAsia Accession number: KX119195	(Vale et al., 2017)
Fr-MEC225-U	Prophage	No data	31.2	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119200	(Vale et al., 2017)
HP1	Prophage	Siphoviridae	22	Head:50-60 nm Tail:170 x 9.5 nm	(Heintschel Von Heinegg et al., 1993)
KHP30	Prophage	Cannot be classified / new family	26.2	Episome Accession number: NC_019928.1 Head: 67-71 nm Without tail	(Uchiyama et al., 2012, 2013; Takeuchi et al., 2018)
KHP40	Prophage	No data	26.4	KHP30-like Accession number: NC_019931.1	(Uchiyama et al., 2012)
PhiHp33	Prophage	Siphoviridae	24.6	Inducible by UV light Accession number: NC_016568 Head: 55-70 nm Tail: 92 x 6 nm	(Lehours et al., 2011)
Pt-1293-U	Prophage	No data	30.1	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119202	(Vale et al., 2017)
Pt-1846-U	Prophage	No data	28.0	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119176	(Vale et al., 2017)
Pt-1918-U	Prophage	No data	28.7	Prophage population: hpSWEurope Accession number: KX119192	(Vale et al., 2017)
Pt-212-99R-U	Prophage	No data	23.0	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119193	(Vale et al., 2017)
Pt-228-99-G	Prophage	No data	30.1	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119175	(Vale et al., 2017)
Pt-4472-G	Prophage	No data	27.6	Prophage population: hpSWEurope Accession number: KX119190	(Vale et al., 2017)
Pt-4481-G	Prophage	No data	25.4	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119196	(Vale et al., 2017)
Pt-4497-U	Prophage	No data	29.4	Prophage population: hpSWEurope Accession number: KX119191	(Vale et al., 2017)
Pt-5322-G	Prophage	No data	28.3	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119198	(Vale et al., 2017)
Pt-5771-G	Prophage	No data	29.8	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119199	(Vale et al., 2017)
Pt-B89-G	Prophage	No data	27.4	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119203	(Vale et al., 2017)
Pt-B92-G	Prophage	No data	30.5	Prophage population: hpAfrica1 Accession number: KX119197	(Vale et al., 2017)
Sw-A626-G	Prophage	No data	31	Prophage population: hpNEurope Accession number: KX119177	(Vale et al., 2017)
Sw-577-G	Prophage	No data	26.9	Prophage population: hpNEurope Accession number: KX119204	(Vale et al., 2017)
UK-EN31-U	Prophage	No data	30.5	Prophage population: hpNEurope Accession number: KX119174	(Vale et al., 2017)
UK-EN32-U	Prophages	No data	29.9	Prophage population: hpNEurope Accession number: KX119206	(Vale et al., 2017)
φ HPE1	Lytic	Podoviridae	No data	Titer: 10 <sup>9</sup> PFU/ml Head: 62 nm Short noncontractile tail: 12 x 6 nm	(Abdel-Haleem and Askora, 2013)
φ HPE2	Lytic	Siphoviridae	No data	Titer: 10 <sup>10</sup> PFU/ml Head: 95 nm Tail: 180 x 15 nm	(Abdel-Haleem and Askora, 2013)
Hp φ	Lytic	No data	No data	Used in synergy with lactoferrin and hydroxyapatite. Adsorption rate: 1.89 x 10 <sup>9</sup> mL/min Latent period: 45 min Burst size: 80 PFU	(Cuomo et al., 2020)
<i>H. pylori</i> strain BAP001	Lytic	No data	No data	Obtained from human feces Head: 100 nm Without tail	(Vale et al., 2008)

**Figura 4. Tabla de bacteriófagos líticos y lisogénicos de *H. pylori*.**

Se observa fagos líticos y Lisogénicos de *H. pylori* donde se detalla su familia y datos referenciales de las entidades biológicas. Se listan 30 profagos y 4 fagos líticos. Extraído de (Vale et al., 2017).

**5.2.7. Caracterización del fago HPy1R**

Este fago posee una cola corta de 17mm que no es contráctil y 66mm de longitud para su cabeza icosaédrica (Ferrera et al., 2022). El ADN bicatenario lineal de este fago presentó 31.162 pb, con un contenido de GC del 37,1% y repeticiones terminales de 287 pb en sus extremos (Casjens y Gilcrease 2009). El genoma codifica 36 CDS, de los cuales solo 17 presentaron homología con proteínas conocidas de fagos de *H. pylori*, mientras que 19 permanecen sin función asignada (Ferreira et al., 2022). La mayoría de las proteínas predichas son de pequeño tamaño y la organización genómica muestra una alta densidad de codificación. Los genes se agrupan en módulos funcionales en procesos de replicación, transcripción, empaquetamiento, lisis e integración (Ferreira et al., 2022).

**Figura 5. Bacteriófago HPy1R**

Mediante el uso de microscopios electrónicos de transmisión se observa la morfología del fago HPy1R

en una escala de 100mm. Las placas de lisis fueron teñidas con acetato de uracilo para su observación (Ferreira et al., 2022).

En un estudio de Ferreira et al. (2022), se identificó al fago COL 23-PUJ como el homólogo más cercano con una identidad nucleotídica del 88% y 80% cobertura (Ferreira et al., 2022). A nivel proteico, la integrasa de HPy1R mostró similitud con enzimas de profagos de *H. pylori* e incluso con fagos de otros géneros bacterianos como *Nitratiruptor* y *Pseudomonas*, mientras que proteínas estructurales como la cápside y la helicasa fueron exclusivas de fagos *Helicobacter*. Estudios filogenéticos con OrthoVenn2 confirmaron que HPy1R comparte entre el 66,67% y 97,22% de ortólogos con fagos como COL 23-PUJ y pHiHP33, clasificándolo dentro del género *Schmidvirus* (Ferreira et al., 2022). Mediante espectrometría de masas se validaron 17 proteínas del fago, 15 con una cobertura mayor a 5% y 16 con múltiples péptidos únicos. Ocho correspondieron a proteínas estructurales involucradas en empaquetamiento, lisis o morfogénesis, y nueve a proteínas hipotéticas potencialmente relacionadas con estas funciones. Destaca la ausencia de genes de resistencia a antibióticos o factores de virulencia bacteriana, respaldada por análisis *in silico* con herramientas estándar.

El fago HPy1R demostró notable estabilidad en condiciones ambientales gástricas, manteniendo su viabilidad en un rango de temperatura de -20 °C a 37 °C y en pH alcalinos como 7, 9 y 11, aunque experimentó una reducción significativa en su título a pH ácidos de 3 y 5 y una pérdida total a 60 °C (Casjens y Gilcrease, 2009). En un modelo de digestión estática *in vitro*, el fago mostró estabilidad durante la fase oral, pero su concentración disminuyó significativamente en un tiempo determinado de 1 a 2 horas en la fase gástrica (Minekus et al., 2014). Además, en ensayos de control de *H. pylori*, HPy1R mantuvo la población bacteriana en niveles bajos hasta 24 horas después de la infección, independientemente de la multiplicidad de infección, aunque su eficacia disminuyó después de 6 horas (Sweere et al., 2019). Estos resultados sugieren que, a pesar de su sensibilidad a ambientes gástricos extremos, HPy1R podría ser un candidato prometedor para aplicaciones terapéuticas contra *H. pylori* en condiciones fisiológicas controladas.

Este fago logró lisar el 80% de las 76 cepas clínicas evaluadas, manteniendo un efecto inhibitorio sostenido durante 24 horas, después de la infección (Ferreira 2022). Esta eficacia se atribuye a su mecanismo de acción, donde, existe lisis directa de la bacteria y degradación de la matriz extracelular que compone los biofilms (Lopes et al., 2014). Además, los bacteriófagos presentan ventajas distintivas frente a los antibióticos, como su especificidad, en donde no daña en lo absoluto al microbiota que se encuentra alrededor en el huésped y su capacidad de autorreplicación in situ, lo que reduce en términos de frecuencia de dosis. Desafíos como la inestabilidad del fago en el pH ácido del estómago y la posible selección de cepas bacterianas resistentes a los fagos requieren estrategias complementarias, como la encapsulación en nanopartículas que resistan a este stress (Ferreira et al., 2022).

#### **5.2.8. Fagoterapia utilizando el fago HPy1R**

La integración de la fagoterapia en el manejo clínico de *H. pylori* representa un paradigma innovador, pero su implementación exitosa dependerá de investigaciones traslacionales rigurosas y enfoques multidisciplinarios (Ferreira et al., 2022). El fago HPy1R no solo demostró eficacia lítica in vitro, sino también un perfil de seguridad favorable al no afectar células epiteliales gástricas humanas, línea GES-1, un hallazgo crucial para su aprobación en ensayos clínicos (Ferreira et al., 2022). Sin embargo, la transición desde modelos de laboratorio hasta aplicaciones en humanos exige abordar desafíos como la estandarización de protocolos de producción, incluyendo la purificación de fagos para evitar contaminantes endotóxicos (Lopes et al., 2014). Además, la combinación sinérgica de fagos con antibióticos podría potenciar su efectividad, en donde, por una doble dosis de claritromicina aumentan la susceptibilidad de *H. pylori* a la acción lítica de los fagos al alterar su metabolismo bacteriano (Ferreira et al., 2022). Estrategias de edición genética, como la modificación de fagos para expresar enzimas que destruyan estos biofilms, están siendo exploradas para superar la resistencia bacteriana (Lopes et al., 2014).

Investigaciones recientes lideradas por la Pontificia Universidad Javeriana han revelado que las cepas colombianas de *Helicobacter pylori* presentan un linaje genético distintivo, producto de un

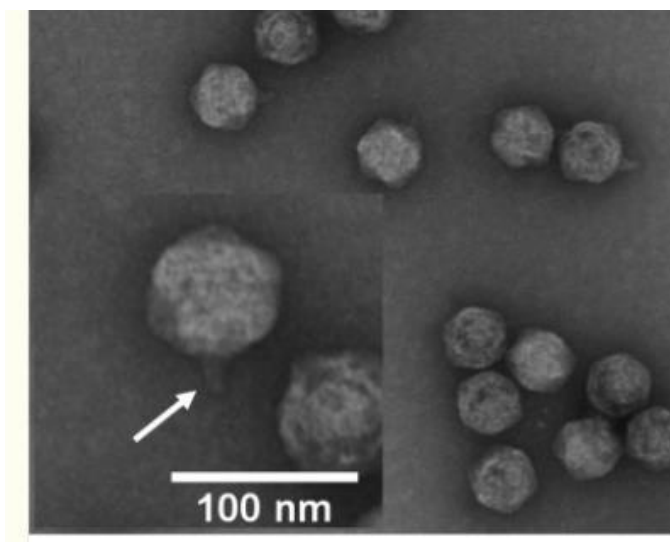
proceso evolutivo influenciado por migraciones históricas (Shiota, 2014). A diferencia de las cepas europeas, asiáticas o africanas, las variantes locales muestran un perfil genómico híbrido, con predominio de componentes europeos, pero adaptados al contexto americano. Este hallazgo, respaldado por análisis genómicos de un banco de cepas recolectadas durante una década, sugiere que los profagos integrados en *H. pylori* han seguido una trayectoria evolutiva independiente, no documentada previamente en el continente (Shiota, 2014). La presencia de estos profagos, que en condiciones normales permanecen latentes, abre la posibilidad de reactivarlos terapéuticamente mediante inductores químicos o ambientales, una estrategia innovadora para combatir infecciones resistentes. La identificación de fagos líticos naturales esenciales para la fagoterapia, sigue siendo un reto, requiriendo muestras de aguas residuales y biopsias para su aislamiento.

#### **5.2.9. Estrategias para el funcionamiento del fago HPy1R en el sistema digestivo**

A pesar del potencial terapéutico de los bacteriófagos contra *H. pylori*, su aplicación clínica enfrenta limitaciones significativas relacionadas con la heterogeneidad bacteriana y las barreras fisiológicas del huésped. El fago HPy1R, aunque efectivo contra cepas planctónicas, mostró una eficacia reducida frente a *H. pylori* encapsulado en biofilms maduros, una estructura común en infecciones crónicas. Esto se debe a que la matriz de polisacáridos y proteínas del biofilm actúa como barrera física, impidiendo la difusión de los fagos hacia las capas bacterianas internas (Ferreira et al., 2022). Para superar este obstáculo, se propone el uso combinado de fagos con moléculas disruptivas de biofilms, como la N-acetilcisteína o enzimas líticas (Ferreira et al., 2022). Además, la alta variabilidad genética de *H. pylori* entre pacientes exige el desarrollo de cócteles de fagos personalizados que abarquen un espectro amplio de cepas, minimizando así el riesgo de resistencia (Minekus et al., 2014). Otro desafío crítico es la administración oral, en donde, el pH gástrico extremo puede inactivar los fagos antes de que alcancen su objetivo. Soluciones experimentales, como la encapsulación en liposomas o la formulación con antiácidos, han mostrado resultados prometedores en modelos animales (Ferreira et al., 2022).

### 5.2.10. Caracterización morfológica del fago 1961P

El fago 1961P se distingue por presentar una cabeza icosaédrica de aproximadamente 71 nm de diámetro y una cola corta de unos 23 nm, características propias de la familia *Podoviridae* (Luo et al., 2012). Esta estructura fue confirmada mediante microscopía electrónica de transmisión, convirtiéndose en el primer fago con esta morfología descrito en *H. pylori*, diferenciándose así de los previamente documentados que pertenecían a la familia *Siphoviridae* (Heintschel et al., 1993). La estabilidad del fago sugiere la presencia de lípidos estructurales en su envoltura, un rasgo poco común en fagos de cola corta (Luo et al., 2012). Su genoma, compuesto por una molécula de ADN bicatenario lineal de 26,836 pares de bases, incluye 33 marcos de lectura abiertos, de los cuales solo nueve codifican proteínas con funciones conocidas, destacando integrasas, reguladores transcripcionales y enzimas implicadas en la replicación y ensamblaje del ADN (Luo et al., 2012). Además, el análisis proteómico identificó al menos seis proteínas estructurales virales mediante espectrometría de masas, siendo ORF17 la más abundante, posiblemente la proteína principal de la cápside (Luo et al., 2012). Esta caracterización exhaustiva no solo amplía el conocimiento sobre la diversidad de fagos que infectan a *H. pylori*, sino que también establece una base sólida para explorar futuras aplicaciones terapéuticas del fago 1961P frente a infecciones resistentes.



**Figura 6. Morfología del fago 1961 P.**

Bacteriófagos 1961P observados en microscopios de transmisión en una escala de 100nm,

donde se puede observar las cabezas icosaédricas. Extraído de (Luo et al., 2012).

#### **5.2.11. Relevancia del fago 1961P frente a *H. pylori* y su potencial terapéutico**

El descubrimiento del fago 1961P representa un avance significativo en la lucha contra *Helicobacter pylori*. Su especificidad de hospedador fue confirmada al mostrar actividad exclusivamente frente a cepas de *H. pylori*, sin afectar a otras bacterias entéricas como *E. coli* o *Pseudomonas aeruginosa* (Luo et al., 2012). Esta especificidad es una ventaja clave, pues reduciría los efectos colaterales en la microbiota comensal. Adicionalmente, el fago 1961P demostró capacidad de integración en el genoma de su hospedador mediante un mecanismo similar al del fago lambda (Campbell, 2006), así como habilidad para realizar transducción generalizada (Luo et al., 2012). Este último aspecto puede ser aprovechado no solo para la lisis bacteriana, sino también como vehículo para la entrega dirigida de genes terapéuticos o vacunas. Sin embargo, al tratarse de un fago temperado, su uso terapéutico directo podría estar limitado por el riesgo de integración genómica en vez de lisis bacteriana. A pesar de esto, su estabilidad, alta especificidad y potencial de manipulación genética abren una vía prometedora hacia la fagoterapia, especialmente en contextos como el cáncer gástrico inducido por *H. pylori*. Con modificaciones genéticas adecuadas para eliminar la fase lisogénica, el fago 1961P podría ser reprogramado como un agente lítico eficaz, posicionándose como una herramienta de gran valor en la medicina de precisión frente a infecciones gástricas asociadas a esta bacteria (Luo et al., 2012). En un estudio logró realizar placas de lisis frente a la cepa HP1961 de *Helicobacter pylori*, por lo que el nombre del fago proviene de la cepa la cual realizó el proceso de infección (véase en anexo C) (Luo et al., 2012).

#### **5.2.12. Caracterización morfológica de los fagos $\phi$ HPE1 y $\phi$ HPE2**

Los fagos  $\phi$ HPE1 y  $\phi$ HPE2 representan dos morfotipos distintos de virus que infectan *Helicobacter pylori*, revelando así la diversidad estructural entre los bacteriófagos de esta especie. Mediante microscopía electrónica de transmisión, el fago  $\phi$ HPE1 fue clasificado en la familia *Podoviridae*, caracterizado por una cápside de forma icosaédrica de aproximadamente 62 nm de diámetro y una cola corta no contráctil de 12 x 6 nm, propia del tipo C en la clasificación de Bradley

(Abdel-Haliem y Askora, 2013). En contraste,  $\phi$ HPE2 pertenece a la familia *Siphoviridae* y presenta una cabeza isométrica de mayor tamaño con una cola larga de unos 180 nm de longitud y 15 nm de ancho (Abdel-Haliem y Askora, 2013). Esta diferencia estructural sugiere una posible divergencia evolutiva y funcional entre ambos fagos. La estabilidad de ambas partículas virales fue comprobada frente a condiciones de pH y temperatura, siendo capaces de conservar su infectividad en ambientes de pH entre 5 y 9, y soportando hasta 65 °C durante una hora, lo que resalta su adaptabilidad al entorno gástrico humano (Abdel-Haliem y Askora, 2013). Esta resistencia estructural es clave si se consideran aplicaciones terapéuticas futuras, pues permitiría su supervivencia en el estómago antes de alcanzar a su diana bacteriana. En conjunto, estos datos proporcionan una base sólida para investigar el potencial uso de  $\phi$ HPE1 y  $\phi$ HPE2 como agentes terapéuticos frente a cepas resistentes de *H. pylori*.

### **5.2.13. Relevancia de $\phi$ HPE1 y $\phi$ HPE2 en la terapia contra *Helicobacter pylori***

Los fagos  $\phi$ HPE1 y  $\phi$ HPE2 presentan una oportunidad prometedora debido a su especificidad de hospedador y su capacidad lítica. Estas entidades fueron capaces de lisar diferentes cepas clínicas de *H. pylori*, con una compatibilidad cruzada en las cepas Zag1 y Zag3, mientras que las otras cepas mostraban sensibilidad diferencial, lo que sugiere una posible complementariedad terapéutica entre ambos virus (Abdel-Haliem y Askora, 2013). Esta especificidad es altamente deseable, ya que permite atacar directamente al patógeno sin afectar al microbiota comensal. Además, su estabilidad térmica y ácido-resistencia potencian su uso como terapia oral, un aspecto fundamental dada la localización gástrica del patógeno (Abdel-Haliem y Askora, 2013). Aunque aún no se han identificado por completo sus genomas ni descartado la presencia de genes de transferencia horizontal, los resultados iniciales respaldan el desarrollo de fagos como una opción viable en casos donde las terapias convencionales fallan. Sin embargo, el uso clínico de estos fagos requerirá estudios adicionales de seguridad, purificación, análisis de ciclo lítico completo y eficacia in vivo. Aun así,  $\phi$ HPE1 y  $\phi$ HPE2 se perfilan como candidatos fuertes en el diseño de cócteles de fagos contra infecciones gástricas resistentes.

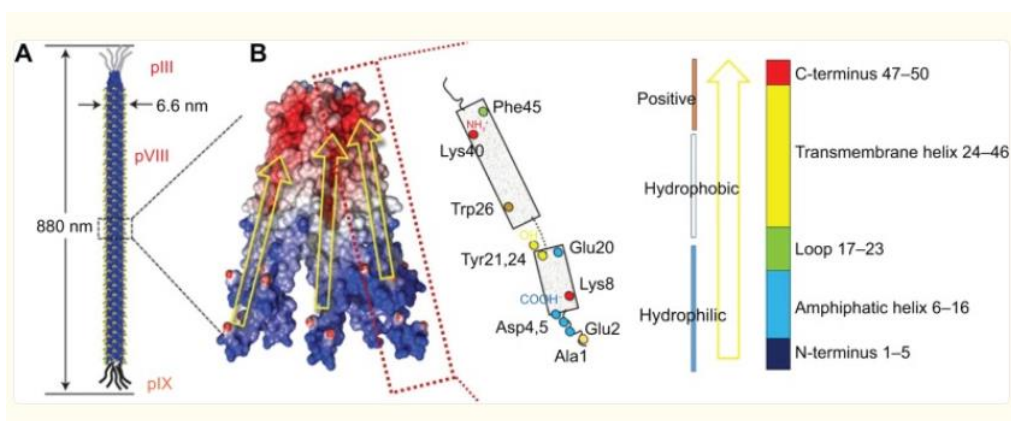
### 5.3. Bacteriófagos M13 y T4 en uso de terapia oncológica

#### 5.3.1. Biología del Fago M13

El fago M13 pertenece al grupo de fagos filamentosos dependientes del pilus F, que incluye también a fagos como F1 y FD. Su infección está restringida a cepas de *E. coli* que expresan el pilus F, estructura esencial para la unión inicial del fago a través de la proteína G3P. Una vez adsorbido, el fago inyecta su genoma de ADN monocatenario de 6407 pb, que es convertido en una forma de doble cadena dentro del huésped (Wang et al., 2023). Este ADN replicativo sirve como molde para la transcripción de nueve genes que codifican 11 proteínas, cinco de las cuales son componentes estructurales de la cápside, mientras que las seis restantes participan en la replicación y ensamblaje del virión.

El bacteriófago M13, perteneciente a la familia *Inoviridae*, posee una estructura filamentososa que tiene la capacidad de ensamblarse y dar estabilidad al virus. Estas características permiten su uso en especial en terapia dirigida fármacos hacia tumores. (Wang et al., 2023).

El fago M13 modifica su mecanismo de anclaje mediante la producción de péptidos, con el objetivo de poder adaptarse y adherirse a las células tumorales. Esta creación de nuevos ligandos permite insertar un péptido que se une a integrinas implicadas en procesos de angiogénesis tumoral, lo que reduce el crecimiento y proliferación en el organismo (Wang et al., 2023). Una de las visiones a futuro es tratar los tumores en el sistema nervioso central pudiendo llegar hasta el cerebro para combatir tumores malignos (Wang et al., 2023).



**Figura 7. Esquematación morfológica y proteica.** (A) Morfología del fago M13. (B). Proteínas que recubren al bacteriófago M13. Extraída de (Lee et al., 2012).

### 5.3.2. Bacteriófago M13 Y *H. pylori*

Un desarrollo relevante en el uso terapéutico del M13 ha sido su aplicación contra *Helicobacter pylori*, una bacteria altamente adaptada al ambiente gástrico. Investigaciones recientes han demostrado que es posible modificar el M13 para que exprese en su superficie fragmentos de anticuerpos (Fabs) con afinidad por antígenos clave de *H. pylori*, tales como la ureasa y las adhesinas BabA, fundamentales para la colonización y supervivencia del patógeno (Cao, 2000; Shen et al., 2023). Mediante técnicas de ingeniería genética, estos fagos recombinantes fueron diseñados para presentar múltiples copias en su cubierta proteica, permitiendo una interacción multivalente con las estructuras de la superficie bacteriana. Esta modificación potencia su capacidad de inhibir la adhesión bacteriana al epitelio gástrico y afecta funciones vitales del microorganismo, impidiendo su crecimiento sin necesidad de inducir lisis directa, como ocurre con los fagos líticos convencionales.

En estudios in vitro, estos fagos modificados mostraron una fuerte actividad bactericida frente a cepas clínicas de *H. pylori*, independientemente de su perfil de resistencia antibiótica (Wang et al., 2023). El análisis mediante microscopía de inmunofluorescencia confirmó su capacidad para unirse a las formas espiraladas y cocoides del patógeno, lo que resulta especialmente relevante dada la persistencia de estas formas en infecciones crónicas. En modelos murinos, la administración oral de los M13 antes del desafío con *H. pylori* redujo significativamente la carga bacteriana en el estómago, evidenciando su potencial como estrategia profiláctica (Cao et al., 2000).

Una de las ventajas clave de este sistema es su capacidad de replicarse de forma no lítica en su hospedador bacteriano, lo cual permite una liberación sostenida de partículas virales y una acción prolongada en el tiempo. Este mecanismo podría ser especialmente útil para mantener una presión terapéutica constante en un entorno como el gástrico, caracterizado por su acidez y complejidad microambiental. Además, los estudios indicaron que los fagos mantenían su afinidad y especificidad

en el contexto del fago, a pesar de las dificultades técnicas asociadas con la expresión de proteínas complejas en sistemas bacterianos (Wang et al., 2023).

Sin embargo, este enfoque también presenta limitaciones. Al no inducir la lisis directa del patógeno, podría requerirse su combinación con otros agentes antimicrobianos para lograr una erradicación completa. Por otro lado, la producción a escala de fagos recombinantes con anticuerpos funcionales implica desafíos técnicos significativos, desde la clonación de genes hasta la purificación del producto final. A esto se suman interrogantes aún no resueltas sobre la inmunogenicidad de los Fabs en el huésped humano y su estabilidad a largo plazo en el ambiente gástrico.

### **5.3.3. El Bacteriófago T4 y *H. pylori***

El bacteriófago T4 posee una estructura compuesta por una cabeza, una cola central y doce fibras caudales. Su composición proteica se basa en proteínas estructurales esenciales como gp20, gp23 y gp24, junto con dos proteínas accesorias denominadas HOC y SOC (Fokine et al., 2011). Estas últimas forman parte de la cápside externa y difieren en tamaño, siendo SOC la de menor tamaño (Fokine et al., 2011). Este fago infecta de manera específica a *Escherichia coli*, en donde, el ADN del fago se introduce en la bacteria mediante un canal constituido por gp20. Por otra parte, la proteína SOC actúa como un escudo protector de la cápside del fago, ayudando a resistir condiciones hostiles como variaciones de pH, altas temperaturas y procesos enzimáticos (Qin et al., 2010).

La capacidad de fusionar proteínas exógenas en los extremos terminales de las proteínas externas de la cápside del fago T4, es de vital importancia para la ingería genética y terapia contra el cáncer (Ren y Black, 1998). La proteína SOC permite la inserción de proteínas en su extremo N-terminal, mientras que HOC lo permite en el extremo C-terminal, facilitando la visualización y exposición de antígenos u otras proteínas de interés en la superficie del fago (Ren y Black, 1998). Tao et al. (2013) sugirió la creación de una vacuna contra *Yersinia pestis*, en la que se utilizó un fago T4 modificado que incorporaba una variante de la proteína F1 fusionada con el antígeno V. Esta vacuna mostró una eficacia notable, proporcionando inmunidad completa en estudios realizados en modelos animales, incluyendo roedores y una especie de primates (Tao et al., 2013). En otro estudio, de un

modelo murino, la vacuna T4-mFlt4 provocó una respuesta humoral específica dirigida contra Flt4, receptor VEGFR-3, inhibiendo la formación de vasos linfáticos en el microambiente tumoral, lo cual fue confirmado mediante inmunohistoquímica para Flt4 y CD105 (Ren et al., 2009). Esta acción inhibidora de la linfangiogénesis se tradujo en una reducción del peso pulmonar después de la metástasis en los ratones tratados, posicionando a esta tecnología como una prometedora herramienta para reducir la diseminación de células tumorales basada en inmunización activa contra autoantígenos del tumor (Ren et al., 2009).

Además de su potencial para la fabricación de vacunas, el bacteriófago T4 ha demostrado ser útil en contextos terapéuticos relacionados a tratamientos oncológicos. Estudios recientes han demostrado que líneas celulares tumorales, como las células PC-3, exhiben una reducción significativa en su capacidad migratoria tras la exposición a fagos T4. Este fenómeno se asocia con una sobreexpresión de genes relacionados con integrinas y alteraciones en las vías de señalización celular, lo que sugiere que estos fagos no solo sirven como vehículos para vacunas, sino también como herramientas potenciales para interferir en la progresión tumoral y facilitar la entrega dirigida de fármacos (Sanmukh et al., 2021).

En un estudio de Zuo et al. (2019), se desarrollaron fagos T4 modificados genéticamente para exponer en su cápside el dominio extracelular de VEGFR2, con el fin de interferir en la vía de señalización de este dominio. A nivel bioquímico, estos fagos se ligan de manera específica al factor de crecimiento endotelial vascular, bloqueando así la fosforilación de VEGFR2 y la activación posterior de quinasas como ERK y p38 MAPK (Zuo et al., 2019). En cultivos de células endoteliales, se reveló que la presencia del fago T4-VEGFR2 reduce de forma significativa la tasa de proliferación de nuevos sanguíneos, en donde ya existen, y la capacidad migratoria inducidas por VEGFR2 (Zuo et al., 2019).

Desde una perspectiva clínica, emplear fagos T4 GF podría representar una estrategia complementaria o incluso alternativa a los actuales tratamientos antiangiogénicos, como los anticuerpos monoclonales o los inhibidores de tirosina-quinasa (Ooi y Yeh, 2024). A diferencia de estos fármacos, los fagos pueden producirse a gran escala con costos reducidos, muestran una mayor

resistencia a condiciones adversas de temperatura y pH, y carecen de tropismo por células eucariotas, lo que atenúa riesgos de citotoxicidad directa. Sin embargo, para avanzar hacia su uso en pacientes, es esencial definir las rutas de administración más eficaces, determinar la dosificación óptima y valorar la posible generación de respuestas inmunitarias contra los fagos. Además, será necesario validar su efectividad y seguridad en ensayos clínicos controlados antes de incorporarlos a la práctica oncológica (Ooi y Yeh, 2024).

#### **5.3.4. Relaciones terapéuticas del fago T4 y *H. pylori***

El bacteriófago T4 ofrece un modelo innovador que podría extenderse al tratamiento de infecciones relacionadas con el cáncer gástrico, como las causadas por *Helicobacter pylori*. Esta bacteria, reconocida como un agente etiológico del cáncer gástrico, induce inflamación crónica y daño genético que facilitan la carcinogénesis (Costa et al., 1999). La especificidad y robustez del fago T4, combinadas con su habilidad para presentar antígenos y bloquear señales como las del receptor VEGFR2 en tumores sólidos, sugieren que una ingeniería similar podría diseñarse para dirigirse a moléculas clave en *H. pylori*, neutralizando su capacidad patogénica. Esta aproximación fagoterapéutica podría superar limitaciones actuales de los tratamientos antibióticos, como la resistencia bacteriana y el daño al microbiota saludable. Además, la estabilidad química y la baja toxicidad de los fagos T4 constituyen ventajas relevantes para su desarrollo clínico. Sin embargo, la complejidad del microambiente gástrico y la diversidad genética de *H. pylori* representan desafíos significativos que requieren estudios exhaustivos para validar la eficacia y seguridad de fagos modificados. Además, la experiencia con fagos T4 en oncología molecular abre una puerta prometedora para la creación de terapias dirigidas contra infecciones bacterianas que contribuyen al cáncer gástrico.

#### **5.3.5. Desafíos y potencial de la nanomedicina basada en fagos**

La integración de los fagos en la nanomedicina ofrece una vía prometedora hacia terapias oncológicas personalizadas. Sin embargo, persisten retos importantes que deben abordarse para que estas plataformas puedan consolidarse clínicamente. Uno de los principales desafíos es la interacción

de los fagos con el sistema inmunológico, ya que su presencia en el torrente sanguíneo puede provocar su eliminación prematura por proteínas o por órganos de filtración como el hígado y los riñones (Abedon, 2019). Además, ciertos órganos como el cerebro o el páncreas presentan barreras anatómicas que dificultan el acceso de los fagos, y el entorno fibroso de los tumores sólidos limita aún más su penetración efectiva.

Otro aspecto crítico es la producción y purificación de fagos, que resulta más compleja en comparación con la fabricación de fármacos tradicionales debido a su estructura biológica sofisticada. Existe además la posibilidad de que los fagos evolucionen rápidamente, lo cual, si bien es una ventaja en términos de adaptación, también representa un obstáculo para la estandarización terapéutica (Abedon, 2019). La contaminación con endotoxinas durante el cultivo bacteriano es otro riesgo relevante, ya que incluso pequeñas cantidades pueden desencadenar respuestas inflamatorias severas. Métodos como el uso de Tritón X-114 han demostrado ser eficaces en la eliminación de endotoxinas en formulaciones basadas en fagos M13 (Chang et al., 2023).

La aprobación regulatoria de estos tratamientos requiere aún un número considerable de estudios clínicos rigurosos que evalúen su seguridad, eficacia y viabilidad a largo plazo. Aunque los desafíos técnicos y regulatorios son significativos, los avances en biotecnología y el enfoque en terapias combinadas sugieren que los fagos jugarán un papel cada vez más importante en el tratamiento del cáncer en los próximos años.

#### **5.4. Aislamiento de Bacteriófagos**

##### **5.4.1. Aislamiento y caracterización de bacteriófagos contra *Helicobacter pylori***

El aislamiento de bacteriófagos desde matrices ambientales, como aguas residuales, suelo o cuerpos acuáticos naturales, es una práctica fundamental en la investigación y aplicación clínica de la fagoterapia. Uno de los métodos más utilizados es el enriquecimiento, en el cual se mezcla una muestra ambiental con un cultivo fresco de la bacteria hospedadora en medio nutritivo, promoviendo la amplificación de fagos específicos si están presentes (Hyman y Abedon, 2010). Tras un periodo de incubación, generalmente de 12 a 24 horas a 37 °C, se procede a la eliminación de

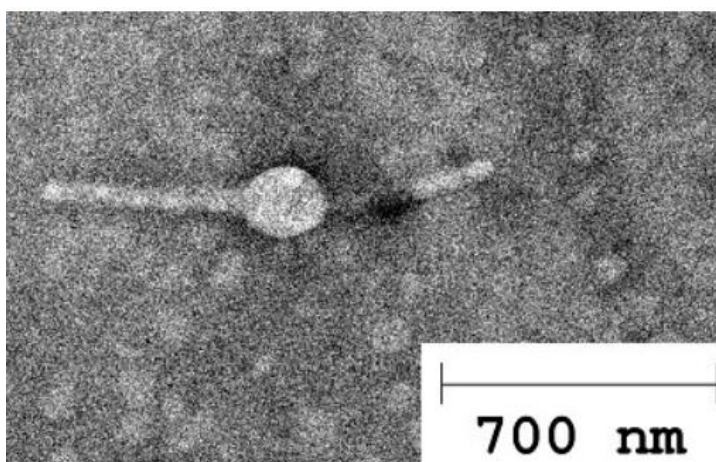
bacterias mediante centrifugación, filtración y el sobrenadante es evaluado en placas de agar blando mediante el ensayo de doble capa, donde la aparición de placas de lisis indica la presencia de fagos activos (Véase en el anexo B) (Hyman y Abedon, 2010). Este enfoque permite la detección y purificación de fagos específicos tras varios subcultivos. Sin embargo, es importante señalar que este procedimiento puede sesgar los resultados hacia fagos líticos de rápida replicación, mientras que fagos más lentos o templados podrían pasar desapercibidos (Keen, 2012). Además, la elección adecuada de la cepa hospedadora es crítica, ya que los fagos son altamente específicos, y un aislamiento exitoso depende directamente de la compatibilidad entre el virus y la bacteria.

#### **5.4.2. Aislamiento de bacteriófagos líticos contra *Helicobacter pylori***

El aislamiento de bacteriófagos líticos específicos para *Helicobacter pylori* a partir de muestras fecales y agua residual representa un desafío metodológico debido a las condiciones fisicoquímicas y la baja prevalencia de fagos viables en estos entornos. El proceso de aislamiento de un bacteriófago lítico empieza con la recolección de muestras de aguas residuales, un entorno naturalmente rico en bacterias y sus virus correspondientes. Estas muestras se enriquecieron con una cepa clínica de *H. pylori*, permitiendo que los posibles fagos presentes encontraran y atacaran su blanco específico. Tras un periodo de incubación en condiciones microaerófilas adecuadas para el crecimiento de *H. pylori*, las mezclas se sometieron a centrifugación y filtración para eliminar residuos celulares y bacterias viables, conservando únicamente las partículas virales (Khosravi et al., 2021). Para confirmar la presencia de fagos activos, se utilizó el método de doble capa de agar, en donde, la aparición de halos de lisis indicó que al menos un fago era capaz de destruir la cepa hospedadora (Kropinski et al., 2009). Este paso permitió seleccionar un único fago con actividad lítica clara, que fue purificado mediante varias rondas de resiembra para asegurar su estabilidad y especificidad. La observación bajo microscopía electrónica reveló una morfología compatible con la familia *Siphoviridae*, destacando por su cola larga y no contráctil, características que orientan hacia su mecanismo de acción y su clasificación taxonómica preliminar (Khosravi et al., 2021).

Para la cuantificación del material genético del fago mediante espectrofotometría, se sigue un

protocolo de lisis y purificación estandarizado. La secuenciación se llevó a cabo empleando la plataforma Illumina, lo que generó lecturas de alta calidad que fueron ensambladas para obtener un genoma completo de aproximadamente 32 kilobases (Khosravi et al., 2021). Se identificaron 36 ORFs utilizando herramientas bioinformáticas, lo que permitió asignar funciones tentativas a genes estructurales como los de la cápside y la cola, así como a enzimas clave en la replicación y lisis celular, incluyendo endolisinas y holinas (Khosravi et al., 2021).



**Figura 8. Visualización de un fago de *H. pylori* con un tamaño de 700 nm.** Fago visualizado por medio de un microscopio electrónico de transmisión. Extraído de (Aznar, 2014).

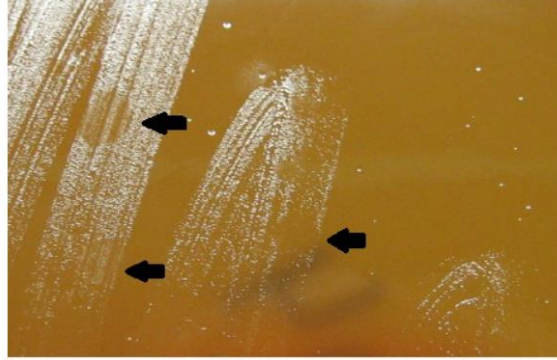
#### **5.4.3. Estudios realizados sobre el aislamiento de bacteriófagos contra *Helicobacter pylori***

El aislamiento de bacteriófagos específicos representa un proceso elaborado y demandante en términos de tiempo, debido a la especificidad que poseen y la supervivencia de estos en el entorno. Las evidencias actuales sobre aislamientos han sido para algunos estudios de gran éxito; sin embargo, existen intentos de aislamiento de fagos donde no se han podido recuperar fagos, debido a su complejidad.

En el estudio de Acosta (2021), se recolectaron muestras fecales de pacientes infectados con *H. pylori* y muestras de agua residual de fuentes como el río Bogotá y el río Arzobispo. En el

proceso, las muestras fecales se homogenizaron, centrifugaron y filtraron para eliminar residuos sólidos y separar las bacterias de las partículas virales; mientras que, las muestras de agua se sometieron a centrifugación antes de la filtración. Los filtrados obtenidos se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  con glicerol al 10% para preservar la viabilidad de los fagos (Acosta, 2021). Para la detección de actividad lítica, se emplearon métodos microbiológicos como *spot* en capa simple y doble capa, utilizando cepas de *H. pylori* en fase exponencial cultivadas en caldo Brucella suplementado (Acosta, 2021). Aunque se observaron zonas de inhibición en algunas muestras de agua, no se logró el aislamiento estable de fagos, lo que sugiere limitaciones en las condiciones de cultivo o la concentración viral en las muestras (Acosta, 2021).

En otro estudio, se identificó el aislamiento de un fago lisogénico con la inducción de mitomicina C, utilizando una cepa de *H. pylori* HP146128, cultivada inicialmente en medio BHI suplementado con suero fetal bovino y extracto de levadura (Aznar, 2014). El cultivo de la especie bacteriana presentó complicaciones con relación a la concentración, debido a las frecuentes contaminaciones y la tendencia de que *H. pylori* pueda agregarse o transformarse en formas cocoides no viables (Aznar, 2014). Se utilizó sistema automatizado Bactec 9050, que permitió un cultivo más eficiente y menos propenso a errores humanos, en donde se podía observar curvas de crecimiento, en donde, al agregar la mitomicina C a la cepa HP146128, se inducía un retraso en el inicio de la fase exponencial, lo que sugería una respuesta fagogénica latente. Para verificar la inducción, se filtró el cultivo y se realizó un spot test sobre una cepa receptora, observándose inhibición del crecimiento, lo que confirmó la liberación de partículas fágicas tras el tratamiento con mitomicina C. Este protocolo del manejo riguroso del medio y de los tiempos de incubación, sienta las bases para la recuperación de fagos de cepas lisogénicas de *H. pylori*.



**Figura 9. Placas de inhibición de crecimiento inducido por mitomicina y fagos.** Visualización de placas de lisis por fagos que infectan a *H. pilory*. Formación de halos en las colonias. Extraído de (Aznar, 2014).

## 6. CONCLUSIONES

El uso de bacteriófagos como alternativa terapéutica frente al cáncer digestivo asociado a *Helicobacter pylori* se perfila como una estrategia innovadora con un alto potencial clínico, especialmente en territorios en desarrollo como Latinoamérica, donde la prevalencia de cáncer digestivo es preocupante. La creciente resistencia de *H. pylori* a los antibióticos convencionales y los costos asociados a los tratamientos actuales han incentivado la investigación de soluciones biotecnológicas más específicas, eficaces y sostenibles.

Los estudios revisados evidencian que fagos como HPy1R, φHPE1, φHPE2, M13 y T4 poseen capacidad lítica comprobada contra *H. pylori*, así como estabilidad bajo condiciones fisiológicas realizadas en experimentaciones. Además, se ha demostrado que estos virus pueden ser modificados genéticamente para actuar como vectores terapéuticos, transportando moléculas químicas, tales como anticuerpos o fármacos, dirigidos a células blanco. En particular, el fago M13 ha sido empleado en estrategias de terapia directa; mientras que, el fago T4 ha mostrado un potencial inmunomodulador que podría contribuir a la activación de respuestas antitumorales. Estas capacidades abren nuevas posibilidades hacia tratamientos más dirigidos, con menor impacto sobre el microbiota interna de los seres humanos y menos efectos adversos que las terapias tradicionales.

Sin embargo, la aplicación de la fagoterapia enfrenta barreras significativas en la actualidad. Entre los principales desafíos destacan la limitada estabilidad de los fagos frente al ambiente ácido gástrico, la potencial emergencia de cepas bacterianas resistentes, y la ausencia de normas estandarizadas para su producción, formulación y administración. De la misma manera, se requiere evidencia clínica sólida que respalde su eficacia y seguridad en humanos, así como el desarrollo de tecnologías complementarias, como sistemas de liberación controlada mediante nanopartículas o su combinación con antibióticos que optimicen la reducción de efectos producidos por *H. pylori*.

## 7. RECOMENDACIONES

Es fundamental promover la investigación enfocada en el aislamiento, modificación y caracterización de bacteriófagos con alta especificidad frente a *Helicobacter pylori*, priorizando aquellos con capacidad lítica y estabilidad en el entorno ácido del estómago. Para avanzar en su uso terapéutico, se deben impulsar ensayos clínicos controlados que evalúen su eficacia y perfil de seguridad. De la misma manera, el desarrollo de tecnologías complementarias, como sistemas de encapsulación, nanopartículas o el uso de cocteles de fagos, que optimicen su biodisponibilidad y protejan su acción en condiciones gástricas adversas.

Es esencial fomentar políticas públicas e inversiones en biotecnología que faciliten el acceso a terapias alternativas, así como fortalecer programas de diagnóstico temprano y prevención de infecciones, con un enfoque en mejorar las condiciones de higiene y el conocimiento sobre *H. pylori* en la población general. Por último, se debe innovar en los métodos para identificar y obtener fagos específicos con mayor eficiencia, ya que esta etapa representa un punto crítico en el desarrollo de terapias fágicas efectivas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Halim, M. E. F., y Askora, A. (2013). Isolation and characterization of bacteriophages of *Helicobacter pylori* isolated from Egypt. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1-8.
- Abedon, S. (2019). Phage therapy: Various perspectives on how to improve the art. *Methods in Molecular Biology*, 1898, 1-18.
- Aroca, J. y Vélez, Z. (2021). Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes asintomáticos en Ecuador.
- Aznar, E. (2014). Estudio de fagos de " *Helicobacter pylori*" por métodos fenotípicos y genotípicos (Disertación de tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid Facultad de Medicina, Madrid, España).
- Baldeón-Rojas, L., Bustos-Fraga, S., de Oliveira, R. B., Salinas-Pinta, M. y Vicuña-Almeida, Y. (2023). Prevalence of *Helicobacter pylori* genotypes: cagA, vacA (m1), vacA (s1), babA2, dupA, iceA1, oipA and their association with gastrointestinal diseases. A cross-sectional study in Quito-Ecuador. *BMC Gastroenterology*, 23(1), 197. <https://doi.org/10.1186/s12876-023-02838-9>
- Batista Gutierrez, L., Díaz-Barcelay, S., Fernández, V., Josefina, S., Teresa, M. y Torres, F. (2020). Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en adultos mayores y alteraciones gastrointestinales. *Hig Sanid Ambient*, (4), 1923-1929.
- Bereswill, S., U. Waidner, S. Odenbreit, F. Lichte, F. Fassbinder, G. Bode, y M. Kist. (1998). «Structural, functional and mutational analysis of the pfr gene encoding a ferritin from *Helicobacter pylori*». *Microbiology (Reading, England)* 144 (Pt 9), 2505-2516.
- Bode, G., Mauch, F. y Malfertheiner, P. (1993). The coccoid forms of *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability. *Epidemiology and Infection*, 111(3), 483-490. <https://doi.org/10.1017/s0950268800057216>
- Boffill, A., Losada, J., Rodríguez, J., Rodríguez, L. y Socías, Z. (2019). Factores de riesgo asociados a la gastritis aguda o crónica en adultos de un hospital ecuatoriano. *MEDISAN*, 23(3), 424-437.
- Boscán, A., Castro, T. e Icaza, J. (2020). *Helicobacter Pylori*, esquemas de tratamiento y su efectividad en

la actualidad. *Reciamuc*, 4(4), 113-124.

Bustamante, Z. (2014). Generación de bacteriófagos antitumorales específicos del antígeno carcinoembrionario (CEA) para el desarrollo de una inmunoterapia contra cánceres del aparato digestivo.

Bullman, S., Pedamallu, C. S., Sicinska, E., Clancy, T. E., Zhang, X., Cai, D., Neuberger, D., Huang, K., Guevara, F., Nelson, T., Chipashvili, O., Hagan, T., Walker, M., Ramachandran, A., Diosdado, B., Serna, G., Mulet, N., Landolfi, S., Ramon Y Cajal, S., Fasani, R. y Meyerson, M. (2017). Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic response in colorectal cancer. *Science (New York, N.Y.)*, 358(6369), 1443–1448. <https://doi.org/10.1126/science.aal5240>

Campbell A. (2006). General aspects of lysogeny, p. 66–73. In Calendar R, Abedon ST (eds), *The bacteriophage*, 2nd ed. Oxford University Press, New York, NY.

Canchaya, C., Fournous, G., Chibani-Chennoufi, S., Dillmann, M. L. y Brüssow, H. (2003). Phage as agents of lateral gene transfer. *Current opinion in microbiology*, 6(4), 417–424. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(03\)00086-9](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(03)00086-9)

Casjens, S. R. y Gilcrease, E. B. (2009). Determining DNA packaging strategy by analysis of the termini of the chromosomes in tailed-bacteriophage virions. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 502, p. 91). Humana. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-565-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-565-1_7)

Castro, G., Félix, S., Pico, T. y Saavedra, A. (2019). Comportamiento de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes pediátricos detectados mediante prueba de aliento con urea-c13. *RECIMUNDO*, 3(2), 785-800. <https://doi.org/10.26820/recimundo/3>

Checa, F. y Ruales, J. (2018). La atención del cáncer en el Ecuador: pasado, presente y futuro. *Rev. Fac.Cienc. Méd. (Quito)*, 45-59.

Chang, C., Guo, W., Yu, X., Guo, C., Zhou, N., Guo, X., Huang, R.-L., Li, Q., & Zhu, Y. (2023). Engineered M13 phage as a novel therapeutic bionanomaterial for clinical applications: From tissue regeneration to cancer therapy. *Materials Today Bio*, 20, 100612. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100612>

- Cisek, A. A., Dąbrowska, I., Gregorczyk, K. P. y Wyżewski, Z. (2017). Phage therapy in bacterial infections treatment: One hundred years after the discovery of bacteriophages. *Current Microbiology*, 74(2), 277–283.
- Costa, K., G. Bacher, G. Allmaier, M. G. Dominguez-Bello, L. Engstrand, P. Falk, M. A. de Pedro, y F. García-del Portillo. (1999). The morphological transition of *Helicobacter pylori* cells from spiral to coccoid is preceded by a substantial modification of the cell wall. *Journal of Bacteriology*, 181(12), 3710–3715.
- Cuomo, P., Papaiani, M., Fulgione, A., Guerra, F., Capparelli, R. y Medaglia, C. (2020). An Innovative Approach to Control *H. pylori*-Induced Persistent Inflammation and Colonization. *Microorganisms*, 8(8), 1214. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081214>
- Doore, S. y Fane, B. (2016). The microviruses: Diversity, assembly, and experimental evolution. *Virology*, 491, 45–55.
- Encina, G. (2022). Avances en terapia génica en humanos: algunos conceptos básicos y un recorrido histórico. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 33(2), 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2022.03.001>
- Enroth, H., Wreiber, K., Rigo, R., Risberg, D., Uribe, A., y Engstrand, L. (1999). In vitro aging of *Helicobacter pylori*: changes in morphology, intracellular composition and surface properties. *Helicobacter*, 4(1), 7–16. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5378.1999.09034.x>
- Fan, J., Islam, M. y Pan, F. (2023). The power of phages: revolutionizing cancer treatment. *Frontiers in Oncology*, 13, 1290296.
- Ferreira, R. M. y Gomes, J. P. (2017). Genomic structure and insertion sites of *Helicobacter pylori* prophages from various geographical origins. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep42471>
- Ferreccio, C., Gederlini, A., Harris, P. R., Margozzini, P., Rollán, A., & Serrano, C. (2007). Gastric cancer is related to early *Helicobacter pylori* infection in a high-prevalence country. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16(4), 662-667. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0514>

- Fiallos R., San Lucas S., Valdiviezo L. y Vasco A. (2024). Patogenicidad y prevalencia de *Helicobacter pylori* en Ecuador. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 43. <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3556>
- Fischetti, V. A. (2018). Development of phage lysins as novel therapeutics: A historical perspective. *Viruses*, 10(6), 31.
- Fokine, A., Islam, M. Z., Zhang, Z., Bowman, V. D., Rao, V. B., & Rossmann, M. G. (2011). Structure of the three N-terminal immunoglobulin-like domains of the highly immunogenic outer capsid protein of a T4-like bacteriophage. *Journal of Virology*, 85(16), 8141–8148.
- Gisbert, J. P., Alcedo, J., Amador, J., Bujanda, L., Calvet, X., Castro-Fernández, M., Fernández-Salazar, L., Gené, E., Lanás, Á., Lucendo, A. J., Molina-Infante, J., Nyssen, O. P., Pérez-Aisa, A., & Puig, I. (2022). V Conferencia Española de Consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterología y Hepatología*, 45(5), 392–417. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.07.011>
- Gu, X., Liu, Y., Xuan, M. (2024). Microorganismos intratumorales en tumores del sistema digestivo. *Cell Communication and Signaling*, 22(69). <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01425-5>
- Guendulain, C., Tamiozzo, P., González, G., & Caffaratti, M. (2023). Detección de especies de *Helicobacter* en humanos y sus perros. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 80(3), 175–187. <https://doi.org/10.31053/1853.0605.v80.n3.36769>
- Hatfull, G. y Hendrix, R. (2011). Bacteriófagos y sus genomas. *Current Opinion in Virology*, 1(4), 298-303.
- Haque, M., et al. (1996). Lipid profile of *Helicobacter* spp.: presence of cholesteryl glucoside as a characteristic feature. *Journal of Bacteriology*, 178(7), 2065-2070.
- He, Z., et al. (2022). Recent advances in bacteriophage-based therapeutics. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12(12), 4348–4364. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.05.007>
- Heintschel von Heinegg, E., et al. (1993). Characterisation of a *Helicobacter pylori* phage (HP1). *Journal of Medical Microbiology*, 38(4), 245–249.
- Hooi JKY, et al. (2017). Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection. *Gastroenterology*, 153(2), 420–

9.

Hyman, P. y Abedon, S. (2010). Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 70, 217-248.

Instituto Nacional del Cáncer. (2023). *Helicobacter pylori* y el cáncer. Recuperado el 2 de Julio del 2025 de <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/hoja-informativa-h-pylori>

Jones, D. M., Curry, A. y Fox, A. J. (1985). An ultrastructural study of the gastric campylobacter-like organism *Campylobacter pyloridis*. *Journal of general microbiology*, 131(9), 2335–2341. <https://doi.org/10.1099/00221287-131-9-2335>

Keen, E. (2012). Phage therapy: concept to cure. *Front. Microbiol*, 3, 238. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00238>

Kropinski, A. M., Mazzocco, A., Waddell, T. E., Lingohr, E. y Johnson, R. P. (2009). Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 501, 69–76. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_7)

Kyrillos, A., et al. (2016). The presence of phage orthologous genes in *Helicobacter pylori* correlates with virulence factors. *Helicobacter*, 21(3), 226-233.

Kusters, J. G., Gerrits, M. M., Van Strijp, J. A. y Vandenbroucke-Grauls, C. M. (1997). Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infection and immunity*, 65(9), 3672–3679. <https://doi.org/10.1128/iai.65.9.3672-3679.1997>

Lehours, P., Vale, F. F., Bjursell, M. K., Melefors, O., Advani, R., Glavas, S., Guegueniat, J., Gontier, E., Lacomme, S., Alves Matos, A., Menard, A., Mégraud, F., Engstrand, L. y Andersson, A. F. (2011). Genome sequencing reveals a phage in *Helicobacter pylori*. *mBio*, 2(6), e00239-11. <https://doi.org/10.1128/mBio.00239-11>

Li, Y., Shen, Y., Wang, J., Yang, C.-T., & Zhou, X. (2023). Modified bacteriophage for tumor detection and targeted therapy. *Nanomaterials*, 13(4), 665. <https://doi.org/10.3390/nano13040665>

Lee, B. Y., Zhang, J., Zueger, C., Yoo, S. Y., Wang, E., Meyer, J., ... & Belcher, A. M. (2012). Generación de

energía piezoeléctrica basada en virus. *Nature Nanotechnology*, 7(6), 351–356.

Lopes, D., Nunes, C., Martins, M. C. L., Sarmiento, B. y Reis, S. (2014). Erradicación de *Helicobacter pylori*:

Pasado, presente y futuro. *Journal of Controlled Release*, 189, 169–186.

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.06.020>

Luo, C. H., Chiou, P. Y., Yang, C. Y. y Lin, N. T. (2012). Genome, integration, and transduction of a novel

temperate phage of *Helicobacter pylori*. *Journal of Virology*, 86(16), 8781–8792.

<https://doi.org/10.1128/JVI.00446-12>

McGowan, C. C., Necheva, A., Thompson, S. A., Cover, T. L. y Blaser, M. J. (1998). Acid-induced expression

of an LPS-associated gene in *Helicobacter pylori*. *Molecular microbiology*, 30(1), 19–31.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.t01-1-01079.x>

Marques, S. (2011). Pesquisa de bacteriófagos de *Helicobacter pylori* (Disertación de tesis doctoral,

Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal).

Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourliou, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig,

M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S.,

Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S y Brodkorb, A. (2014). A standardised static

in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food & function*, 5(6),

1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>

Mohammad Hasani, S., et al. (2023). Phage based vaccine: A novel strategy in prevention and treatment.

*Heliyon*, 9(9), e19925. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19925>

Muñoz, A., Stepanian, J., Trespalacios, A. y Vale, F. (2020). Bacteriophages of *Helicobacter pylori*. *Frontiers*

*in Microbiology*, 11, 549084. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.549084>

Monteiro, M. A., Chan, K. H., Rasko, D. A., Taylor, D. E., Zheng, P. Y., Appelmelk, B. J., Wirth, H. P., Yang,

M., Blaser, M. J., Hynes, S. O., Moran, A. P. y Perry, M. B. (1998). Simultaneous expression of

type 1 and type 2 Lewis blood group antigens by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides.

Molecular mimicry between h. pylori lipopolysaccharides and human gastric epithelial cell

surface glycoforms. *The Journal of biological chemistry*, 273(19), 11533–11543.

<https://doi.org/10.1074/jbc.273.19.11533>

Ooi, V. Y. y Yeh, T.-Y. (2024). Recent Advances and Mechanisms of Phage-Based Therapies in Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 9938.

<https://doi.org/10.3390/ijms25189938>

Organización Mundial de la Salud. (3 de febrero del 2022). Cáncer. Recuperado el 4 de Julio del 2025 de

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

Otero, W., Gómez, M., Otero, L. y Trespalacios A. (2024). *Helicobacter pylori*: ¿cómo se trata cómo se trata en el 2018? *Rev. gastroenterol.* 38(1): 54-63.

Overby, A., Murayama, S. Y., Michimae, H., Suzuki, H., Suzuki, M., Serizawa, H., Tamura, R., Nakamura, S., Takahashi, S., & Nakamura, M. (2017). Prevalence of Gastric Non-*Helicobacter pylori*-Helicobacters in Japanese Patients with Gastric Disease. *Digestion*, 95(1), 61–66.

<https://doi.org/10.1159/000452400>

Percival S.L. y Thomas J.G. (2009). Transmission of *Helicobacter pylori* and the role of water and biofilms. *J Water Health*, 7(3):469-77.

Qin, L., Fokine, A., O'Donnell, E., Rao, V. B. y Rossmann, M. G. (2010). Structure of the small outer capsid protein, Soc: a clamp for stabilizing capsids of T4-like phages. *Journal of molecular biology*, 395(4), 728–741. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.10.007>

Ragothaman, M. y Yoo, S. Y. (2023). Engineered Phage-Based Cancer Vaccines: Current Advances and Future Directions. *Vaccines*, 11(5), 919. <https://doi.org/10.3390/vaccines11050919>

Ren, Z. y Black, L. (1998). T4 phage SOC and HOC display of biologically active, full-length proteins on the viral capsid. *Gene*, 215(2), 439–444.

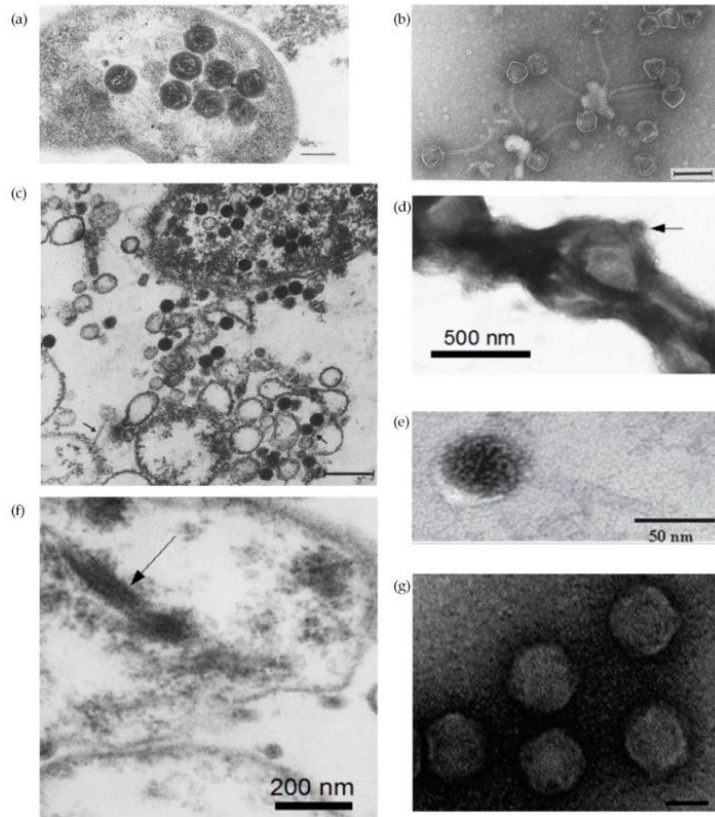
Sanmukh, S. G., Santos, N. J., Barquilha, C. N., Dos Santos, S. A. A., Duran, B. O. S., Delella, F. K., Moroz, A., Justulin, L. A., Carvalho, H. F. y Felisbino, S. L. (2021). Exposure to Bacteriophages T4 and M13 Increases Integrin Gene Expression and Impairs Migration of Human PC-3 Prostate Cancer Cells. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(10), 1202.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics10101202>

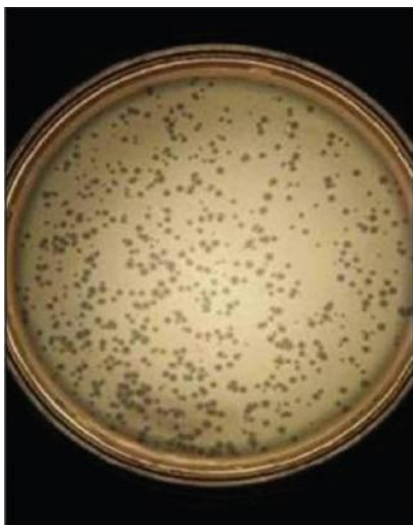
- Shahamat, M., Mai, U. E., Paszko-Kolva, C., Yamamoto, H. y Colwell, R. R. (1991). Evaluation of liquid media for growth of *Helicobacter pylori*. *Journal of clinical microbiology*, 29(12), 2835–2837. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.12.2835-2837.1991>
- Sharma, S., et al. (2017). Bacteriophages and its applications: An overview. *Folia Microbiologica*, 62(1), 17–55.
- Shiota, S., Suzuki, R., Matsuo, Y., Miftahussurur, M., Tran, T. T., Binh, T. T. y Yamaoka, Y. (2014). *Helicobacter pylori* from gastric cancer and duodenal ulcer show same phylogeographic origin in the Andean region in Colombia. *PLoS one*, 9(8), e105392.
- Shen, Y., Wang, J., Li, Y., Yang, C.-T. y Zhou, X. (2023). Modified Bacteriophage for Tumor Detection and Targeted Therapy. *Nanomaterials*, 13(4), 665. <https://doi.org/10.3390/nano13040665>
- Simmonds, P. y Aiewsakun, P. (2018). Virus classification: Where do you draw the line? *Archives of Virology*, 163(8), 2037–2046.
- Sociedad Ecuatoriana de Oncología. (2023). Cáncer de Colon. <https://seo.com.ec/wp-content/uploads/guias-2021-2023/9guia-cancer-colon-2023.pdf>
- Sweere, J. M., Van Belleghem, J. D., Ishak, H., Bach, M. S., Popescu, M., Sunkari, V. y Bollyky, P. L. (2019). Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science*, 363(6434), eaat9691. <https://doi.org/10.1126/science.aat9691>
- Tao, P., Mahalingam, M., Kirtley, M. L., van Lier, C. J., Sha, J., Yeager, L. A. y Rao, V. B. (2013). Mutated and bacteriophage T4 nanoparticle arrayed *Yersinia pestis* F1-V immunogens as next-generation plague vaccines. *PLoS Pathogens*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003495>
- Townsend, E. M., Kelly, L., Muscatt, G., Box, J. D., Hargraves, N., Lilley, D. y Jameson, E. (2021). The human gut phageome: origins and roles in the human gut microbiome. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 643214. Vale, F. F., Nunes, A., Oleastro, M., Mendes, C. I., Domingues, M., Uchiyama, J., Takeuchi, H., Kato, S., Gamoh, K., Takemura-Uchiyama, I., Ujihara, T., Daibata, M., Matsuzaki, S. (2013). Characterization of *Helicobacter pylori* bacteriophage KHP30. *Applied and environmental microbiology*, 79(10), 3176–3184. <https://doi.org/10.1128/AEM.03530-12>

- Vale, F. F., y Lehours, P. (2018). Relating phage genomes to *H. pylori* population structure. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1831.
- Vale, F. F., Nunes, A., Oleastro, M., Gomes, J. P., Sampaio, D. A., Rocha, R. y Lehours, P. (2017). Genomic structure and insertion sites of *Helicobacter pylori* prophages from various geographical origins. *Scientific reports*, 7(1), 42471.
- Zamani, M., et al. (2018). Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 47(7), 868–876.  
<https://doi.org/10.1111/apt.14561>
- Zuo, S., Dai, G., Wang, L., Wen, Y., Huang, Z., Yang, W., Ma, W. y Ren, X. (2019). Suppression of angiogenesis and tumor growth by recombinant T4 phages displaying extracellular domain of vascular endothelial growth factor receptor 2. *Archives of virology*, 164(1), 69–82.  
<https://doi.org/10.1007/s00705-018-4026-0>

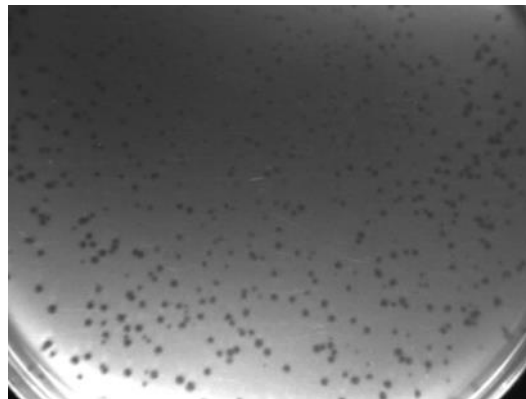
## 9. Anexos



**Anexo A.** *Micografías electrónicas asociadas a fagos de H.pilory*



**Anexo B.** *Placas de lisis causadas por . bacteriófagos*



**Anexo C.** *Placas de lisis causadas por 1961P*