

## A BATALHA NA SUPERFÍCIE: EXPLORANDO O POTENCIAL DOS BACTERIÓFAGOS APLICADOS À SAÚDE CUTÂNEA

Data de aceite: 01/11/2023

### Evelin Corrêa

Universidade Federal de Santa Catarina;  
Departamento de Microbiologia,  
Imunologia e Parasitologia; Laboratório de  
Virologia Aplicada.  
<https://orcid.org/0000-0002-9187-0727>

### Mariana Alves Elois

Universidade Federal de Santa Catarina;  
Departamento de Microbiologia,  
Imunologia e Parasitologia; Laboratório de  
Virologia Aplicada.  
<https://orcid.org/0000-0003-2986-6900>

### Gislaine Fongaro

Universidade Federal de Santa Catarina;  
Departamento de Microbiologia,  
Imunologia e Parasitologia; Laboratório de  
Virologia Aplicada.  
<https://orcid.org/0000-0001-5596-3320>

**RESUMO:** O controle de bactérias patogênicas da pele é um desafio global para a saúde pública, em especial considerando a relevância clínica de bactérias específicas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Cutibacterium acnes*, relacionadas com patologias da pele, como dermatite atópica, acne vulgaris, psoríase, impetigo, celulite, foliculite,

erisipela e feridas crônicas. Além disso, destaca-se a importância do enfrentamento da resistência antimicrobiana no tratamento de doenças de pele e subsequente promoção e exploração da reemergência do potencial dos bacteriófagos e sua biologia no controle de patógenos bacterianos cutâneos. O tratamento tradicional para controle de doenças infecciosas bacterianas envolve o uso de antibióticos. Contudo, a prevalência crescente de bactérias resistentes a antibióticos tem apresentado um desafio significativo. Diante desse cenário, há um foco crescente na busca por alternativas no tratamento de doenças de pele e infecções em feridas. Os bacteriófagos (fagos), vírus que infectam e controlam bactérias, têm sido objeto de investigação devido às suas propriedades antimicrobianas, especialmente bacteriolíticas. Neste capítulo, serão exploradas as inovações nas aplicações dos fagos na saúde da pele, destacando a importância da compreensão da biologia dos fagos para a seleção aprimorada na terapia dermatológica, bem como os ensaios necessários para garantir sua eficácia como agentes terapêuticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Staphylococcus aureus*. *Streptococcus pyogenes*. *Cutibacterium acnes*. Infecções cutâneas.

## INTRODUÇÃO

A pele é um órgão cuja microbiota abriga predominantemente bactérias comensais, que desempenham um papel crucial na modulação da resposta imunológica inata (Byrd et al., 2018). As interações entre os membros da microbiota moldam a comunidade microbiana residente e previnem a colonização por bactérias patogênicas em um processo denominado “resistência à colonização” (Buffie & Pamer, 2013). No entanto, em certos contextos, bactérias que são normalmente benéficas para os seus hospedeiros podem tornar-se patogênicas (Iebba et al., 2016).

Uma variedade significativa de distúrbios de pele encontra parcial explicação sobre suas causas e complicações em fatores bacterianos. Essas condições debilitantes englobam, dentre outras, a dermatite atópica, acne *vulgaris*, psoríase, impetigo, celulite, foliculite, erisipela e feridas crônicas. Algumas das principais bactérias vinculadas a essas complexidades cutâneas, dérmicas e sub dérmicas compreendem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) (Del Giudice, 2020; Dreno et al., 2017; Grice & Segre, 2011; Ibrahim et al., 2016).

*C. acnes* se destaca como principal contribuinte para a patogênese da acne *vulgaris* (Golembó et al., 2022). Enquanto, o *S. aureus* e as estirpes resistentes à meticilina (MRSA) exercem influência em infecções como impetigo, foliculite e celulite, desempenhando também papel crucial nas complicações associadas a doenças como psoríase, dermatite atópica e acne *vulgaris* (Del Giudice, 2020; Golembó et al., 2022). Além disso, prejudicam a cicatrização de feridas crônicas e queimaduras devido ao estabelecimento de biofilmes e à liberação de toxinas (Roy et al., 2020). *S. pyogenes* também está correlacionada a infecções de impetigo e celulite e se destaca como a principal causa de erisipela e fasciíte necrosante (Bruun et al., 2013a; Stevens & Bryant, 2016).

O tratamento de doenças de pele geralmente envolve o uso de antibióticos. Entretanto, há um aumento significativo na prevalência de isolados bacterianos resistentes que já não são susceptíveis ao tratamento com antibióticos (Lim et al., 2018). Ao compreender as limitações dos tratamentos convencionais e os riscos emergentes de resistência antimicrobiana no contexto médico contemporâneo, a busca por abordagens inovadoras levou à investigação do uso de bacteriófagos no controle de patógenos da pele, como *C. acnes*, *S. aureus* e *S. pyogenes* (Aryee & Price, 2015).

A abordagem proposta repousa na compreensão aprofundada da interação hospedeiro-patógeno, das propriedades bacteriolíticas dos bacteriófagos e dos mecanismos subjacentes às infecções cutâneas. A capacidade dos bacteriófagos de se ligarem especificamente às suas contrapartes bacterianas e catalisar a lise celular se revela como uma das principais estratégias terapêuticas propostas (Chen et al., 2022). Desse modo,

investigações laboratoriais pioneiras e ensaios clínicos incipientes lançam luz sobre os desafios e as perspectivas da terapia com bacteriófagos.

Considerando os aspectos relevantes descritos, o presente capítulo apresenta a correlação entre patogêneses da pele e a infecção causada por bactérias, bem como a importância de compreender a biologia dos fagos, visando aplicações cutâneas.

## BACTÉRIAS

### Relevância clínica em doenças de pele e resistência antimicrobiana

Muitas doenças de pele comuns estão associadas a alterações na microbiota, conhecida como disbiose cutânea. Essa disbiose frequentemente tem origem em espécies comensais comuns, tais como *C. acnes*, *S. aureus* e *S. epidermidis*. A última mencionada é um exemplo de bactéria comensal que desempenha um papel crucial na proteção da pele, atuando como barreira contra a entrada de bactérias patogênicas por meio de receptores do tipo *toll-like* (TLR). No entanto, sob certas condições, essas bactérias podem se tornar oportunistas e seu crescimento excessivo pode levar à patogenicidade (Méric et al., 2018).

Outras condições de pele estão relacionadas a espécies especificamente patogênicas, como *S. pyogenes*. Esse patógeno bacteriano de relevância clínica é responsável por uma variedade de sintomas, desde infecções leves localizadas até infecções invasivas e potencialmente fatais (Ibrahim et al., 2016; Kanwal & Vaitla, 2023).

A acne, causada por *C. acnes*, é uma condição inflamatória persistente que surge da interação de fatores que perturbam o equilíbrio da microbiota da pele. A produção excessiva de sebo devido a estímulos hormonais e o bloqueio dos folículos capilares por hiper queratinização criam um ambiente propício para o crescimento do *C. acnes*, desencadeando inflamação (Barnard et al., 2016; Golembó et al., 2022; Platsidaki & Dessinioti, 2018).

A abordagem central no tratamento da acne é o uso de antibióticos, tanto topicamente quanto por via oral. No entanto, o uso excessivo e prolongado desses agentes resultou em uma ampla resistência desenvolvida pelas cepas de *C. acnes* aos antibióticos (Platsidaki & Dessinioti, 2018; Walsh et al., 2016). Vários estudos documentaram o isolamento de cepas de *C. acnes* resistentes à clindamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, eritromicina, tetraciclina, levofloxacina, minociclina, azitromicina, oxitetraciclina e doxiciclina (Alkhwaja et al., 2020; Nakase et al., 2020; Platsidaki & Dessinioti, 2018; Sermswan et al., 2023).

*S. aureus* e *S. pyogenes* são os principais agentes patogênicos em infecções de pele e tecidos moles em todo o mundo, independentemente de idade, clima ou localização geográfica (Del Giudice, 2020; Linz et al., 2023; Stevens & Bryant, 2016). Essas infecções cutâneas são categorizadas em primárias e secundárias. As infecções primárias surgem sem lesões clinicamente visíveis anteriores ou devido a pequenas lesões cutâneas, enquanto

as secundárias resultam de lesões cutâneas pré-existentes (Del Giudice, 2020). Entre as infecções primárias, destacam-se o impetigo, a foliculite e os furúnculos. O impetigo é uma infecção epidérmica contagiosa causada por *S. aureus* e/ou *S. pyogenes* (Bowen et al., 2014). Já a foliculite e seus estágios avançados, como os furúnculos, frequentemente são atribuídos a bactéria *S. aureus* (Del Giudice, 2020). Nas infecções secundárias, a celulite é uma ocorrência comum, causada por *S. pyogenes* e *S. aureus*, afetando principalmente pacientes imunocomprometidos e idosos (Cranendonk et al., 2017). Da mesma forma, a erisipela, uma forma não purulenta de celulite com frequente infecção, também é causada por *S. aureus* e *S. pyogenes* (Breyre & Frazee, 2018; Linz et al., 2023; Stevens & Bryant, 2016).

*S. aureus* é um dos principais patógenos relacionado a infecções persistentes em feridas crônicas, desempenhando um papel crucial na formação de biofilmes que comprometem a cicatrização e reduzem a eficácia dos antimicrobianos (Roy et al., 2020). A dermatite atópica é uma doença inflamatória crônica causada pela bactéria *S. aureus*, sendo recorrente devido a múltiplos fatores contribuintes, incluindo comprometimento da barreira epidérmica, ativação de células imunológicas e alterações na comunidade de microrganismos cutâneos associados (Byrd et al., 2018; Ogonowska et al., 2020). Além disso, *S. aureus* e *S. pyogenes* podem agravar os sintomas de doenças como a psoríase, por meio da produção de enterotoxinas e da indução de respostas imunológicas sistêmicas exacerbadas (Ng et al., 2017; Totté et al., 2016).

A resistência das cepas de *S. aureus* tem sido bem documentada por pesquisadores em várias partes do mundo. O surgimento de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) é uma preocupação devido às infecções cutâneas predominantes que ela causa (Linz et al., 2023; N. A. Turner et al., 2019). Além disso, há preocupação em relação ao ácido fusídico, cujo uso excessivo em pomadas levou ao surgimento e disseminação de cepas resistentes de *S. aureus* (Deplano et al., 2023). Outras formas de resistência incluem a penicilina, ceftazolidina, tetraciclina, gentamicina, ampicilina, eritromicina, oxacilina, fosfomicina, cefoxitina, ciprofloxacina e trimetoprim/sulfametoxazol (Abdolmaleki et al., 2019; Hanif & Hassan, 2019). Estudos adicionais também relataram cepas de *S. pyogenes* resistentes a macrolídeos, fluoroquinolonas, ceftriaxona, vancomicina, eritromicina, cloranfenicol, clindamicina, levofloxacina e tetraciclina (Ibrahim et al., 2016; Kebede et al., 2021).

Frente ao panorama de resistência e multirresistência aos antimicrobianos convencionais, a busca por abordagens inovadoras no tratamento de doenças dermatológicas e infecções cutâneas tem se intensificado (Aryee & Price, 2015). Nesse contexto, os bacteriófagos têm emergido como uma área de pesquisa promissora devido às suas propriedades antimicrobianas. Essas entidades biológicas detêm o potencial de transformar a prática da medicina dermatológica, proporcionando terapias personalizadas e altamente direcionadas para uma ampla gama de condições que comprometem a saúde da pele.

# BACTERIÓFAGOS

## Diversidade biológica e seleção

Os bacteriófagos, ou fagos, são parasitas intracelulares obrigatórios e considerados as entidades mais abundantes em termos quantitativos no cenário terrestre, desempenhando uma ampla gama de funções no ecossistema, especialmente em relação aos seus hospedeiros (Dion et al., 2020; Pal et al., 2007). Em seu papel de controlar populações bacterianas, esses agentes podem desencadear a lise bacteriana, influenciar a evolução dos sistemas imunológicos bacterianos por meio da infecção, facilitar a transferência horizontal de genes e afetar o metabolismo do hospedeiro por meio do transporte de genes metabólicos auxiliares (Puxty & Millard, 2023). Eles foram descobertos independentemente por Frederick Twort, na Inglaterra, em 1915, e por Félix d'Hérelle, na França, em 1917.

Os fagos são diversos em tamanho, morfologia e organização genômica, incluindo aqueles com DNA de fita dupla (dsDNA), DNA de fita simples (ssDNA), DNA de fita simples RNA (ssRNA) e RNA de fita dupla (dsRNA). Aproximadamente 96% dos fagos têm uma estrutura de cauda que ajuda na infecção das bactérias. Outros tipos de fagos, compreendendo menos de 4% do total, são desprovidos de caudas e podem ser “cúbicos”, “filamentosos” ou “pleomórficos”. Fagos cúbicos geralmente têm algum componente lipídico em sua estrutura e são sensíveis a solventes orgânicos como éter e clorofórmio (Ackermann, 2009). Além disso, os fagos podem ter genomas de tamanhos muito diferentes, mesmo entre aqueles que infectam a mesma bactéria (Zhu et al., 2022).

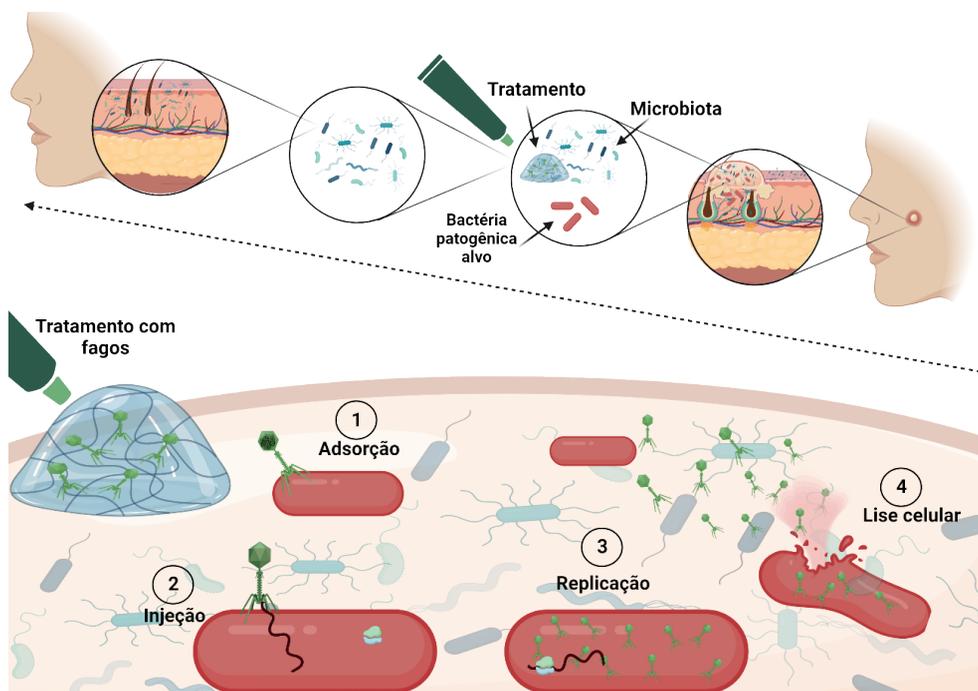
À medida que a diversidade de bacteriófagos e a complexidade de seus genomas são entendidas, torna-se evidente a necessidade contínua de atualizar sua taxonomia e classificação. Recentemente, ocorreu a abolição das famílias *Myoviridae*, *Podoviridae* e *Siphoviridae*, visto que essas famílias não refletem precisamente uma história evolutiva compartilhada. Ainda assim, o uso de termos morfológicos como “miovírus”, “podovírus” e “sifovírus” é reconhecido por sua importância em destacar características morfológicas distintas, embora não possuam um significado taxonômico formal. Além disso, a ordem *Caudovirales* foi substituída pela classe *Caudoviricetes* para agrupar vírus bacterianos e de arqueias que compartilham caudas, capsídeos icosaédricos e material genético de dupla fita de DNA (dsDNA) (D. Turner et al., 2023).

Quando se trata da compreensão dos ciclos replicativos dos fagos, eles podem ser categorizados como i) líticos e não temperados, quando fagos líticos não exibem ciclos lisogênicos, ii) crônicos e não temperados, quando os fagos liberados cronicamente não exibem ciclos lisogênicos, iii) fagos líticos e temperados, ou seja, fagos líticos que podem exibir ciclos lisogênicos, ou iv) fagos crônicos e temperados, ou seja, fagos liberados cronicamente que podem exibir ciclos lisogênicos (Harada et al., 2018; Hobbs & Abedon, 2016; Kasman & Porter, 2023).

Os fagos líticos aderem às células bacterianas, por meio do processo de adsorção,

aos receptores localizados na membrana celular, injetam seu material genético no citoplasma e usam a maquinaria bacteriana para realizar a transcrição e tradução das proteínas fágicas antes de causar a lise celular e liberar novos vírions. Os fagos temperados também se aderem e injetam seu material genético no citoplasma bacteriano, entretanto, se integram ao genoma bacteriano como profagos, replicando-se junto com a célula hospedeira. O ciclo lisogênico, ou seja, a replicação do fago como um profago que não resulta diretamente na produção ou liberação de vírions, pode conferir imunidade contra infecções semelhantes. Além disso, sob estresse, como luz ultravioleta, produtos químicos mutagênicos ou danos ao DNA, profagos podem entrar novamente no ciclo lítico. Os fagos crônicos, por sua vez, após se aderirem e infectarem células bacterianas, não causam uma lise importante e liberam novos vírions intermitentemente ao longo do tempo, sem interromper substancialmente as células hospedeiras (Harada et al., 2018; Hobbs & Abedon, 2016; Kasman & Porter, 2023).

Os fagos líticos e não temperados, ou seja, aqueles que exibem ciclos estritamente líticos, são promissores e explorados para aplicações biotecnológicas, pois têm a capacidade de induzir a lise bacteriana sem capacidade potencial de se integrar ao genoma, carrear genes de resistência (por meio do processo de transdução) ou serem liberados de forma contínua sem interrupção da célula hospedeira (Chen et al., 2022). A Figura 1 foi produzida com o intuito de ilustrar o ciclo lítico e especificidade fago-hospedeiro utilizados em detrimento do tratamento de infecções cutâneas.



Parte superior: Ilustração destacando a especificidade de fago-hospedeiro no tratamento de infecções de pele, sem consequente intervenção na microbiota cutânea. Parte inferior: Ilustração do tratamento utilizando o ciclo lítico e suas quatro principais etapas; 1: Reconhecimento da bactéria patogênica alvo e adsorção; 2: Injeção do material genético, capsídeo vazio; 3: Replicação de fagos utilizando a maquinaria bacteriana; 4: Lise celular e liberação de novos fagos, aumento exponencial.

Figura 1 - Tratamento de infecção cutânea utilizando a biologia dos fagos.

Elaborada pelas autoras (2023).

A ocorrência de lisogenia emerge como um fator crítico na ponderação da viabilidade da utilização de bacteriófagos como agentes terapêuticos. Esse processo é governado pelas integrases, enzimas capazes de integrar o DNA viral do bacteriófago com o genoma da bactéria hospedeira. Durante o ciclo de replicação do fago, ocorre também a replicação do DNA bacteriano adjacente, potencialmente permitindo que, subsequente, esse material genético conjuntamente replicado seja transferido para uma célula receptora. Assim, genes de resistência a antibióticos ou outros genes promotores de virulência podem se disseminar entre as bactérias, comprometendo a segurança e a eficácia de estratégias de biocontrole bacteriano. Portanto, a ocorrência de lisogenia e integrases deve ser criteriosamente investigada através de análises fenotípicas e genotípicas (Glonti & Pirnay, 2022; Qi et al., 2023).

### Eficácia, testes e caracterização: mediação da aplicação dos fagos no tratamento de doenças dermatológicas

Para serem eficazes em aplicações dermatológicas, os fagos precisam possuir

algumas características desejadas:

i) o fago deve ser altamente específico para uma espécie bacteriana e nessa espécie, possuir amplitude do intervalo de hospedeiros. Isso garante que a infecção fágica não afete a microbiota saudável da pele, mas controle o máximo de estirpes bacterianas de uma mesma espécie. Para isso, diversos testes *in vitro* podem ser utilizados desde o momento inicial de isolamento (Hyman, 2019).

ii) as características fenotípicas dos fagos, como taxa de adsorção, período de latência (o tempo necessário para um fago se replicar em uma bactéria infectada) e tamanho da explosão (o número de descendentes de fagos produzidos por uma bactéria infectada) devem estar bem caracterizados para avaliar a cinética e os mecanismos de interação entre fago e hospedeiro (S. T. Abedon, 2017; Nale & Clokie, 2021).

iii) os fagos devem ser capazes de lisar completamente uma cultura bacteriana, ou seja, possuir alta virulência. Para esse feito são analisadas duas possibilidades: replicação inativa, em que a quantidade de inicial fagos excede a quantidade de bactérias e a replicação ativa, em que a quantidade de fagos é inferior a quantidade de bactérias e seu potencial de replicação exponencial é analisado (Hyman, 2019; Natarelli et al., 2023; Sabouri Ghannad & Mohammadi, 2012).

iiii) os fagos devem ser capazes de penetrar as camadas da pele, atingindo as bactérias alvo. Isso pode exigir modificações na superfície do fago para facilitar sua adsorção ou a utilização de encapsulamentos (Podlacha et al., 2021).

v) os fagos devem ser atóxicos para as células humanas e não desencadear reações imunológicas adversas. Nesse sentido, testes rigorosos de segurança são essenciais antes da aplicação clínica (Nale & Clokie, 2021). Os testes em modelos animais permitem avaliar a eficácia dos fagos em um ambiente mais próximo à realidade humana (Brix et al., 2020).

vi) os fagos devem ser estáveis em formulações dermatológicas. Assim, dados sobre a estabilidade dos fagos em diferentes temperaturas, faixas de pH, níveis de oxigênio e nutrientes são fundamentais para sua aplicação terapêutica. A composição química e ponto isoelétrico das partículas de fago, incluindo sua estrutura proteica, desempenham um papel importante na determinação de sua estabilidade em solução e devem ser avaliados em testes *in vitro* (Jończyk-Matysiak et al., 2019; Vandenneuvel et al., 2015).

Desse modo, antes de levar os fagos para a clínica, uma série de testes são necessários para avaliar sua eficácia e segurança (Luong et al., 2020; Nale & Clokie, 2021).

No contexto terapêutico, é vital considerar e realizar testes de caracterização e avaliação para todos os aspectos citados acima antes de aplicar bacteriófagos, uma vez que a eficácia da terapia depende não apenas da capacidade dos fagos de infectar as bactérias alvo, mas também de sua estabilidade, capacidade de sobreviver nas condições do ambiente em que serão usados e de se proliferarem de maneira eficaz para combater a infecção (Hyman, 2019; Jończyk-Matysiak et al., 2019; Nale & Clokie, 2021).

A eficácia dos fagos na saúde da pele também depende da escolha adequada

do veículo de aplicação, visto que, na pele estes vírus podem ser eliminados por fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz solar UV (Loc-Carrillo & Abedon, 2011). Alguns veículos promissores incluem, cremes e pomadas em formulações semissólidas, além de hidrogéis, nanopartículas, fibras eletrostáticas, lipossomas e transfersomes. Cada veículo possui seus benefícios e limitações, mas os objetivos principais são a garantia de penetração na pele, armazenamento, estabilidade e direcionamento para as áreas de infecção, além da entrega controlada e biodistribuição do medicamento (T. L. Brown et al., 2017; Chhibber et al., 2017; Hathaway et al., 2015; Loh et al., 2021; Rotman et al., 2020).

### **Veículos de entrega: a natureza dos fagos na aplicação tópica**

Testes *in vitro* e *ex vivo* têm fundamentado o controle de *C. acnes* por meio de isolados fágicos em diferentes veículos de aplicação. Resultados demonstram que a utilização de cremes aquosos e hidrofílicos armazenados em 4 °C possuem aparente vantagem na estabilidade e controle bacteriano pelo fago PAC1 (*Siphoviridae*), quando comparados com outras formulações semissólidas como pomadas hidrofóbicas (T. L. Brown et al., 2017). A natureza iônica da estrutura do capsídeo dos fagos de diferentes grupos tem sido avaliada como fator relevante na formulação de produtos. A depender do tipo de fago, a escolha de uma base não iônica, catiônica ou aniônica interfere não somente na estabilidade do fago (fator quantitativo) como também na capacidade dos fagos em infectar e lisar as bactérias (fator qualitativo). Essa situação destaca a importância da caracterização morfológica dos fagos (T. Brown et al., 2018).

Recentemente, um estudo *ex vivo* em pele humana reconstituída e concomitante ensaio clínico *in vivo* utilizando murinos, demonstrou a eficácia do coquetel fágico BX001 no tratamento de *C. acnes* em formulação com gel. O controle bacteriano foi efetivo e não houve nenhum sinal de irritação ou reações adversas após 35 dias de tratamento (Golembó et al., 2022). A principal razão para a utilização de coquetéis é a sua abrangente amplitude de ação. Os coquetéis têm a capacidade de infectar diversos tipos de bactérias ou alcançar eficácia em uma gama maior de condições, além de reduzir as chances de resistência das bactérias aos fagos utilizados (Chan & Abedon, 2012; Lin et al., 2022).

Em resultados de um estudo utilizando um fago não especificado contra *C. acnes*, foi observada a compatibilidade do fago com diversos conservantes farmacêuticos comuns, como parabenos, fenoxietanol, sorbato de potássio e propilenoglicol, abrindo a perspectiva de criar uma formulação final refinada, incorporando um agente gelificante não iônico, como a hidroxietilcelulose (HEC) (Osborne et al., 2018). O uso de conservantes facilita o armazenamento e esterilidade de produtos com fagos, portanto, a avaliação de sua tolerância a esses compostos é recomendada (Osborne et al., 2018). Posteriormente, em outro estudo, o fago TCUCAP1 foi incorporado a um creme à base de HEC com uma concentração de 0,5% e demonstrou potencial de erradicar *C. acnes* multirresistente em camundongos, mesmo após 180 dias de armazenamento (Lam et al., 2021).

Um estudo atual utilizando o fago FD3 incorporado em gel carbopol (2,5%) observou o controle de *C. acnes* em um modelo de camundongo com lesões semelhantes à acne induzidas, com melhorias evidentes nos parâmetros clínicos e histológicos. Além disso, observou-se uma redução significativa na resposta inflamatória, evidenciada pela diminuição da expressão da quimiocina CXCL2, assim como da redução na infiltração de neutrófilos e de outras citocinas inflamatórias quando comparada ao grupo de camundongos infectados não tratados (Rimon et al., 2023).

Em 2020 um estudo utilizou camundongos com mimetização de dermatite atópica para testar o fago SaGU1 no controle do crescimento de *S. aureus* na pele. O fago infecta *S. aureus* sem prejudicar *S. epidermidis*. Embora indícios de resistência bacteriana ao fago em experimentos *in vitro* tenham surgido, a terapia sinérgica de SaGU1 e *S. epidermidis* controlou de forma eficaz o crescimento de *S. aureus* em camundongos (Shimamori et al., 2020).

De fato, estudos combinando fagos com outros agentes ou protetores se mostram tão efetivos quanto a aplicação isolada de fagos (Diallo & Dublanchet, 2022; Duc et al., 2023). Como exemplo, há o uso sinérgico do fago pSa-3 e surfactantes que resultou no aumento da capacidade de adsorção e duplicou a efetividade no controle de *S. aureus* em um teste *in vivo* utilizando murinos (Kim et al., 2020).

No entanto, para a aplicação dos fagos como tratamento de queimaduras e feridas crônicas, testes enfatizam a contraindicação da sinergia com outros agentes anti-infecciosos. O ideal é a utilização de fagos em hidrogéis neutros (Merabishvili et al., 2017). Ainda nesse sentido, cosméticos suplementados com bacteriófagos parecem ser mais eficientes em resultados *in vitro* quando comparados com preparações de fagos livres, no controle de biofilmes de *S. aureus* (Abo-elmaaty et al., 2016). Modelos de feridas *ex vivo* utilizando pele de porcinos estão sendo desenvolvidos com o intuito de aumentar a reprodutibilidade de análises anteriores para testes *in vivo*, reduzindo custos e melhorando o rendimento em estudos de controle de biofilme por fagos (Alves et al., 2018; Milho et al., 2019).

Com o intuito de maximizar o direcionamento da entrega de tratamentos, a utilização de um polímero sensível à temperatura (Nanoesferas de Poli [N-isopropilacrilamida]) com fago K contra *S. aureus*, demonstrou-se responsivo a uma temperatura mais elevada, especificamente quando ocorre uma infecção cutânea (Hathaway et al., 2015). Outro estudo envolvendo o fago K, testou um modelo de distribuição inteligente na formulação de um hidrogel composto em dupla camada com metacrilato de ácido hialurônico foto-reticulável (HAMA). Este último é sensível a enzima hialuronidase, produzida por *S. aureus* e propiciou a liberação responsiva e contínua de acordo com o crescimento bacteriano (Bean et al., 2014). Se tratando da estabilidade, um estudo utilizando coquetel de fagos encapsulados em carreadores nano estruturados à base de lipídios, observou resultados positivos em testes de estabilidade *in vitro* e do título de fago *in vivo* acerca da durabilidade

e estabilidade em comparação com os fagos não encapsulados (Chhibber et al., 2017).

Outros componentes fágicos como enzimas fagolíticas também podem ser empregados para tratamento de doenças de pele e são capazes de relevar em parte os problemas com transferência de genes, estabilidade e mecanismos de resistência bacteriana (Gutiérrez et al., 2018). Um estudo *in vitro* recente, produziu a formulação de uma pomada com duas lisinas recombinantes e os resultados foram efetivos no controle de cepas de MRSA isolados de feridas crônicas. Além disso, a pomada demonstrou maior potencial contra isolados de *S. aureus* do que mupirocina e têm atividade similar ao ácido fusídico. Estes fármacos tópicos são comumente utilizados no tratamento de impetigo e foliculite e já existem relatos de estirpes de *S. aureus* resistentes (Hamed et al., 2023).

Em outro estudo, o creme com a lisina XZ.700 eliminou de forma eficaz *S. aureus* na pele humana reconstituída (Eichenseher et al., 2022). Relatos de caso também apoiam o emprego de proteínas fagolíticas no tratamento de dermatite atópica e foliculite por *S. aureus* (Totté et al., 2017) e o uso profilático para trabalhadores da indústria alimentícia está sendo fundamentado (Fenton et al., 2013; Pastagia et al., 2011).

O controle de *S. pyogenes* envolvendo terapia fágica apresenta um desafio significativo devido aos mecanismos adaptativos dessa espécie para prevenir a infecção por fagos. Além disso, essa espécie também possui fatores de virulência acentuados devido a transferência gênica pelo processo de transdução por fagos temperados (McShan et al., 2019). Estudos anteriores e recentes demonstram a capacidade de lisinas de fagos de estreptococos realizarem o controle de *S. pyogenes* e a degradação de seus biofilmes (Linden et al., 2021; Shen et al., 2013; Yang et al., 2015). Nesse sentido, a utilização de lisinas é fortemente indicada, assim como a utilização de fagos modificados geneticamente (Beerens et al., 2021; Loganathan et al., 2021).

### **Limitações e desafios: compreendendo, inovando e solucionando**

A utilização dos fagos aplicados à prática clínica enfrenta alguns desafios significantes. A coevolução entre bacteriófagos e bactérias possibilita a aquisição de resistência bacteriana aos fagos ao longo do tempo através de diversos mecanismos. Em detrimento desse problema, o uso de coquetéis com múltiplos fagos (Chan & Abedon, 2012; Lin et al., 2022), a combinação com outros agentes antimicrobianos, como antibióticos, peptídeos antimicrobianos (Diallo & Dublanchet, 2022; Gouveia et al., 2022) e o uso de proteínas fagolíticas (Gutiérrez et al., 2018) são estratégias que podem ser utilizadas com o intuito de expandir o antibiograma e aumentar a gama de atividades antibacterianas, reduzindo a possibilidade de aquisição de resistência antimicrobiana aos fagos.

Em relação a segurança e eficiência, as interações dos fagos com o corpo humano também devem ser consideradas. Alguns problemas significantes no desenvolvimento de intervenções farmacológicas, incluem: i) o aumento de endotoxinas circulantes providas da lise bacteriana, agravando infecções; ii) a eficácia e a capacidade de penetração do

bacteriófago na pele são fortemente influenciadas pela composição da microbiota cutânea; iii) os fagos com morfologia e tamanho semelhantes a vírus de animais são mais facilmente reconhecidos pelo sistema imune, desencadeando resposta imunológica que gera sua subsequente degradação; iv) a concentração viral inicial nas formulações está intimamente relacionada com a efetividade e perda do título viral (S. Abedon & Thomas-Abedon, 2010; Huh et al., 2019; Podlacha et al., 2021; Sulakvelidze, 2005).

Para lidar com o problema da endotoxemia resultante da lise bacteriana, é possível estabelecer um plano de tratamento para a liberação previsível de endotoxina (Lin et al., 2022). Acerca da resposta imune, o encapsulamento e imobilização dos fagos em hidrogéis poliméricos demonstram capacidade de impedir a liberação de citocinas pró-inflamatórias e consequente recrutamento de células imunes (Loh et al., 2021). Adicionalmente, aumentar a dose ou título de fagos por um curto período pode evitar a inativação ou perda de fagos antes de atingirem as bactérias-alvo (Lin et al., 2022).

O armazenamento, a estabilidade e o direcionamento efetivo são outros desafios enfrentados pela terapia fágica. O ambiente térmico e os níveis de acidez são dois dos principais fatores que afetam tanto a sobrevivência das bactérias quanto a atividade dos fagos (Dąbrowska, 2019). Nesse sentido, algumas estratégias incluem protetores de pH e a utilização de sistemas de encapsulamento, como os lipossomas e matrizes de biopolímeros naturais ou sintéticos (Dini et al., 2012; Jamaledin et al., 2023). Estes oferecem proteção da carga viral contra enzimas, degradação em ambiente ácido (baixo pH) e neutralização pelo sistema imunológico. Além disso, lipossomas facilitam a penetração da carga encapsulada nos tecidos, muitas vezes superando as limitações associadas à aplicação de compostos não encapsulados (Loh et al., 2021; Nsairat et al., 2022).

Com o intuito de superar os desafios no uso tópico de fagos, é possível otimizar as estratégias de isolamento, caracterização, assim como as vias de administração de acordo com as características dos fagos, dos hospedeiros relacionados e das doenças alvo. Nesse sentido, fibras e hidrogéis representam uma estratégia para incorporar fagos em uma matriz tridimensional, possibilitando uma liberação contínua dos fagos no local de ação. Especificamente, materiais com carga positiva, como hidrogéis ou lipossomas catiônicos, promovem uma maior adesão ao muco, estendendo a permanência e a liberação no local de ação. Transfersomas podem ser utilizados para entrega de fagos em camadas cutâneas mais profundas, devido a sua capacidade de deformação. Nanopartículas detêm a capacidade de serem controladas, possibilitando maior precisão no tratamento. As fibras de biopolímero eletrofiadas permitem a liberação regulada de partículas fágicas, que é cuidadosamente controlada pela escolha de materiais (Loh et al., 2021).

As formulações tópicas, como sprays, pomadas, cremes e loções oferecem benefícios significativos no que concerne às feridas. Essa abordagem permite uma distribuição precisa do tratamento nas áreas afetadas, tornando-o mais concentrado. Além disso, sua fácil administração e remoção simplificam o processo terapêutico, tornando-o conveniente tanto

para pacientes quanto para profissionais de saúde (Chang et al., 2020; Qadir et al., 2018). Algumas das aplicações e seus principais benefícios podem ser observados na Figura 2.

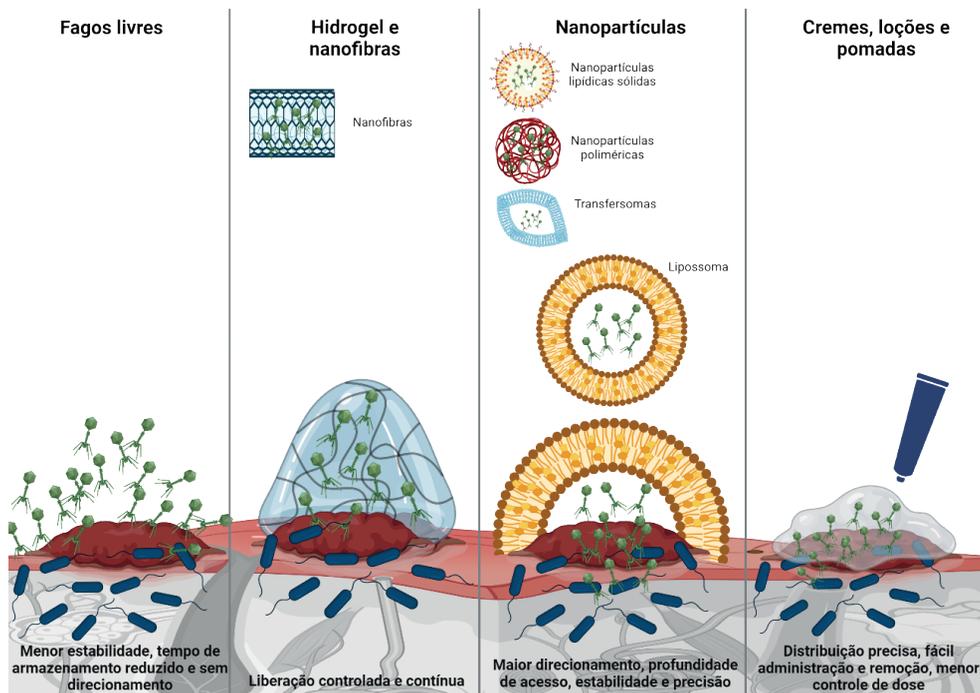


Figura 2 – Veículos de aplicação e principais características

Elaborada pelas autoras (2023)

## CONCLUSÃO

As aplicações dos fagos na saúde da pele representam um campo promissor da pesquisa dermatológica. Com características desejadas bem definidas, contemplando ensaios de eficácia, estabilidade e segurança, os fagos têm o potencial para o controle de bactérias patogênicas associadas às doenças da pele, preservando a microbiota cutânea saudável.

## REFERÊNCIAS

- Abdolmaleki, Z., Mashak, Z., & Safarpour Dehkordi, F. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance in the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospital cockroaches. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 54. doi: 10.1186/s13756-019-0505-7
- Abedon, S. T. (2017). Information Phage Therapy Research Should Report. *Pharmaceuticals*, 10(4), 43. doi: 10.3390/ph10020043

- Abedon, S., & Thomas-Abedon, C. (2010). Phage Therapy Pharmacology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11(1), 28–47. doi: 10.2174/138920110790725410
- Abo-elmaaty, S., El Dougdoug, N. K., & Hazaa, M. M. (2016). Improved antibacterial efficacy of bacteriophage-cosmetic formulation for treatment of *Staphylococcus aureus* in vitro. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 201–206. doi: 10.1016/j.aosas.2016.08.002
- Ackermann, H.-W. (2009). *Phage Classification and Characterization* (p. 127–140). doi: 10.1007/978-1-60327-164-6\_13
- Alkhawaja, E., Hammadi, S., Abdelmalek, M., Mahasneh, N., Alkhawaja, B., & Abdelmalek, S. M. (2020). Antibiotic resistant *Cutibacterium acnes* among acne patients in Jordan: a cross sectional study. *BMC Dermatology*, 20(1), 17. doi: 10.1186/s12895-020-00108-9
- Alves, D. R., Booth, S. P., Scavone, P., Schellenberger, P., Salvage, J., Dedi, C., Thet, N.-T., Jenkins, A. T. A., Waters, R., Ng, K. W., Overall, A. D. J., Metcalfe, A. D., Nzakizwanayo, J., & Jones, B. V. (2018). Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8. doi: 10.3389/fcimb.2018.00196
- Aryee, A., & Price, N. (2015). Antimicrobial stewardship - can we afford to do without it? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 79(2), 173–181. doi: 10.1111/bcp.12417
- Barnard, E., Shi, B., Kang, D., Craft, N., & Li, H. (2016). The balance of metagenomic elements shapes the skin microbiome in acne and health. *Scientific reports*, 6, 39491. doi: 10.1038/srep39491
- Bean, J. E., Alves, D. R., Laabei, M., Esteban, P. P., Thet, N. T., Enright, M. C., & Jenkins, A. T. A. (2014). Triggered Release of Bacteriophage K from Agarose/Hyaluronan Hydrogel Matrixes by *Staphylococcus aureus* Virulence Factors. *Chemistry of Materials*, 26(24), 7201–7208. doi: 10.1021/cm503974g
- Beerens, D., Franch-Arroyo, S., Sullivan, T. J., Goosmann, C., Brinkmann, V., & Charpentier, E. (2021). Survival Strategies of *Streptococcus pyogenes* in Response to Phage Infection. *Viruses*, 13(4), 612. doi: 10.3390/v13040612
- Bowen, A. C., Tong, S. Y., Chatfield, M. D., & Carapetis, J. R. (2014). The microbiology of impetigo in Indigenous children: associations between *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, scabies, and nasal carriage. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 727. doi: 10.1186/s12879-014-0727-5
- Breyre, A., & Frazee, B. W. (2018). Skin and Soft Tissue Infections in the Emergency Department. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 36(4), 723–750. doi: 10.1016/j.emc.2018.06.005
- Brix, A., Cafora, M., Aureli, M., & Pistocchi, A. (2020). Animal Models to Translate Phage Therapy to Human Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3715. doi: 10.3390/ijms21103715
- Brown, T. L., Thomas, T., Odgers, J., Petrovski, S., Spark, M. J., & Tucci, J. (2017). Bacteriophage formulated into a range of semisolid and solid dosage forms maintain lytic capacity against isolated cutaneous and opportunistic oral bacteria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(3), 244–253. doi: 10.1111/jphp.12673
- Brown, T., Petrovski, S., Chan, H., Angove, M., & Tucci, J. (2018). Semi-Solid and Solid Dosage Forms for the Delivery of Phage Therapy to Epithelia. *Pharmaceuticals*, 11(1), 26. doi: 10.3390/ph11010026

- Bruun, T., Kittang, B. R., de Hoog, B. J., Aardal, S., Flaatten, H. K., Langeland, N., Mylvaganam, H., Vindenes, H. A., & Skrede, S. (2013). Necrotizing soft tissue infections caused by *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* of groups C and G in western Norway. *Clinical Microbiology and Infection*, *19*(12), E545–E550. doi: 10.1111/1469-0691.12276
- Buffie, C. G., & Pamer, E. G. (2013). Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology*, *13*(11), 790–801. doi: 10.1038/nri3535
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(3), 143–155. doi: 10.1038/nrmicro.2017.157
- Chan, B. K., & Abedon, S. T. (2012). *Phage Therapy Pharmacology* (p. 1–23). doi: 10.1016/B978-0-12-394805-2.00001-4
- Chang, R. Y. K., Morales, S., Okamoto, Y., & Chan, H.-K. (2020). Topical application of bacteriophages for treatment of wound infections. *Translational Research*, *220*, 153–166. doi: 10.1016/j.trsl.2020.03.010
- Chen, Q., Dharmaraj, T., Cai, P. C., Burgener, E. B., Haddock, N. L., Spakowitz, A. J., & Bollyky, P. L. (2022). Bacteriophage and Bacterial Susceptibility, Resistance, and Tolerance to Antibiotics. *Pharmaceutics*, *14*(7), 1425. doi: 10.3390/pharmaceutics14071425
- Chhibber, S., Shukla, A., & Kaur, S. (2017). Transfersomal Phage Cocktail Is an Effective Treatment against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*-Mediated Skin and Soft Tissue Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(10). doi: 10.1128/AAC.02146-16
- Cranendonk, D. R., Lavrijsen, A. P. M., Prins, J. M., & Wiersinga, W. J. (2017). Cellulitis: current insights into pathophysiology and clinical management. *The Netherlands journal of medicine*, *75*(9), 366–378.
- Dąbrowska, K. (2019). Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review. *Medicinal Research Reviews*, *39*(5), 2000–2025. doi: 10.1002/med.21572
- Del Giudice, P. (2020). Skin Infections Caused by *Staphylococcus aureus*. *Acta dermato-venereologica*, *100*(9), adv00110. doi: 10.2340/00015555-3466
- Deplano, A., Hallin, M., Bustos Sierra, N., Michel, C., Prevost, B., Martiny, D., & Yin, N. (2023). Persistence of the *Staphylococcus aureus* epidemic European fusidic acid-resistant impetigo clone (EEFIC) in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *78*(8), 2061–2065. doi: 10.1093/jac/dkad204
- Diallo, K., & Dublanchet, A. (2022). Benefits of Combined Phage–Antibiotic Therapy for the Control of Antibiotic-Resistant Bacteria: A Literature Review. *Antibiotics*, *11*(7), 839. doi: 10.3390/antibiotics11070839
- Dini, C., Islan, G. A., de Urza, P. J., & Castro, G. R. (2012). Novel Biopolymer Matrices for Microencapsulation of Phages: Enhanced Protection Against Acidity and Protease Activity. *Macromolecular Bioscience*, *12*(9), 1200–1208. doi: 10.1002/mabi.201200109
- Dion, M. B., Oechslin, F., & Moineau, S. (2020). Phage diversity, genomics and phylogeny. *Nature reviews. Microbiology*, *18*(3), 125–138. doi: 10.1038/s41579-019-0311-5

Dreno, B., Martin, R., Moyal, D., Henley, J. B., Khammari, A., & Seité, S. (2017). Skin microbiome and *acne vulgaris*: *Staphylococcus*, a new actor in acne. *Experimental Dermatology*, 26(9), 798–803. doi: 10.1111/exd.13296

Duc, H. M., Zhang, Y., Hoang, S. M., Masuda, Y., Honjoh, K.-I., & Miyamoto, T. (2023). The Use of Phage Cocktail and Various Antibacterial Agents in Combination to Prevent the Emergence of Phage Resistance. *Antibiotics*, 12(6), 1077. doi: 10.3390/antibiotics12061077

Eichenseher, F., Herpers, B. L., Badoux, P., Leyva-Castillo, J. M., Geha, R. S., van der Zwart, M., McKellar, J., Janssen, F., de Rooij, B., Selvakumar, L., Röhrig, C., Frieling, J., Offerhaus, M., Loessner, M. J., & Schmelcher, M. (2022). Linker-Improved Chimeric Endolysin Selectively Kills *Staphylococcus aureus* *In Vitro*, on Reconstituted Human Epidermis, and in a Murine Model of Skin Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(5). doi: 10.1128/aac.02273-21

Fenton, M., Keary, R., McAuliffe, O., Ross, R. P., O'Mahony, J., & Coffey, A. (2013). Bacteriophage-Derived Peptidase  $\text{CHAP-K}$  Eliminates and Prevents Staphylococcal Biofilms. *International Journal of Microbiology*, 2013, 1–8. doi: 10.1155/2013/625341

Glonti, T., & Pirnay, J.-P. (2022). In Vitro Techniques and Measurements of Phage Characteristics That Are Important for Phage Therapy Success. *Viruses*, 14(7), 1490. doi: 10.3390/v14071490

Golembo, M., Puttagunta, S., Rappo, U., Weinstock, E., Engelstein, R., Gahali-Sass, I., Moses, A., Kario, E., Ben-Dor Cohen, E., Nicenboim, J., Ben David, H., Sudakov, K., Cohen, A., Bassan, M., & Zak, N. B. (2022). Development of a topical bacteriophage gel targeting *Cutibacterium acnes* for acne prone skin and results of a phase 1 cosmetic randomized clinical trial. *Skin health and disease*, 2(2), e93. doi: 10.1002/ski2.93

Gouveia, A., Pinto, D., Veiga, H., Antunes, W., Pinho, M. G., & São-José, C. (2022). Synthetic antimicrobial peptides as enhancers of the bacteriolytic action of staphylococcal phage endolysins. *Scientific Reports*, 12(1), 1245. doi: 10.1038/s41598-022-05361-1

Grice, E. A., & Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), 244–253. doi: 10.1038/nrmicro2537

Gutiérrez, D., Fernández, L., Rodríguez, A., & García, P. (2018). Are Phage Lytic Proteins the Secret Weapon To Kill *Staphylococcus aureus*? *mBio*, 9(1). doi: 10.1128/mBio.01923-17

Hamed, Z. O., Awni, A. A., & Abdulamir, A. S. (2023). Novel recombinant endolysin ointment with broad antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds and burns. *Archives of Microbiology*, 205(4), 104. doi: 10.1007/s00203-023-03434-x

Hanif, E., & Hassan, S. A. (2019). Evaluation of antibiotic resistance pattern in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 32(4(Supplementary)), 1749–1753.

Harada, L. K., Silva, E. C., Campos, W. F., Del Fiol, F. S., Vila, M., Dąbrowska, K., Krylov, V. N., & Balcão, V. M. (2018). Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. *Microbiological Research*, 212–213, 38–58. doi: 10.1016/j.micres.2018.04.007

- Hathaway, H., Alves, D. R., Bean, J., Esteban, P. P., Ouadi, K., Mark Sutton, J., & Jenkins, A. T. A. (2015). Poly(N-isopropylacrylamide-co-allylamine) (PNIPAM-co-ALA) nanospheres for the thermally triggered release of Bacteriophage K. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *96*, 437–441. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.09.013
- Hobbs, Z., & Abedon, S. T. (2016). Diversity of phage infection types and associated terminology: the problem with 'Lytic or lysogenic'. *FEMS Microbiology Letters*, *363*(7), fnw047. doi: 10.1093/femsle/fnw047
- Huh, H., Wong, S., St. Jean, J., & Slavcev, R. (2019). Bacteriophage interactions with mammalian tissue: Therapeutic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *145*, 4–17. doi: 10.1016/j.addr.2019.01.003
- Hyman, P. (2019). Phages for Phage Therapy: Isolation, Characterization, and Host Range Breadth. *Pharmaceutics*, *12*(1), 35. doi: 10.3390/ph12010035
- Ibrahim, J., Eisen, J. A., Jospin, G., Coil, D. A., Khazen, G., & Tokajian, S. (2016). Genome Analysis of *Streptococcus pyogenes* Associated with Pharyngitis and Skin Infections. *PLOS ONE*, *11*(12), e0168177. doi: 10.1371/journal.pone.0168177
- Iebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., Mancini, C., Cicerone, C., Corazziari, E., Pantanella, F., & Schippa, S. (2016). Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *The new microbiologica*, *39*(1), 1–12.
- Jamaledin, R., Sartorius, R., Di Natale, C., Onesto, V., Manco, R., Mollo, V., Vecchione, R., De Berardinis, P., & Netti, P. A. (2023). PLGA microparticle formulations for tunable delivery of a nano-engineered filamentous bacteriophage-based vaccine: in vitro and in silico-supported approach. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. doi: 10.1007/s40097-022-00519-9
- Jorńczyk-Matysiak, E., Łodej, N., Kula, D., Owczarek, B., Orwat, F., Międzybrodzki, R., Neuberg, J., Bagińska, N., Weber-Dąbrowska, B., & Górski, A. (2019). Factors determining phage stability/activity: challenges in practical phage application. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *17*(8), 583–606. doi: 10.1080/14787210.2019.1646126
- Kanwal, S., & Vaitla, P. (2023). *Streptococcus Pyogenes*.
- Kasman, L. M., & Porter, L. D. (2023). *Bacteriophages*.
- Kebede, D., Admas, A., & Mekonnen, D. (2021). Prevalence and antibiotics susceptibility profiles of *Streptococcus pyogenes* among pediatric patients with acute pharyngitis at Felege Hiwot Comprehensive Specialized Hospital, Northwest Ethiopia. *BMC Microbiology*, *21*(1), 135. doi: 10.1186/s12866-021-02196-0
- Kim, S. G., Giri, S. S., Yun, S., Kim, H. J., Kim, S. W., Kang, J. W., Han, S. J., Kwon, J., Oh, W. T., Jun, J. W., & Park, S. C. (2020). Synergistic phage–surfactant combination clears IgE-promoted *Staphylococcus aureus* aggregation in vitro and enhances the effect in vivo. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *56*(1), 105997. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105997
- Lam, H. Y. P., Lai, M.-J., Chen, T.-Y., Wu, W.-J., Peng, S.-Y., & Chang, K.-C. (2021). Therapeutic Effect of a Newly Isolated Lytic Bacteriophage against Multi-Drug-Resistant *Cutibacterium acnes* Infection in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(13), 7031. doi: 10.3390/ijms22137031

- Lim, J. S., Park, H., Cho, S., & Yoon, H.-S. (2018). Antibiotic Susceptibility and Treatment Response in Bacterial Skin Infection. *Annals of Dermatology*, *30*(2), 186. doi: 10.5021/ad.2018.30.2.186
- Lin, J., Du, F., Long, M., & Li, P. (2022). Limitations of Phage Therapy and Corresponding Optimization Strategies: A Review. *Molecules*, *27*(6), 1857. doi: 10.3390/molecules27061857
- Linden, S. B., Alreja, A. B., & Nelson, D. C. (2021). Application of bacteriophage-derived endolysins to combat streptococcal disease: current state and perspectives. *Current Opinion in Biotechnology*, *68*, 213–220. doi: 10.1016/j.copbio.2021.01.012
- Linz, M. S., Mattappallil, A., Finkel, D., & Parker, D. (2023). Clinical Impact of Staphylococcus aureus Skin and Soft Tissue Infections. *Antibiotics*, *12*(3), 557. doi: 10.3390/antibiotics12030557
- Loc-Carrillo, C., & Abedon, S. T. (2011). Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*, *1*(2), 111–114. doi: 10.4161/bact.1.2.14590
- Loganathan, A., Manohar, P., Eniyan, K., VinodKumar, C. S., Leptihn, S., & Nachimuthu, R. (2021). Phage therapy as a revolutionary medicine against Gram-positive bacterial infections. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *10*(1), 49. doi: 10.1186/s43088-021-00141-8
- Loh, B., Gondil, V. S., Manohar, P., Khan, F. M., Yang, H., & Leptihn, S. (2021). Encapsulation and Delivery of Therapeutic Phages. *Applied and Environmental Microbiology*, *87*(5). doi: 10.1128/AEM.01979-20
- Luong, T., Salabarria, A.-C., Edwards, R. A., & Roach, D. R. (2020). Standardized bacteriophage purification for personalized phage therapy. *Nature Protocols*, *15*(9), 2867–2890. doi: 10.1038/s41596-020-0346-0
- McShan, W. M., McCullor, K. A., & Nguyen, S. V. (2019). The Bacteriophages of *Streptococcus pyogenes*. *Microbiology Spectrum*, *7*(3). doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0059-2018
- Merabishvili, M., Monserey, R., van Belleghem, J., Rose, T., Jennes, S., De Vos, D., Verbeken, G., Vanechoutte, M., & Pirnay, J.-P. (2017). Stability of bacteriophages in burn wound care products. *PLOS ONE*, *12*(7), e0182121. doi: 10.1371/journal.pone.0182121
- Méric, G., Mageiros, L., Pensar, J., Laabei, M., Yahara, K., Pascoe, B., Kittiwon, N., Tadee, P., Post, V., Lambie, S., Bowden, R., Bray, J. E., Morgenstern, M., Jolley, K. A., Maiden, M. C. J., Feil, E. J., Didelot, X., Miragaia, M., de Lencastre, H., ... Sheppard, S. K. (2018). Disease-associated genotypes of the commensal skin bacterium *Staphylococcus epidermidis*. *Nature Communications*, *9*(1), 5034. doi: 10.1038/s41467-018-07368-7
- Milho, C., Andrade, M., Vilas Boas, D., Alves, D., & Sillankorva, S. (2019). Antimicrobial assessment of phage therapy using a porcine model of biofilm infection. *International Journal of Pharmaceutics*, *557*, 112–123. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.12.004
- Nakase, K., Aoki, S., Sei, S., Fukumoto, S., Horiuchi, Y., Yasuda, T., Tanioka, M., Sugai, J., Huh, W. W., Kakuta, M., Nomoto, M., Shimada, T., Watanabe, M., Kobayashi, M., Murakami, S., Takeo, C., Tsubouchi, R., Hayashi, N., & Noguchi, N. (2020). Characterization of acne patients carrying clindamycin-resistant *Cutibacterium acnes*: A Japanese multicenter study. *The Journal of Dermatology*, *47*(8), 863–869. doi: 10.1111/1346-8138.15397

- Nale, J. Y., & Clokie, M. R. (2021). Preclinical data and safety assessment of phage therapy in humans. *Current Opinion in Biotechnology*, 68, 310–317. doi: 10.1016/j.copbio.2021.03.002
- Natarelli, N., Gahoonia, N., & Sivamani, R. K. (2023). Bacteriophages and the Microbiome in Dermatology: The Role of the Phageome and a Potential Therapeutic Strategy. *International journal of molecular sciences*, 24(3). doi: 10.3390/ijms24032695
- Ng, C. Y., Huang, Y. H., Chu, C. F., Wu, T. C., & Liu, S. H. (2017). Risks for *Staphylococcus aureus* colonization in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Dermatology*, 177(4), 967–977. doi: 10.1111/bjd.15366
- Nsairat, H., Khater, D., Sayed, U., Odeh, F., Al Bawab, A., & Alshaer, W. (2022). Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications. *Heliyon*, 8(5), e09394. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09394
- Ogonowska, P., Gilaberte, Y., Barańska-Rybak, W., & Nakonieczna, J. (2020). Colonization With *Staphylococcus aureus* in Atopic Dermatitis Patients: Attempts to Reveal the Unknown. *Frontiers in microbiology*, 11, 567090. doi: 10.3389/fmicb.2020.567090
- Osborne, D., Tan, P., Varma, Y., & Carbol, J. (2018). Formulating topical products containing live microorganisms as the active ingredient. *Pharmaceutical Technology*, 42(3), 32–36.
- Pal, C., Maciá, M. D., Oliver, A., Schachar, I., & Buckling, A. (2007). Coevolution with viruses drives the evolution of bacterial mutation rates. *Nature*, 450(7172), 1079–1081. doi: 10.1038/nature06350
- Pastagia, M., Euler, C., Chahales, P., Fuentes-Duculan, J., Krueger, J. G., & Fischetti, V. A. (2011). A Novel Chimeric Lysin Shows Superiority to Mupirocin for Skin Decolonization of Methicillin-Resistant and -Sensitive *Staphylococcus aureus* Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(2), 738–744. doi: 10.1128/AAC.00890-10
- Platsidaki, E., & Dessinioti, C. (2018). Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) in acne. *F1000Research*, 7, 1953. doi: 10.12688/f1000research.15659.1
- Podlacha, M., Grabowski, Ł., Kosznik-Kawśnicka, K., Zdrojewska, K., Stasiłojć, M., Węgrzyn, G., & Węgrzyn, A. (2021). Interactions of Bacteriophages with Animal and Human Organisms—Safety Issues in the Light of Phage Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8937. doi: 10.3390/ijms22168937
- Puxty, R. J., & Millard, A. D. (2023). Functional ecology of bacteriophages in the environment. *Current Opinion in Microbiology*, 71, 102245. doi: 10.1016/j.mib.2022.102245
- Qadir, M. I., Mobeen, T., & Masood, A. (2018). Phage therapy: progress in pharmacokinetics. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(1). doi: 10.1590/s2175-97902018000117093
- Qi, Q., Rajabal, V., Ghaly, T. M., Tetu, S. G., & Gillings, M. R. (2023). Identification of integrons and gene cassette-associated recombination sites in bacteriophage genomes. *Frontiers in Microbiology*, 14. doi: 10.3389/fmicb.2023.1091391
- Rimon, A., Rakov, C., Lerer, V., Sheffer-Levi, S., Oren, S. A., Shlomov, T., Shasha, L., Lubin, R., Zubeidat, K., Jaber, N., Mujahed, M., Wilensky, A., Copenhagen-Glazer, S., Molho-Pessach, V., & Hazan, R. (2023). Topical phage therapy in a mouse model of *Cutibacterium acnes*-induced acne-like lesions. *Nature Communications*, 14(1), 1005. doi: 10.1038/s41467-023-36694-8

- Rotman, S. G., Sumrall, E., Ziadlou, R., Grijpma, D. W., Richards, R. G., Eglin, D., & Moriarty, T. F. (2020). Local Bacteriophage Delivery for Treatment and Prevention of Bacterial Infections. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi: 10.3389/fmicb.2020.538060
- Roy, S., Santra, S., Das, A., Dixith, S., Sinha, M., Ghatak, S., Ghosh, N., Banerjee, P., Khanna, S., Mathew-Steiner, S., Ghatak, P. Das, Blackstone, B. N., Powell, H. M., Bergdall, V. K., Wozniak, D. J., & Sen, C. K. (2020). Staphylococcus aureus Biofilm Infection Compromises Wound Healing by Causing Deficiencies in Granulation Tissue Collagen. *Annals of Surgery*, 271(6), 1174–1185. doi: 10.1097/SLA.0000000000003053
- Sabouri Ghannad, M., & Mohammadi, A. (2012). Bacteriophage: time to re-evaluate the potential of phage therapy as a promising agent to control multidrug-resistant bacteria. *Iranian journal of basic medical sciences*, 15(2), 693–701.
- Serm Swan, P., Sriharat, R., Saithong, S., Laowansiri, M., Amornruk, N., Chiewchengchol, D., Noppakun, N., Asawanonda, P., Chatsuwann, T., & Kumtornrut, C. (2023). A cross-sectional study examining the prevalence of antibiotic-resistant *Cutibacterium acnes* isolated from patients with acne in Bangkok, Thailand. *The Journal of Dermatology*, 50(8), 1008–1013. doi: 10.1111/1346-8138.16823
- Shen, Y., Köller, T., Kreikemeyer, B., & Nelson, D. C. (2013). Rapid degradation of *Streptococcus pyogenes* biofilms by PlyC, a bacteriophage-encoded endolysin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(8), 1818–1824. doi: 10.1093/jac/dkt104
- Shimamori, Y., Mitsunaka, S., Yamashita, H., Suzuki, T., Kitao, T., Kubori, T., Nagai, H., Takeda, S., & Ando, H. (2020). Staphylococcal Phage in Combination with *Staphylococcus epidermidis* as a Potential Treatment for *Staphylococcus aureus*-Associated Atopic Dermatitis and Suppressor of Phage-Resistant Mutants. *Viruses*, 13(1), 7. doi: 10.3390/v13010007
- Stevens, D. L., & Bryant, A. E. (2016). *Impetigo, Erysipelas and Cellulitis*.
- Sulakvelidze, A. (2005). Phage therapy: an attractive option for dealing with antibiotic-resistant bacterial infections. *Drug Discovery Today*, 10(12), 807–809. doi: 10.1016/S1359-6446(05)03441-0
- Totté, J. E. E., van der Feltz, W. T., Bode, L. G. M., van Belkum, A., van Zuuren, E. J., & Pasmans, S. G. M. A. (2016). A systematic review and meta-analysis on *Staphylococcus aureus* carriage in psoriasis, acne and rosacea. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35(7), 1069–1077. doi: 10.1007/s10096-016-2647-3
- Totté, J. E. E., van Doorn, M. B., & Pasmans, S. G. M. A. (2017). Successful Treatment of Chronic *Staphylococcus aureus*-Related Dermatoses with the Topical Endolysin Staphfect SA.100: A Report of 3 Cases. *Case Reports in Dermatology*, 9(2), 19–25. doi: 10.1159/000473872
- Turner, D., Shkoporov, A. N., Lood, C., Millard, A. D., Dutilh, B. E., Alfenas-Zerbini, P., van Zyl, L. J., Aziz, R. K., Oksanen, H. M., Poranen, M. M., Kropinski, A. M., Barylski, J., Brister, J. R., Chanisvili, N., Edwards, R. A., Enault, F., Gillis, A., Knezevic, P., Krupovic, M., ... Adriaenssens, E. M. (2023). Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Archives of Virology*, 168(2), 74. doi: 10.1007/s00705-022-05694-2
- Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203–218. doi: 10.1038/s41579-018-0147-4

Vandenheuvel, D., Lavigne, R., & Brüssow, H. (2015). Bacteriophage Therapy: Advances in Formulation Strategies and Human Clinical Trials. *Annual Review of Virology*, 2(1), 599–618. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-054915

Walsh, T. R., Efthimiou, J., & Dréno, B. (2016). Systematic review of antibiotic resistance in acne: an increasing topical and oral threat. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(3), e23–e33. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00527-7

Yang, H., Linden, S. B., Wang, J., Yu, J., Nelson, D. C., & Wei, H. (2015). A chimeolysin with extended-spectrum streptococcal host range found by an induced lysis-based rapid screening method. *Scientific Reports*, 5(1), 17257. doi: 10.1038/srep17257

Zhu, Y., Shang, J., Peng, C., & Sun, Y. (2022). Phage family classification under Caudoviricetes: A review of current tools using the latest ICTV classification framework. *Frontiers in Microbiology*, 13. doi: 10.3389/fmicb.2022.1032186