



## فاز درمانی سبک نوین درمان عفونت‌های باکتریایی و جنبه‌های مختلف آن

عماد بهبودی: گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران  
وحیده حمیدی صوفیانی: گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران (\* نویسنده مسئول) [vahideh.hamidi@ymail.com](mailto:vahideh.hamidi@ymail.com)

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

باکتریوفاز،  
فاز درمانی،  
درمان بیولوژیکی،  
عفونت،  
باکتریایی

**زمینه و هدف:** باکتریوفازها ویروس‌هایی هستند که می‌توانند باکتری‌ها را با کمترین اثر منفی بر روی سلول‌های میزبان انسانی یا حیوانی از بین ببرند. به همین دلیل می‌توان از آنها به تنهایی یا همراه با آنتی بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده کرد. این مقاله مروری بر تعداد قابل توجهی از جنبه‌های استفاده از فازها و محصولات آنها در زمینه پزشکی و به خصوص ضد باکتریایی دارد.

**روش کار:** در این مطالعه مروری که از نوع روائی است کلیه مطالعات تا به امروز مورد بررسی قرار گرفته است و از طریق جستجو در پایگاه‌های داده‌ای همچون PubMed, Scopus, Irandoc و دیگر پایگاه‌های معتبر با جستجوی کلید واژه‌هایی نظیر باکتریوفاز، فاز درمانی، درمان بیولوژیکی، عفونت، باکتریایی آخرین اطلاعات بدست آمده است.

**یافته‌ها:** با توجه به بروز گسترده مقاومت به انواع آنتی بیوتیک‌ها در عفونت‌های مختلف باکتریایی استفاده از باکتریوفازها یکی از بهترین گزینه‌های پیش رو برای درمان بیماری‌های باکتریایی می‌باشند. از این رو جنبه‌های مختلف برای استفاده درمانی در بیماران در سطوح مختلف مورد پژوهش قرار گرفته است و در تمام موارد مزیت استفاده از فازها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مشخص گردیده است.

**نتیجه گیری:** با وجود نیاز به داروهای ضد باکتری جدید و بی خطر، استفاده از فازها بعنوان درمان بیولوژیکی توسط بیشتر پزشکان هنوز مورد توجه قرار نگرفته است، و دلیل این امر احتمالاً ناشی از عدم آشنایی با فاز درمانی است، همچنین دلیل دیگر عدم تصویب دستگاه‌های نظارتی است. ما معتقدیم، با توجه به بحران فراگیر آنتی بیوتیک، این رویکرد مستلزم توجه جدی است.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** حامی مالی نداشته است.

### شیوه استناد به این مقاله:

Behboudi E, Hamidi-Sofiani V. Phage therapy as a new style of treatment for bacterial infections and its various aspects. Razi J Med Sci. 2020;27(5):165-177.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.



## Phage therapy as a new style of treatment for bacterial infections and its various aspects

Emad Behboudi, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Vahideh Hamidi-Sofiani, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran  
(\*Corresponding author) vahideh.hamidi@gmail.com

### Abstract

**Background:** Bacteriophages are viruses that can kill bacteria with the least adverse effect on human or animal host cells). Phage therapy is the use of bacterial viruses (phage) to treat bacterial infections, a medical intervention that has long been abandoned in the West but is now experiencing resurgence. At present, therapeutic phages are often selected based on limited criteria, which are sometimes simple as the ability to bind to pathogenic bacteria. Therefore, the use of therapeutic methods and antibacterial properties of phages is known as phage therapy, especially in clinical or veterinary fields. More widely, phages have been used as biological control agents to reduce the amount of bacteria in food. In addition, modified phages can be used as tools of transmitting DNA, protein or medicine. Various problems in the treatment of many life-threatening bacterial infections have led scientists to review phages. Numerous studies on the use of phage in vitro, in laboratory animals, and in humans have been performed in the United States and Europe. For this reason, phages can be used alone or in combination with antibiotics to treat bacterial infections. This article reviews a number of aspects of the use of phages and their products in the medical and especially antibacterial fields.

**Methods:** In this review study, all studies to date have been reviewed and searched through databases such as Irandoc, Scopus, Google scholar, PubMed and other reputable scientific databases with keyword searches such as bacteriophage, phage therapy, Biological treatment, infection, bacterial and the latest information has been obtained.

**Results:** Due to the high prevalence of antibiotic resistance in different bacterial infections, the use of bacteriophages is one of the best options for the treatment of bacterial diseases. Therefore, different aspects of therapeutic use in patients at different levels have been studied and the advantages of using phages over antibiotics have been determined in all cases. Bacteriophages invade biofilms and in these cases they can be an alternative treatment to antibiotics. Most of studies are on using phages for the topical treatment of bacterial skin infections. Some chronic skin infections, such as acne, may require long-term antibiotic treatment, although they are not life-threatening. The immunosuppressive activity of pure bacteriophages may be an argument for the safety of phage therapy, especially in allograft recipients. Excessive levels of immunosuppression due to the concomitant activity of immunosuppressive drugs and phages can increase the risk of other infections. Obviously, cancer patients and people with immunodeficiency will be at greater risk for infections following phage therapy. The use of bacteriophages, in

### Keywords

Bacteriophages,  
Phage Therapy,  
Biological Treatment,  
Infections,  
Bacterial

Received: 10/06/2020

Published: 15/08/2020

addition to its benefits for the treatment of bacterial infections, has disadvantages such as the narrow range of bacterial hosts for phage, insufficient purity of phage, difficulty in removing integrase genes, phage resistance, Antibiotic resistance, decreased phage function due to neutralizing immune system involvement, pre-prepared phage instability, lack of understanding of phage heterogeneity and function, exaggerated claims about the effectiveness of commercial phage preparation, and Lack of scientific evidence for the effectiveness of phage treatment.

**Conclusion:** Despite the apparent need for new and safe antibacterial drugs, the use of phages as biological therapies by most physicians has not yet been addressed, and this is probably due to a lack of familiarity with phage therapy, as well as another reason for the lack of regulatory approval. We believe that, given the widespread crisis of antibiotics, this approach requires serious attention. Because despite the many restrictions on the use of phages, these biological tools still have many unique applications in medicine.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

---

**Cite this article as:**

Behboudi E, Hamidi-Sofiani V. Phage therapy as a new style of treatment for bacterial infections and its various aspects. Razi J Med Sci. 2020;27(5):165-177.

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

## مقدمه

(۱۴). علاوه بر این، فازهای اصلاح شده می‌توانند به عنوان ابزار انتقال DNA، پروتئین یا داروی مورد استفاده قرار گیرند (۱۵، ۱۶). مشکلات مختلف در معالجه بسیاری از عفونت‌های باکتریایی تهدید کننده زندگی، دانشمندان را به بازنگری در فازها سوق داده است. مطالعات متعددی در مورد استفاده از فاز در شرایط آزمایشگاهی، در حیوانات آزمایشگاهی و در انسان‌ها در ایالات متحده و اروپا انجام شده است (۱۷). با این حال، چندین مشکل در مورد استفاده از فاز برای درمان عفونت‌ها برطرف نشده است، و این توضیح می‌دهد که چرا هیچگونه استفاده‌ای از فاز برای درمان انسان توسط آژانس پزشکی اروپا یا سازمان غذا و دارو مجاز نیست (۱۸، ۱۹). در این بررسی با نگاهی بی‌طرفانه به مزایا و محدودیت‌های فازدرمانی برای انسان پرداخته خواهد شد (۲۰) تا با نمایش جایگاه و پتانسیل این نوع درمان در عصر حاضر بتواند بینش جدیدی را در بکارگیری و شناخت هرچه بیشتر آن فراهم سازد.

## مکانیسم عمل فازها

برای شروع اتصال فاز به باکتری هدف، ساختارهای هر نوع فاز باید نوع خاصی از گیرنده‌های باکتریایی را تشخیص دهند (۲۱، ۲۲). با توجه به جهش‌های تاثیرگذار و مداوم فاز و گیرنده‌های باکتریایی، که اغلب توسط خود فازها با واسطه انجام می‌شوند، یک فاز تنها می‌تواند تعداد محدودی از سویه‌های باکتریایی را آلوده کند و در چندین مورد، فقط یک باکتری واحد را هدف قرار می‌دهند (۲۳، ۲۴). این مسئله اختصاصیت فعالیت فاز را نشان می‌دهد. پس از ورود فاز به سلول، ماشین سنتزی باکتریایی به سمت تولید ژنوم و پروتئین‌های ویروسی هدایت می‌شوند (۲۵، ۲۶). سرانجام، بسته‌بندی فازها اتفاق می‌افتد و سلول‌ها با انتشار ویروس‌های جدید که می‌توانند سلول‌های باکتریایی دیگر را آلوده کنند، لیز می‌شوند (۲۷). با اینحال، اندازه ترکیب باکتری می‌تواند به طور قابل توجهی با توجه به ویژگی‌های فاز، عوامل بیماری‌زا بر علیه آن فازها و محیط‌هایی که در آنها فاز پاتوژن ایجاد می‌شود، متفاوت باشد (۲۸، ۲۹). در مقابل، چرخه لیزوژنیک با ادغام ماده ژنتیکی ویروسی در ژنوم میزبان مشخص

باکتریوفازها ویروس‌هایی هستند که می‌توانند باکتری‌ها را با کمترین اثر منفی بر روی سلول‌های میزبان انسانی یا حیوانی از بین ببرند (۱، ۲). به همین دلیل می‌توان از آنها به تنهایی یا همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده کرد. همانطور که یک ضرب المثل قدیمی می‌گوید: "دشمن دشمن من دوست من است." به اصطلاح باکتریوفازهای لیتیک (Lytic) به ویژه فازهای باکتری‌های بیماری‌زا، مطمئناً می‌توانند دشمن باکتری‌های "بد" و در نتیجه دوستان ما باشند (۳، ۴). پتانسیل فازها به عنوان دارو ضد باکتری تقریباً بلافاصله پس از اولین توصیف‌هایی که از این ویروس‌ها به عنوان موجودات باکتریولیتیک قابل انتقال انجام شده، مطرح می‌باشد (۵، ۶). کشف باکتریوفازها قبل از کشف فلمینگ (۱۹۲۹) و آنتی‌بیوتیک‌های معمول صورت گرفت و به آنها کلمه یونانی "فاز" اطلاق شد (۷، ۸). باکتریوفازها اولین بار به طور مستقل توسط Frederick W. Twort در بریتانیا (۱۹۱۵) و Félix d'Hérelle در فرانسه (۱۹۱۷) کشف شدند (۹).

به نظر می‌رسد "فاز" توصیفی از تأثیر ماکروسکوپی این ویروس‌ها بر باکتری‌ها که شبیه به بلعیده شدن در کشت‌های باکتریایی است می‌باشد (۱۰). فاز درمانی استفاده از ویروس‌های باکتریایی (فاز) برای درمان عفونت‌های باکتریایی است، یک مداخله پزشکی که مدت هاست در غرب رها شده است اما اکنون یک تجدید حیات را تجربه می‌کند. در حال حاضر، فازهای درمانی اغلب بر اساس معیارهای محدود، که گاهی اوقات صرفاً توانایی اتصال به باکتری بیماریزاست، انتخاب می‌شوند. بنابراین استفاده از روش‌های درمانی و ویژگی‌های ضد باکتریایی فازها بخصوص در زمینه‌های بالینی یا دامپزشکی بعنوان فاز درمانی شناخته می‌شود (۱۱، ۱۲). به طور گسترده‌تر، فازها به عنوان عوامل کنترل کننده بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته و باعث کاهش میزان باکتری‌ها در مواد غذایی می‌شوند (۱۳)، که از این دست موارد می‌توان به حذف لیستریا مونوسییتوزنرها در فرآوری مواد غذایی آماده مصرف (بطور مثال کیک و سالاد)، حذف عوامل بیماری‌زا در گوشت دام یا درمان محصولات زراعی گیاهی اشاره کرد

### جداسازی فاژ

کلید مهم در تولید موفقیت‌آمیز دارو، جداسازی و اقدامات در پی آن است. برای فاژ درمانی، اقدامات مختلف و همزمانی باید انجام شود، از جمله تعیین نحوه ترکیب فاژها به مخلوط‌های چند فاژی که به کوکتل فاژ معروف هستند (۴۳). مقاله مروری در این مبحث توسط وبر داوربوسکا و همکاران در مورد مراحل اساسی شامل منابع و روش‌های جداسازی فاژ، انتخاب میزبان‌های فاژ، روش‌های توصیف، معیارهای انتخاب برای اهداف درمانی و محدودیت‌های تهیه فاژ برای درمان بحث می‌کند. آنان خاطر نشان کردند یکی از بزرگترین موانع موفقیت فاژ درمانی در مناطقی از جهان به غیر از اروپای شرقی، قوانین فعلی است. مسئله این است که اگر کارآزمایی‌های بالینی در متقاعد کردن سیاست‌گذاران ناموفق باشند، بعید است که این قانون تغییر کند، اما به نظر می‌رسد که این قانون در آزمایشات بالینی فعلی پتانسیل این روش درمانی را محدود می‌کند. این درحالیست که فاژها به عنوان درمانگر، ابزارهای تشخیصی و ابزاری دقیق برای شکل‌دهی و شناخت میکروبیوم ظرفیت بسیار بالایی دارند (۴۴).

استفاده از فاژها به عنوان داروهای ضد باکتریایی به ویژه برای هدف قرار دادن آن دسته از عوامل بیماری‌زا که گزینه‌های درمانی آنتی‌بیوتیکی محدود دارند، مهم است (۴۳، ۴۵). جداسازی فاژهای مورد نظر می‌تواند از طریق غنی‌سازی نمونه‌ای از مخازن محیط زیست انجام شود (۴۶، ۴۷). جالب توجه است که میزان امکان جداسازی فاژ مبتنی بر غنی‌سازی فاضلاب شهری متفاوت است، و بهترین نتایج برای *Pseudomonas aeruginosa*، *Salmonella coli*، *Escherichia coli* و *Klebsiella* مشاهده شده است (۴۴). این روش در مورد ائتروکوکهای مقاوم به ونکومایسین و *Acinetobacter* کم‌اهمیت‌تر است، در حالیکه جداسازی فاژهای جدید سویه‌های *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین بسیار مؤثر بود (۴۸، ۴۹).

### فاژ درمانی در حیوانات آزمایشگاهی

امروزه، قبل از استفاده بالینی از داروها معمولاً آزمایش بر روی حیوانات انجام می‌گیرد. در فاژ درمانی، از آنجایی که مدتهاست که در حال بررسی بوده، بطور

می‌شود و هنگام تقسیم سلولی، انتقال کروموزوم‌های ویروس به سلول‌های دختر انجام می‌شود (۳۰، ۳۱). در این سلول‌ها ژنوم ویروسی می‌تواند از ژنوم باکتری‌ها جدا شده و فاژ وارد مرحله لیتیک شود. با توجه به توانایی خاص آنها در از بین بردن باکتری‌ها، فقط از فاژ لیتیک برای درمان باکتری‌های عفونی استفاده می‌شود (۳۲).

### گستره میزبانی فاژها

قبل از آزمایش روی حیوانات رویکردهای مختلفی برای توصیف فاژها برای اثربخشی ضد باکتری وجود دارد (۳۳). مهمترین آن دامنه باکتری‌های هدف است (۳۴). به عنوان یک نیاز حداقلی برای فاژ درمانی، فاژ باید بتواند باکتری‌هایی را که از آنها جدا شده، آلوده کند و ویژگی‌هایی منطقی را به نمایش بگذارد. درک مناسب از دامنه میزبانی فاژ برای تولید مخلوط‌های چند فاژی مؤثر، با استفاده از فاژهایی با خصوصیات مشابه به ویژه از نظر دامنه میزبانی ضروری است، زیرا از این طریق امکان کنترل بهتر عفونت فراهم می‌شود (۳۵، ۳۶). با این وجود، برای برخی از کاربردهای فاژ مانند فاژ درمانی و بیوسنسورهای مبتنی بر فاژ، باید در نظر گرفت که دامنه میزبانی یک ویژگی خاص نیست، بلکه می‌تواند با گذشت زمان تغییر یابد، و از این طریق تغییر خصوصیات فاژها در جامعه انجام شود (۳۷، ۳۸). به دلایل واضح، پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو (MDR: Multi-drug-resistant) یک هدف اصلی برای فاژ درمانی هستند. دامنه میزبانی چهار کوکتل فاژ که مورد تأیید قرار گرفته و از نظر تجاری نیز در جورجیا موجود هستند توسط گوندوگدو و همکاران آزمایش شده است (۳۹). در یک پانل از ۱۴۲ سویه بالینی *E. coli* جدا شده در ترکیه که دارای فعالیت گسترده  $\beta$ -لاکتاماز بودند، میزان کوکتل فاژ جدا شده از سویه‌ها از ۵۹/۲ تا ۸۷/۳ درصد متغیر بود، که با توجه به اینکه این گونه‌های باکتری، مقاوم به درمان بودند امیدوارکننده بود. البته مانند درمان آنتی‌بیوتیکی، فاژ درمانی نیز می‌تواند منجر به تکامل مقاومت باکتری شود (۴۰، ۴۱). شناخت افزایش مقاومت از نظر زیست‌شناسی اساسی و دانستن کاربردهای مبتنی بر فاژ مهم است (۴۲).

می دهد. با این حال، کاهش اثر درمانی بدنبال تجویز دارای تاخیر در درمان ممکن است باعث نگرانی برای ایجاد یک فاز درمانی موفق برای درمان عفونت های حاد پاتوژن های مقاوم به چند دارو باشد (۵۶). در مطالعه Takaaki Furusawa مدل های موشی C57BL/6 که دچار کراتیت حاصل از *Pseudomonas aeruginosa* بودند مورد درمان با فازهای *Myoviridae* یا *Podoviridae* قرار گرفتند. این مطالعه نشان داد که فازها به طور موثر به میزبان باکتریایی متصل می شوند. بیش از ۸۰٪ فاز  $\Phi R18$  پس از ۳۰ ثانیه به سلولهای میزبان متصل شدند. در مدل موشی کراتیت، استفاده از فاز در مدت ۳ ساعت نیز می تواند باکتری ها را از بین ببرد و کراتیت را سرکوب کند. تعداد فاز به میزان ۱۰۰ برابر تعداد باکتری میزبان می تواند باکتری های میزبان را بطور مؤثر از بین ببرد (۵۷).

#### تاثیر باکتریوفاز بر مکانیسم دفاعی باکتری

تشکیل بیوفیلم در هنگام عفونت باکتریایی یکی از مهمترین مشکلات کنترل عفونت است (۵۸). باکتری های موجود در بیوفیلمها در برابر ضد میکروبهها بسیار مقاوم هستند (۵۹، ۶۰)، به خوبی از سیستم دفاع میزبان محافظت می شوند و تمایل به ایجاد عفونت های مزمن دارند (۶۱، ۶۲). برخی از باکتریوفازها به بیوفیلمها نفوذ می کنند و در این موارد آنها می توانند یک درمان جایگزین درمان با آنتی بیوتیک باشد (۶۳).

#### فاز درمانی در کارآزمایی بالینی

فاز درمانی کلینیکی درمان یا جلوگیری از عفونت در انسان با استفاده از فازها در عفونت باکتریایی است (۶۴). از نظر کلینیکال، فاز درمانی مجاز برای استفاده معمول در تعداد محدودی از کشورها است هر چند که داده های مربوطه از این موارد محدود است (۶۵). به دلیل الزامات درمانی طولانی مدت در بیماری های مزمن مانند سیستمیک فیروز، بروز مقاومت باکتریایی در فازها مشکل ساز می شود (۶۶). از باکتریوفازها برای درمان عفونت های باکتریایی شامل مکانهای مختلف بدن با داروهای مختلف استفاده شده است. بیشترین تعداد این مطالعات، استفاده از فازها برای درمان موضعی عفونت های باکتریایی پوست است. برخی از عفونت های

سنتی تمایل به استفاده بالینی بیشتر از آزمایش در حیوانات هست (۲۶، ۵۰). فاز درمانی در عصر مدرن با این وجود باید استانداردهای فعلی تولید دارو را اتخاذ کند، بنابراین آزمایش بر حیوانات اساس ضروری استفاده بالینی دارو می باشد و چندین مقاله به آزمایش فازها در حیوانات و آماده سازی فاز اختصاص داده شده است (۳۵). وانگ و همکاران فاز استافیلوکوکی SLPW را برای درمان عفونت های *Methicillin-resistant MRSA (Staphylococcus Aureus)* داخل شکمی در موشها مورد آزمایش قرار داد و مشخص گردید که موشهایی که فاز SLPW دارند، از محافظت بالایی (۸۰٪ بقا) برخوردار بوده و همچنین کاهش عفونت ناشی از افزایش سایتوکاینها را ایجاد کرده اند (۲۶، ۵۱). بنابراین این فاز را به عنوان یک عامل درمانی بالقوه در برابر عفونت های MRSA معرفی کرد. یکی دیگر از پاتوژن های بیمارستانی مقاوم به چند دارو، *Acinetobacter* بود که با استفاده از فاز vB-GEC\_Ab-M-G7 توسط کوثرزاده و همکاران مورد درمان قرار گرفت. در یک مدل زخم موش، این فاز به طور قابل توجهی بار باکتریایی را کاهش می داد (۹، ۵۲).

یکی از مشکلات دارویی در فاز درمانی انتقال فاز از معده به دستگاه گوارش دیستال است. دزبرودسکی و همکاران در یک مدل موش صحرائی نشان دادند که اصلاح محیط معده با استفاده از داروهای رانیئیدین و امپرازول، که تولید اسید معده را کاهش می دهند، از فاز استافیلوکوکی A5/80 محافظت می کند و امکان عبور به روده تحتانی را نیز فراهم می آورد (۲۲، ۵۳). نویسندگان همچنین دریافتند که نفوذ فاز از تجویز خوراکی به گردش خون سیستمیک می تواند در بین فازهای مختلف متفاوت باشد، زیرا فاز A5/80 پس از تجویز خوراکی به کمک داروهای کاهش دهنده اسید، به جریان خون میرسد اما T<sub>4</sub> به طور مشابه تجویز نمی شود (۵۴، ۵۵). Jiun-Ling Wan و همکاران در مدل موشی BALB/c و C57BL/6 از فاز  $\phi km18p$  برای درمان عفونت *Acinetobacter baumannii* استفاده کردند و این مطالعه نشان داد که فاز درمانی میزان بقای حیوانات را افزایش داده و بار باکتریایی و سطح مارکرهای التهابی TNF- $\alpha$  و IL-6 را کاهش



بروند (۷۶).

علاوه بر این، بررسی بقای فاژ T<sub>7</sub> در خون موش‌های سالم و ایمن‌سازی شده، نشان داد که در حالی که در حیوانات دارای نقص ایمنی ترکیبی شدید SCID، تیتراژ فاژ برای مدت طولانی پایدار بودند، در موش‌های سالم ۹۹٪ از فاژها در ۶۰ دقیقه از بین رفتند (۴۳). از آنجایی که تیتراژهای فاژ در موش‌های دارای نقص سلول B پایدار ماند (۷۷)، به نظر میرسد بیشترین میزان حذف فاژ از خون ناشی از تولید آنتی بادی اختصاصی است (۷۸). در مطالعه‌ای در انسان که آنتی ژن پروتئین‌های تشکیل دهنده سر فاژ T<sub>4</sub> در *E. coli* را مطالعه کرده‌اند، گزارش داده‌اند که می‌توان آنتی بادی‌های خاص را در بیش از ۸۰٪ افراد ثبت شده تشخیص داد، اگرچه هیچ یک از آنها فاژ درمانی را دریافت نکردند (۷۹، ۸۰).

با این حال، حتی اگر بطور کامل مشخص نشود، به نظر می‌رسد که پاسخ ایمنی برانگیخته شده توسط فاژها تأثیر چندانی در جلوگیری از حذف باکتری آلوده به فاژ نداشته باشد (۸۱). زیرا لیز باکتری قبل از برانگیختن آنتی بادی اختصاصی رخ می‌دهد (۸۲). علاوه بر این، با استثنائات خاص همچون در شرایط آزاد شدن اندوتوکسین‌ها از باکتری‌هایی که توسط فاژها داخل بدن لیز می‌شوند و همچنین هنگام استفاده همزمان از آنتی بیوتیک‌ها، تجویز فاژ بطور کلی با آسیب بافتی یا افزایش سایتوکاین‌های التهابی پیش‌تهابی و افزایش تولید اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) همراه نیست (۸۳). در مطالعه‌ای که Park و همکاران با استفاده از فاژ در موش‌های مبتلا به *E. coli* انجام دادند مشخص گردید که فاژ T<sub>7</sub> تنها باعث افزایش در سایتوکاین پیش‌تهابی IL-17 می‌شود (۸۴، ۸۵). در مطالعه Tetz و همکاران از یک مدل موش استفاده کردند و نشان دادند که تجویز خوراکی یک مخلوط فاژی تجاری روسیه قادر به افزایش نفوذپذیری روده و بالابردن سطح سرمی کمپلکس‌های ایمنی در گردش خون است که با تعدادی از شرایط پاتولوژیک همراه است. در این مطالعه ادعا شد که تجویز فاژ درمانی احتمال اختلال در عملکرد سد طبیعی روده و پیامدهای جدی مانند بیماری کرون، بیماری التهابی روده و دیابت نوع ۱ را در پی داشته باشد (۸۶). از سوی دیگر اگر فعالیت سرکوب کننده فاژ خالص برای سایر باکتریوفاژها تأیید شود،

مزمین پوستی مانند آکنه، اگرچه تهدید کننده زندگی نیستند می‌توانند به درمان طولانی مدت آنتی بیوتیک نیاز داشته باشند (۶۷). فاژ درمانی آکنه ممکن است یک جایگزین با ارزش برای کاهش مصرف بیش از حد آنتی بیوتیک‌ها در درمان این بیماری باشد، همانطور که توسط Jonczyk-Matysiak و همکاران بررسی شده است (۶۸).

### کنترل عفونت

در مطالعات گذشته فاکتورهای تنظیمی فاژ در باکتری‌های عامل چندین بیماری مشخص شده‌اند. فاژهایی که پژوهشگران پیشنهاد میکنند سازگار با محیط زیست هستند و می‌توانند در مقابل باکتری‌های عامل بیماری خاص استفاده شوند و در صورت ایجاد مقاومت، به راحتی قابل اصلاح می‌باشند (۱۴). در مطالعه‌ای، احمدی و همکاران دریافتند که تجویز فاژ PSE، که علیه سالمونلا فعال است، به طور قابل توجهی این پاتوژن را کاهش می‌دهد (۶۹-۷۱). اقدامات بهبود یافته بیوکنترل علیه سالمونلا شامل انتخاب فاژهایی است که می‌توانند طیف وسیعی از سویه‌های باکتریایی را آلوده کنند (۷۲). در یک نمونه دیگر از کنترل زیستی، هرناندز گزارش داد که باکتریوفاژهای آلوده کننده سراسیبا، که می‌تواند اسب‌ماهی اقیانوس اطلس را خراب کند، از مواد تازه جدا شده و مورد آزمایش قرار گرفتند. کاهش در تعداد سراسیبا بیشتر از ۹۰٪ قبل از درمان با  $10^8$  فاژ در هر گرم بود (۴۲، ۷۳).

### تأثیر سیستم ایمنی بر فاژ درمانی

باکتریوفاژها و محصولات آنها آنتی ژن هستند و جای تعجب نیست که آنها توسط سیستم ایمنی بدن شناخته شوند و پاسخ‌های ایمنی را که باعث می‌شود مزایای استفاده از این فاژها را کاهش دهند، القا کنند. پاسخ ایمنی به فاژها در حیوانات آزمایشگاهی و انسان نشان داده شده است (۷۴، ۷۵). اگرچه با توجه به گونه فاژ، مسیر تجویز و قرار گرفتن در معرض سیستم ایمنی مختلف است. در حیوانات، فاژها چند دقیقه پس از تجویز توسط سلول‌های فاگوسیتیک گرفته شده و ممکن است طی ۲ ساعت توسط این سلول‌ها از بین

داشته باشند. به نظر می‌رسد که فاژها به طور قابل توجهی ایمن‌تر بوده و بهتر تحمل می‌شوند (۹۳، ۹۶، ۹۷)، زیرا آنها فقط در باکتری هدف تکثیر می‌شوند اما نمی‌توانند سلول‌های پستانداران را آلوده کنند (۹۸). در مطالعات گذشته در اروپای شرقی و اکثر مطالعات اخیر که در حیوانات آزمایشی انجام شده است، به دنبال استفاده از فاژها، عوارض جانبی مهمی نظیر ازدیاد حساسیت، سندرم استیون جانسون، اختلالات میکروبیوم مانند کاندیدیازیس مخاطی، اسهال مرتبط با آنتی بیوتیک و حتی اختلالات متابولیک درازمدت ناشی از آنتی بیوتیک‌ها را گزارش نکرده‌اند (۹۹، ۱۰۰). علاوه بر این، تجویز فاژها آسان‌تر است و فاژها برای میزبانان خود بسیار اختصاصی هستند، زیرا ارتباط قفل و کلید بین فاژ و گیرنده‌های باکتریایی به طور معمول دامنه میزبان باکتریایی را که فاژ قادر به آلوده نمودن آن است تعیین می‌کند. پس از اتصال فاژ به میزبان، فاژ مواد ژنتیکی خود را در میزبان رها می‌سازد که در نهایت منجر به مرگ باکتری میزبان می‌گردد (۱۰۱). فاژها نیاز به تجویزهای مکرر پس از گذشت چند روز همانطور که معمولاً برای آنتی بیوتیک‌ها لازم است ندارند، زیرا می‌توانند برای مدت زمان نسبتاً طولانی مدت (تا چند روز) در بدن انسان باقی بمانند (۷). بطور کلی، به دلیل افزایش غلظت فاژ در محل عفونت بعد از تجویز اولیه، دوزهای بسیار کمی مورد نیاز است. برخلاف آنتی بیوتیک‌ها، خاصیت آنها محدود به محل عفونت است که می‌توانند به آن برسند، حتی در صورت وجود باکتری در اندام یا سیستم بدن که ضد میکروبها به سختی می‌توانند در آن نفوذ کنند (۱۰۲). با استفاده از فناوری جدید، تعیین توالی DNA در مقیاس بزرگ و فناوری‌های سنتز DNA، فاژها می‌توانند ساخته شوند تا بتوانند بر برخی از محدودیت‌های درمان آنتی بیوتیکی غلبه کنند (۱۰۳). مثال خوبی از این مسئله این است که با شواهد نشان داده شده که فاژها می‌توانند باعث کاهش بیوفیلم باکتریایی شوند (۱۰۴)، ساختاری که باعث می‌شود باکتری‌ها با درمان آنتی بیوتیکی استاندارد از بین نروند، حتی اگر باکتری‌ها نسبت به داروی تجویز شده حساس باشند (۱۰۵).

می‌تواند پیامدهای بالینی مهمی داشته باشد. از یک طرف، فعالیت سرکوب‌کننده سیستم ایمنی باکتریوفاژهای خالص ممکن است استدلالی برای ایمنی فاژدرمانی، به ویژه در گیرندگان آلوگرافت مطرح شود. از طرف دیگر، سطح بیش از حد سرکوب سیستم ایمنی، ناشی از فعالیت همزمان داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و فاژها، می‌تواند خطر ابتلا به عفونتهای دیگر را افزایش دهد. بدیهی است، بیماران سرطانی و افراد دارای نقایص نقص ایمنی در پی استفاده از فاژها در معرض خطر عفونت‌های بیشتری قرار خواهند گرفت (۸۷).

در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای نشان داده شده است که فاژ T<sub>4</sub> و پروتئین‌های آن در موشهایی که به صورت داخل صفاقی به آنها تزریق فاژ صورت گرفته (۸۸)، تولید سایتوکاین‌های IL-1 $\alpha$ ، IL-1 $\beta$ ، IL-2، IL-6، IL-10، p40/p70، IFN- $\gamma$ ، فاکتور نکروز تومور (TNF- $\alpha$ )، پروتئین مونوسیت (MCP-1)، عامل محرک کلونی گرانولوسیت (G-CSF) و گرانولوسیت-ماکروفاژ عامل تحریک کلونی (GM-CSF) یا ROS را تحت تأثیر قرار ندادند (۸۹، ۹۰).

موارد مشابه توسط هوانگ و همکاران گزارش شده که ایمنی یک کوکتل فاژ را در باکتری *E. coli* نشان میدهد و تأثیر فاژ خوراکی تجویز شده به موشها را به مدت ۴ هفته مطالعه کرد (۹۱، ۹۲). کرمادی و همکاران نیز میزان تأثیر فاژدرمانی را که بصورت استنشاق داخل بینی در یک مدل موشی با عفونت ریوی *B. cenocepacia* تجویز صورت گرفته بود را مورد بررسی قرار داد (۹۳). تراکم باکتری‌ها، پروتئین التهابی ماکروفاژی ۲ (MIP-2) و TNF- $\alpha$  افزایش نیافت بلکه برعکس، در ریه‌های موش‌های تحت درمان نسبت به گروه‌های کنترل نشده به طور معناداری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). از طرف دیگر، داده‌های جمع آوری شده در انسان، به نظر می‌رسد حاکی از بی‌خطر بودن تجویز فاژ باشد، تأیید می‌کنند که حتی در صورت وجود، پاسخ ایمنی به فاژها از نظر بالینی این امر مهم نیست (۹۴، ۹۵).

### مقایسه فاژدرمانی با آنتی بیوتیک‌ها

در مقایسه با آنتی بیوتیک‌ها، فاژها باید چندین مزیت



**جدول ۱- موارد مهم در استفاده از فاژ به عنوان درمان (۱۱۲)**

عوامل مؤثر در فاژتراپی	راه مقابله
روش تجویز: خوراکی، موضعی، درون‌رگی، از طریق بینی، درون پری‌توتن اختصاصیت: فاژ باید از نوع لیتیک بوده و توانایی آلوده‌سازی باکتری هدف را داشته باشد	در بیشتر موارد تجویز درون‌رگی سریع‌تر است استفاده از کوکتل فاژی یعنی ترکیبی از فاژهای مختلف می‌تواند به درمان کمک کند
مقاومت به فاژ: باکتری ممکن است به فاژ مقاوم شود	استفاده از کوکتل فاژی می‌تواند به درمان کمک کند
شرایط محیط: ویژگی‌های فیزیوشیمیایی: دما، اسیدیته و ..	بسیاری از فاژها در اسیدیته کمتر از ۴/۵ تکثیر می‌کنند
خنثی شدن: خنثی شدن توسط آنتی‌بادی یا عوامل دیگر	تجویز مجدد، افزایش دوز، استفاده از کوکتل
دوز و زمان تجویز درمان	انجام درمان در مرحله اولیه عفونت و با کوکتل فاژی مؤثرتر بوده است
غلظت فاژی (MOI)	در مطالعات مختلف از ۰.۰۱ تا ۱۰۰ استفاده شده است

دلیل این امر احتمالاً ناشی از معایب این روش و همچنین عدم وجود مطالعات کافی در این زمینه و عدم آشنایی با فاژدرمانی است، همچنین دلیل دیگر عدم تصویب دستگاه‌های نظارتی است. این مقاله مروری بر تعداد قابل توجهی از جنبه‌های استفاده از فاژها و محصولات آنها در زمینه پزشکی و بخصوص ضد باکتریایی می‌باشد. ما معتقدیم، با توجه به بحران فراگیر آنتی‌بیوتیک، این رویکرد مستلزم توجه جدی است. در نهایت فاژها می‌توانند مانند گذشته در علوم پزشکی همچون انقلابی باشند.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مساعدت جناب آقای امراله شمسی صمیمانه تشکر می‌شود.

### References

1. Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*. 2011;1(2):66-85.
2. Fauquet C, Pringle C. Abbreviations for bacterial and fungal virus species names. *J Aov*. 2000;145(1):197.
3. Burrowes B, Harper DR, Anderson J, McConville M, Enright MC. Bacteriophage therapy: potential uses in the control of antibiotic-resistant pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9(9):775-85.
4. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*. 2014;5(1):226-35.
5. Pires DP, Cleto S, Sillankorva S, Azeredo J, Lu TK. Genetically engineered phages: a review of advances over the last decade. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016;80(3):523-43.

### محدودیت‌ها و معایب فاژدرمانی

استفاده از باکتریوفاژها در کنار فوایدی که برای درمان عفونت‌های باکتریایی دارد، دارای معایبی از جمله محدوده باریک میزبان باکتریایی برای فاژ (۱۰۶)، خلوص ناکافی از فاژ (۱۰۷)، دشواری در حذف ژن‌های اینترگاز (۸۲)، مقاومت به فاژ (۱۰۸)، ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها (۹۲)، کاهش عملکرد فاژ بخاطر درگیری سیستم ایمنی خنثی‌کننده (۱۰۹)، ناپایداری فاژ آماده‌سازی شده (۱۱۰)، عدم درک ناهمگونی و نحوه عملکرد فاژها (۱۱۱)، ادعاهای مبالغه شده درباره اثربخشی آماده سازی فاژ تجاری و عدم وجود اثبات علمی اثربخشی درمان فاژ می‌باشد (۹۳).

### خلاصه‌ای از عوامل مؤثر بر فاژدرمانی

در نهایت لازم است عوامل مؤثر بر فاژدرمانی به عنوان مولفه‌های کلیدی در انتخاب این نوع درمان مورد اشاره قرار گیرد که در جدول ۱ به نمایش در آمده است.

### نتیجه‌گیری

باکتریوفاژها در توسعه زیست‌شناسی مدرن، به ویژه درک فرآیند بیولوژیکی در سطح مولکولی که برای رشد علوم بیولوژیکی مدرن بسیار مهم است، مؤثر بوده‌اند. آنها همچنین از نظر درمانی برای ده هزار سال با سابقه ایمنی مناسب مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اگرچه بهره‌برداری از آنها در زیست‌شناسی مولکولی عقب مانده است.

با این وجود، و با وجود نیاز به درمان‌های ضد باکتریایی جدید و بی‌خطر، استفاده از فاژ توسط بیشتر پزشکان غربی هنوز مورد توجه قرار نگرفته است، و

6. Kutateladze á, Adamia R. Phage therapy experience at the Eliava Institute. *J Memi.* 2008;38(8):426-30.
7. On an invisible microbe antagonistic to dysentery bacilli. Note by M. F. d'Herelle, presented by M. Roux. *Comptes Rendus Academie des Sciences* 1917; 165:373-5. *Bacteriophage.* 2011;1(1):3-5.
8. Lu TK, Koeris MS. The next generation of bacteriophage therapy. *J Coim.* 2011;14(5):524-31.
9. Garcia P, Martinez B, Obeso J, Rodriguez A. Bacteriophages and their application in food safety. *J Liam.* 2008;47(6):479-85.
10. Summers WC. From culture as organism to organism as cell: historical origins of bacterial genetics. *J History Biol.* 1991;24(2):171-90.
11. Bai J, Kim YT, Ryu S, Lee JH. Biocontrol and Rapid Detection of Food-Borne Pathogens Using Bacteriophages and Endolysins. *Front Microbiol.* 2016;7:474.
12. Everett JA. The 12 item social and economic conservatism scale (SECS). *J Po.* 2013;8(12):e82131.
13. Atterbury RJ. Bacteriophage biocontrol in animals and meat products. *Microb Biotechnol.* 2009;2(6):601-12.
14. Buttimer C, McAuliffe O, Ross RP, Hill C, O'Mahony J, Coffey A. Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Front Microbiol.* 2017;8(34).
15. Clark J, Abedon S, Hyman P. Phages as therapeutic delivery vehicles. *Bacteriophages Health Dis.* 2012;86-100.
16. Fischetti VA. Bacteriophage lysins as effective antibacterials. *J Coim.* 2008;11(5):393-400.
17. Boxall AB, Rudd MA, Brooks BW, Caldwell DJ, Choi K, Hickmann S, et al. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? *Environ Health Perspect.* 2012;120(9):1221-9.
18. Tanwar J, Das S, Fatima Z, Hameed SJIpoid. Multidrug resistance: an emerging crisis. *Interdis Perspect Infect Dis.* 2014;2014.
19. Housby JN, Mann NHJDDt. Phage therapy. 2009;14(11-12):536-40.
20. Organization WH. Antimicrobial resistance and primary health care: brief. World Health Organization, 2018.
21. Tzipilevich E, Habusha M, Ben-Yehuda S. Acquisition of phage sensitivity by bacteria through exchange of phage receptors. *Cell.* 2017;168(1-2):186-99. e12.
22. Luo W, Lu Y, Wang G, Shi Y, Wang T, Giesy JP. Distribution and availability of arsenic in soils from the industrialized urban area of Beijing, China. *Cell.* 2008;72(5):797-802.
23. Salmond GP, Fineran PC. A century of the phage: past, present and future. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(12):777.
24. Sausseureau E, Vachier I, Chiron R, Godbert B, Sermet I, Dufour N, et al. Effectiveness of bacteriophages in the sputum of cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(12):O983-O90.
25. Doss J, Culbertson K, Hahn D, Camacho J, Barezzi N. A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. *J Virol.* 2017;9(3):50.
26. Carrillo CL, Atterbury RJ, El-Shibiny A, Connerton PL, Dillon E, Scott A, et al. Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(11):6554-63.
27. Young R. Phage lysis: do we have the hole story yet? *Current opinion in microbiology. Curr Opin Microbiol.* 2013;16(6):790-7.
28. Weinbauer M. Weinbauer MG.. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev.* 2004;28:127-81.
29. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl\_1):S28-S36.
30. Roach DR, Donovan DM. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage.* 2015;5(3):e1062590.
31. Sheng H, Knecht HJ, Kudva IT, Hovde CJ. Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157: H7 levels in ruminants. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(8):5359-66.
32. Salmond GPC, Fineran PC. A century of the phage: past, present and future. *Nature Rev Microbiol.* 2015;13(12):777-86.
33. Weber-Dąbrowska B, Górski A. Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment. *Postepy Hig Med Dosw.* 2007;61:461-5.
34. Mirzaei MK, Nilsson AS. Correction: Isolation of phages for phage therapy: A comparison of spot tests and efficiency of plating analyses for determination of host range and efficacy. *J Po.* 2015;10(5):e0127606.
35. Abedon ST, Garcia P, Mullany P, Aminov RJFim. Phage therapy: past, present and future. 2017;8:981.
36. Xiao X, Wu Z-C, Chou K-CJPo. A multi-label classifier for predicting the subcellular localization of gram-negative bacterial proteins with both single and multiple sites. 2011;6(6):e20592.
37. Ross A, Ward S, Hyman PJFim. More is better: selecting for broad host range bacteriophages. 2016;7:1352.
38. Minot S, Sinha R, Chen J, Li H, Keilbaugh SA, Wu GD, et al. The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet. 2011;21(10):1616-25.
39. Gundogdu A, Bolkvadze D, Kilic H. In vitro Effectiveness of Commercial Bacteriophage

- Cocktails on Diverse Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* Strains. 2016;7(1761).
40. Agún S, Fernández L, González-Menéndez E, Martínez B, Rodríguez A, García PJV. Study of the interactions between bacteriophage phiPLA-RODI and four chemical disinfectants for the elimination of *Staphylococcus aureus* contamination. 2018;10(3):103.
41. Kondo H, Kanematsu S, Suzuki N. Viruses of the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*. *Advances in virus research*. 86: Elsevier; 2013. p. 177-214.
42. de Melo AG, Levesque S, Moineau SJCoib. Phages as friends and enemies in food processing. 2018;49:185-90.
43. Górski A, Dąbrowska K, Międzybrodzki R, Weber-Dąbrowska B, Łusiak-Szelachowska M, Jończyk-Matysiak E, et al. Phages and immunomodulation. 2017;12(10):905-14.
44. Hill C, Mills S, Ross RPJFm. Phages & antibiotic resistance: are the most abundant entities on earth ready for a comeback? 2018;13(06):711-26.
45. Kutter EM, Kuhl SJ, Abedon STJFm. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine. 2015;10(5):685-8.
46. Nguyen S, Baker K, Padman BS, Patwa R, Dunstan RA, Weston TA, et al. Bacteriophage transcytosis provides a mechanism to cross epithelial cell layers. 2017;8(6):e01874-17.
47. Ellström P, Feodoroff B, Hänninen ML, Rautelin HJCM, Infection. Lipooligosaccharide locus class of *Campylobacter jejuni*: sialylation is not needed for invasive infection. 2014;20(6):524-9.
48. Wang Z, Zheng P, Ji W, Fu Q, Wang H, Yan Y, et al. SLPW: A Virulent Bacteriophage Targeting Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* In vitro and In vivo. 2016;7(934).
49. Riede I, Eschbach M-LJFl. Evidence that TraT interacts with OmpA of *Escherichia coli*. 1986;205(2):241-5.
50. Abedon ST. Phage therapy of pulmonary infections. *Bacteriophage*. 2015;5(1):e1020260.
51. Kakasis A, Panitsa GJJJoaa. Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. 2019;53(1):16-21.
52. Gelman D, Eisenkraft A, Chanishvili N, Nachman D, Glazer SC, Hazan RJJot, et al. The history and promising future of phage therapy in the military service. 2018;85(1S):S18-S26.
53. Chadha P, Katare OP, Chhibber SJMp. In vivo efficacy of single phage versus phage cocktail in resolving burn wound infection in BALB/c mice. 2016;99:68-77.
54. Kishor C, Mishra RR, Saraf SK, Kumar M, Srivastav AK, Nath G. Phage therapy of staphylococcal chronic osteomyelitis in experimental animal model. *The Indian journal of medical research*. 2016;143(1):87-94.
55. Mattila S, Ruotsalainen P, Jalasvuori MJFim. On-demand isolation of bacteriophages against drug-resistant bacteria for personalized phage therapy. 2015;6:1271.
56. Wang J-L, Kuo C-F, Yeh C-M, Chen J-R, Cheng M-F, Hung C-HJI, et al. Efficacy of  $\phi$ km18p phage therapy in a murine model of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. 2018;11:2301.
57. Furusawa T, Iwano H, Hiyashimizu Y, Matsubara K, Higuchi H, Nagahata H, et al. Phage therapy is effective in a mouse model of bacterial equine keratitis. 2016;82(17):5332-9.
58. Di Domenico E, Farulla I, Prignano G, Gallo M, Vespaziani M, Cavallo I, et al. Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. 2017;18(5):1077.
59. Cooper RA, Bjarnsholt T, Alhede M. Biofilms in wounds: a review of present knowledge. *Journal of wound care*. 2014;23(11):570, 2-4, 6-80 passim.
60. Jault P, Leclerc T, Jennes S, Pirnay JP, Que YA, Resch G, et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. 2019;19(1):35-45.
61. Abedon ST. Ecology of Anti-Biofilm Agents I: Antibiotics versus Bacteriophages. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland). 2015;8(3):525-58.
62. Kroll J, Kliner S, Schneider C, Voß I, Steinbüchel AJMb. Plasmid addiction systems: perspectives and applications in biotechnology. 2010;3(6):634-57.
63. Abedon ST. Ecology of Anti-Biofilm Agents II: Bacteriophage Exploitation and Biocontrol of Biofilm Bacteria. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland). 2015;8(3):559-89.
64. Castillo DE, Nanda S, Keri JE. therapy. *Propionibacterium* (*Cutibacterium*) *acnes* bacteriophage therapy in acne: Current evidence and future perspectives. 2019;9(1):19-31.
65. Kaistha SD, Umrao PDJRAiB. Recent Novel Biotechnological Applications of Bacteriophages. 186.
66. Patey O, McCallin S, Mazure H, Liddle M, Smithyman A, Dublanche AJV. Clinical indications and compassionate use of phage therapy: personal experience and literature review with a focus on osteoarticular infections. 2019;11(1):18.
67. Kim MJ, Eun DH, Kim SM, Kim J, Lee WJJAoD. Efficacy of Bacteriophages in *Propionibacterium acnes*-Induced Inflammation in Mice. 2019;31(1):22-8.
68. Jończyk-Matysiak E, Weber-Dąbrowska B, Żaczek M, Międzybrodzki R, Letkiewicz S, Łusiak-Szelachowska M, et al. Prospects of Phage

Application in the Treatment of Acne Caused by *Propionibacterium acnes*. 2017;8(164).

69. Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*. 2009;34(4):349-57.

70. Sarker SA, McCallin S, Barretto C, Berger B, Pittet A-C, Sultana S, et al. Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh. 2012;434(2):222-32.

71. Rose T, Verbeke G, De Vos D, Merabishvili M, Vaneechoutte M, Lavigne R, et al. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps. 2014;4(2):66.

72. Mills S, Ross RP, Hill CJFmr. Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology. 2017;41(Supp\_1):S129-S53.

73. Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti E, Huerta B, Gros M, Sánchez-Melsió A, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. 2015;69:234-42.

74. Miedzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Fortuna W, Letkiewicz S, Szufnarowski K, et al. Clinical aspects of phage therapy. *Advances in virus research*. 2012;83:73-121.

75. Hodyra-Stefaniak K, Miernikiewicz P, Drapała J, Drab M, Jończyk-Matysiak E, Lecion D, et al. Mammalian Host-Versus-Phage immune response determines phage fate in vivo. 2015;5:14802.

76. Kazmierczak Z, Piotrowicz A, Owczarek B, Hodyra K, Miernikiewicz P, Lecion D, et al. Molecular imaging of T4 phage in mammalian tissues and cells. *Bacteriophage*. 2014;4(1):e28364.

77. Stent GS, Watson JD, Cairns J. Phage and the origins of molecular biology: Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology; 1966.

78. Srivastava AS, Kaido T, Carrier EJJovm. Immunological factors that affect the in vivo fate of T7 phage in the mouse. 2004;115(1):99-104.

79. Dabrowska K, Miernikiewicz P, Piotrowicz A, Hodyra K, Owczarek B, Lecion D, et al. Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface. *Journal of virology*. 2014;88(21):12551-7.

80. Subirats J, Sánchez-Melsió A, Borrego CM, Balcázar JL, Simonet PJJjoa. Metagenomic analysis reveals that bacteriophages are reservoirs of antibiotic resistance genes. 2016;48(2):163-7.

81. Fish R, Kutter E, Wheat G, Blasdel B, Kutateladze M, Kuhl SJJowc. Bacteriophage treatment of intransigent diabetic toe ulcers: a case series. 2016;25(Sup7):S27-S33.

82. Lin DM, Koskella B, Lin HCJWjogp, therapeutics. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. 2017;8(3):162.

83. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JGJAa, chemotherapy. Bacteriophage therapy. 2001;45(3):649-59.

84. Park K, Cha KE, Myung H. Observation of inflammatory responses in mice orally fed with bacteriophage T7. *Journal of applied microbiology*. 2014;117(3):627-33.

85. Rhoads D, Wolcott R, Kuskowski MA, Wolcott B, Ward L, Sulakvelidze AJJowc. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. 2009;18(6):237-43.

86. Tetz G, Tetz VJGp. Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model. 2016;8(1):33.

87. Borysowski J, Górski AJJJoID. Is phage therapy acceptable in the immunocompromised host? 2008;12(5):466-71.

88. De Paeppe M, Leclerc M, Tinsley CR, Petit M-AJFic, microbiology i. Bacteriophages: an underestimated role in human and animal health? 2014;4:39.

89. Miernikiewicz P, Dabrowska K, Piotrowicz A, Owczarek B, Wojas-Turek J, Kicińska J, et al. T4 phage and its head surface proteins do not stimulate inflammatory mediator production. *PloS one*. 2013;8(8):e71036.

90. Torres-Barceló CJEm, infections. The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria. 2018;7(1):1-12.

91. Abedon STJBaD. Bacteriophage clinical use as antibacterial "drugs": utility and precedent. 2017:417-51.

92. Lekunberri I, Subirats J, Borrego CM, Balcázar JLJEp. Exploring the contribution of bacteriophages to antibiotic resistance. 2017;220:981-4.

93. Principi N, Silvestri E, Esposito SJFip. Advantages and Limitations of Bacteriophages for the Treatment of Bacterial Infections. 2019;10:513.

94. Hwang JY, Kim JE, Song YJ, Park JH. Safety of using *Escherichia coli* bacteriophages as a sanitizing agent based on inflammatory responses in rats. *Food science and biotechnology*. 2016;25(1):355-60.

95. Parsley LC, Consuegra EJ, Kakirde KS, Land AM, Harper WF, Liles MRJAEM. Identification of diverse antimicrobial resistance determinants carried on bacterial, plasmid, or viral metagenomes from an activated sludge microbial assemblage. 2010;76(11):3753-7.

96. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. *Biochemical pharmacology*. 2017;133:4-19.

97. O'Shea YA, Boyd EF. Mobilization of the *Vibrio* pathogenicity island between *Vibrio cholerae*



isolates mediated by CP-T1 generalized transduction. *FEMS Microbiol.* 2002;214(2):153-7.

98. Domingo-Calap P, Delgado-Martinez J. Bacteriophages: protagonists of a post-antibiotic era. *Antibiotics (Basel)*. 2018;7(3):66.

99. Chibani-Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A, Kutter E, Sarker S, Brüssow H, et al. In vitro and in vivo bacteriolytic activities of *Escherichia coli* phages: implications for phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(7):2558-69.

100. Seed KD, Faruque SM, Mekalanos JJ, Calderwood SB, Qadri F, Camilli A. Phase variable O antigen biosynthetic genes control expression of the major protective antigen and bacteriophage receptor in *Vibrio cholerae* O1. *PLoS Pathog.* 2012;8(9):e1002917.

101. Pires DP, Boas DV, Sillankorva S, Azeredo J. Phage therapy: a step forward in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Virol.* 2015;89(15):7449-56.

102. Pouillot F, Chomton M, Blois H, Courroux C, Noelig J, Bidet P, et al. Efficacy of bacteriophage therapy in experimental sepsis and meningitis caused by a clone O25b: H4-ST131 *Escherichia coli* strain producing CTX-M-15. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(7):3568-75.

103. Smith HW, Huggins M. Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs. *J General Microbiol.* 1983;129(8):2659-75.

104. Summers WC. *Felix dHerelle and the origins of molecular biology*: Yale University Press; 1999.

105. Chen Y, Batra H, Dong J, Chen C, Rao VB, Tao P. Genetic Engineering of Bacteriophages Against Infectious Diseases. *J Fim.* 2019;10.

106. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage.* 2011;1(2):111-4.

107. Hietala V, Horsma-Heikkinen J, Carron A, Skurnik M, Kiljunen SJ. The removal of endo-and enterotoxins from bacteriophage preparations. *J Fim.* 2019;10:1674.

108. Örmälä A-M, Jalasvuori M. Phage therapy: should bacterial resistance to phages be a concern, even in the long run? *Bacteriophage.* 2013;3(1):e24219.

109. Krut O, Bekerredjian-Ding IJT. Contribution of the immune response to phage therapy. *J Immunol.* 2018;200(9):3037-44.

110. Malik DJ, Sokolov IJ, Vinner GK, Mancuso F, Cinquerrui S, Vladislavljjevic GT, et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;249:100-33.

111. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. *Ups J Med Sci.* 2019;124(4):218-27.

112. Chatain-ly MH. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Front Microbiol.* 2014;5:51.