

## Bakteriyofaj Tedavisi

Demet Yaman Aydoğan<sup>1</sup>, H. Hüseyin Hadımlı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, 34890, İstanbul

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

Geliş Tarihi / Received: 08.12.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 09.07.2015

**Özet:** Bakterilerin paraziti olan bakteriyofajlar, keşfedildikten sonra bakteriyel hastalıklara karşı tedavide kullanılmaya başlanmış ancak antibiyotiklerin keşfiyle, özellikle Batı ülkelerinde, faj tedavisine ilgi azalmıştır. Günümüzde antibiyotiklere karşı bakteri direncinin oluşması önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu durum, bakteriyel hastalıkların tedavisinde ve profilaksinde alternatif arayışları zorunlu kılmıştır ve faj tedavisi yeniden ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Bakteriyofaj, faj, tedavi

### Bacteriophage Therapy

**Abstract:** Bacteriophages are parasites of bacteria and they had been used in treatment against bacterial diseases since their discovery. However, the discovery of antibiotics, has been decreased interest in phage therapy, especially in Western countries. Nowadays, bacterial resistance against antibiotics has become an important issue. This necessitated the search for alternative therapy to bacterial diseases and prophylaxis so phage therapy has been reconsidered.

**Key words:** Bacteriophage, phage, therapy

### Giriş

Bakteriyofaj (faj), Eski Yunanca'da bakteriyiyen anlamına gelir. Fajlar, 20-30 dakikalık kısa yaşam sikluslarıyla, DNA ya da RNA'ya sahip, basit yapıda virüslerdir. Genellikle sulak alanlarda olmakla beraber, konakçının olduğu her yerde bulunabilirler. Yeryüzünde 1031 faj partikülü olduğu tahmin edilmektedir [31,41].

Memeli hücrelerini enfekte etmeyen fajlar, yalnızca tek bir bakteri türüne, ya da serotipine patojendir [32]. Bakteriyofajlar identifiye edildikten sonra, mevcut bilgilere dayanılarak, patojenlere karşı antibakteriyel ajan olarak hızlı bir şekilde uygulanmaya başlanmıştır ve yaklaşık doksan yıldır farklı alanlarda da kullanılmaktadır [31].

### Tarihçe

İlk olarak 1896'da Ernest Hankin tarafından *Vibrio cholerae*'ya karşı bir antibakteriyel aktivitenin varlığı bildirilmiştir. Nikolay Fyodorovich Gamaleya, *Bacillus subtilis* üzerine çalışırken benzer bir fenomenin varlığını gözlemlemiştir. Frederick Twort, 1915'te, bunun antibakteriyel bir virüs etkinliği

olabileceği hipotezini savunmuştur. D'Herelle, dizanterili hastaların dışkı örneklerinde, "invisible-microbe" (görünmez mikrop) olarak adlandırdığı, bakteri içermeyen filtratlar tespit etmiş, 1917'de "bakteriyofaj fenomeni"ni tanımlamış ve 1919'da fajları dizanteri tedavisinde kullanmıştır [17]. Bakteriyofajlar, elektronmikroskopta ise ilk kez 1940'ta Helmut Rushka tarafından görüntülenmiştir [43].

D'Herelle, bakteriyofajın tavuk ve tavşanlardaki gastrointestinal ve sepsis hastalıklarda etkinliği kanıtlandıktan sonra insanlar üzerinde çalışmış, Shigabakteriyofaj süspansiyonundan önce kendisine, ailesinden üç kişiye ve çalışma arkadaşlarına oral yola uygulayarak, bunun lokal ya da genel herhangi bir olumsuz reaksiyon oluşturmadığını kanıtlamıştır. Bu denemeler faj tedavisinin güvenilirliği konusunda o dönem yeterli kabul edilmiştir. D'Herelle, hıyarcıklı veba (*Yersinia pestis* enfeksiyonu) teşhisi konmuş dört hastanın enfekte aksiller ve inguinal lenf düğümlerine direkt olarak antiplak faj preparasyonu enjekte etmiş ve hastalar iyileşmiştir. Bilim adamı daha sonra, Hindistan, Gürcistan, ABD ve Fransa'da faj terapi ve araştırma merkezleri kurulmasına öncülük etmiştir [42].

Bazı şirketler 1930'dan itibaren farklı patojenlere karşı fajları ticarileştirmeye başlamıştır. Paris'te, çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı beş fajlı ticari preparat (Baktekolifaj, Baktorinofaj, Baktointestifaj, Baktopyofaj, ve Baktostafofaj) üretilmiş ve bu preparatlar daha sonra Fransa'nın en büyük şirketlerinden olacak L'Oreal tarafından pazarlanmıştır. Ayrıca ABD'de 1940'ta, insanlarda kullanılmak üzere yedi faj preparatı üretilmiştir. İkinci Dünya Savaşı sonrası antibiyotiklerin keşfiyle Batı'da terapötik amaçlı faj kullanımı azalmasına rağmen, özellikle eski SSCB (Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği)'de, Gürcistan ve Polonya'daki çalışmalar istikrarlı bir şekilde devam etmiştir [1,41]. Gürcistan'da EIBMV (Eliava Institute of Bacteriophage Microbiology and Virology, 1923) ve Polonya'da HIIET (Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, 1952) fajların araştırılmasında ve üretiminde aktif olmuştur [41].

Faj tedavisi yeniden 1982'de Smith ve Bob Huggins tarafından tekrar canlanmıştır. Batı'daki çalışmalar, Polonya ve eski SSCB'de yapılan çalışmaların tekrar ele alınmasıyla ivme kazanmıştır [31].

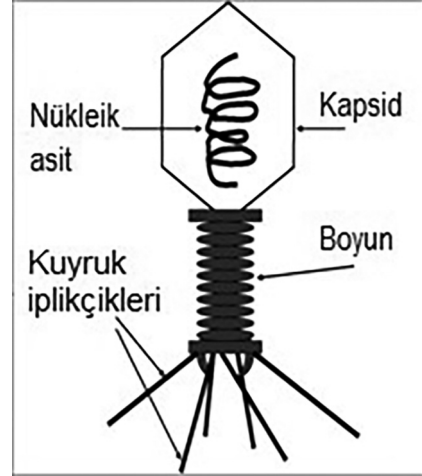
Günümüzde, faj lizinleri, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde tek başlarına potansiyel tedavi unsuru olarak incelenmiş ve dünya çapında, antibakteriyel ajan olarak fajlarla ilgili önemli sayıda araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca FDA, 2006 yılından itibaren gıdalarda koruyucu olarak kullanılan bazı ticari faj preparatlarının üretimini onaylamıştır [31]. Moleküler biyolojinin pek çok sırrı fajlar sayesinde çözülmüştür ve bakteriyofajlar hâlen biyoteknoloji ve moleküler biyolojiye katkıda bulunmaktadır [17].

### Fajın Morfolojisi ve Sınıflandırılması

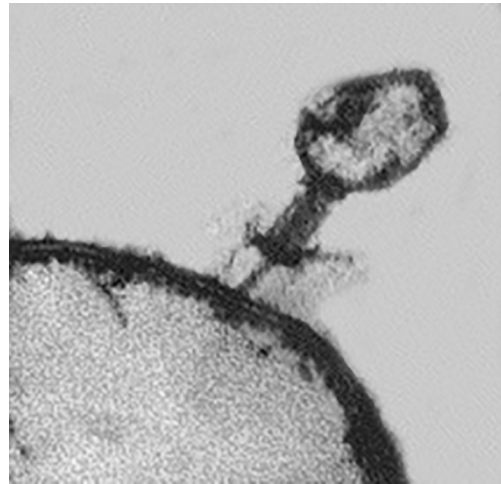
Büyüklikleri 20-200 nm kadardır. Ana yapılarını DNA ya da RNA karakterinde genetik materyal oluşturur.

Tanımlanmış fajlar genel olarak; morfolojik özellikleri, nükleik asit türü, zarf ya da lipidlerin varlığı-yokluğuna göre onüç familyaya ayrılmıştır. Bakteriyofajlar, morfolojik özellikleri bakımından farklılık göstermesine rağmen, %90'ı baş kısmında dsDNA (doublestranded) genomu bulunduran litik fajlardır ve ikozahedral (kübik) simetri gösterirler. Kapsid, bakteri hücresinin yüzeyindeki reseptörlere tutunmada kullanılan, iplikçiklerden oluşmuş bir

kuyrukla bağlanır (Şekil 1). Kuyruk, hedef bakteri reseptörlerine adsorbe olur ve faj DNA'sı bakteri hücrelerine aktarılır (Resim 1) [17]. Bu fajlar; *Myoviridae* (uzun, kasılabilen kuyruk), *Siphoviridae* (uzun, esnek, kasılmayan kuyruk), *Podoviridae* (kısa, kasılmayan kuyruk) olmak üzere morfolojik olarak üç temel aileye ayrılırlar [32].



Şekil 1. Fajın morfolojisi



Resim 1. *Myoviridae* familyasından T4 fajın elektron mikroskop görüntüsü [16]

### Yaşam Döngüsüne Göre Fajlar

Fajlar, litik ve lizojenik siklus olmak üzere iki tür yaşam döngüsüne sahiptir. Litik (virulent) fajlar; sayılarının gittikçe artması (otodozajlama), normal florada minimal bozulma, düşük toksisite, antibiyotiklerle çapraz direnç oluşturmama, hızlı iyileşme

sağlama gibi bir dizi doğal özellikleri nedeni ile potansiyel antibakteriyeldirler [35].

**Litik fajlar:** Bakteriyolitik mekanizmalarına göre ikiye ayrılabilir;

Tek litik faktörle hücre duvarını yıkımlayanlar; bu litik fajlar, küçük, ssDNA veya ssRNA genomuna sahiptir ve hücre duvarı sentezi inhibisyonuyla bakteriyolizisi indükleyen tek bir litik faktörle kodlanmıştır.

Bakteri hücre duvarını virolizin-holin sistemle hidrolize edenler; en bilinenleri, bütün kuyruklu fajları içeren, virolizin-holin sistemle dsDNA kodlayan büyük litik fajlardır. Virolizin, bakteri hücre duvarındaki peptidoglikanı hidrolize eden bir muralitik enzimdir (endolizin) ve stoplazmada üretilir. Holin küçük bir peptit olup, fajın yaşam siklusunda belirlenen (programlanan) bir zamanda virolizinin hücre duvarına erişimine imkan vermek için membranda yıkım oluşturmak üzere oligomerize olur. Hücre lizisi ve projenlerin serbest hale gelmesi holin kontrolünde olur [16].

Tipik litik faj döngüsünde faj, bakteri hücresinin rastgele hareketi sırasında, konağa ait teikoik asit, lipopolisakkarit, oligosakkarit, peptidoglikan, protein gibi yüzey bileşenleri içeren reseptör bölgeleriyle karşılaştığında bağlanma gerçekleşir (adsorbsiyon). Bazı durumlarda kapsül, pili, flagella da reseptör olarak faj tarafından kullanılır. Bakteriyofaj genomunun bakteri hücrelerine enjeksiyon (penetrasyon) mekanizması, virüsün morfolojisine bağlı olarak farklılık göstermekle beraber, genellikle kuyruğun kasılıp bakteri hücre duvarında bir delik oluşturmasıyla açıklanır. Viral genomun, konakçı hücrenin RNA polimeraz enzimiyle transkripsiyonu, erken mRNA oluşumuna neden olur. Bakterinin metabolik mekanizması virüs tarafından ele geçirilir ve metabolik süreç, yeni virüs bileşenlerinin üretilmesine yönlendirilir. Bu komponentler daha sonra biraraya gelerek virionu oluşturur (latent dönem). Projen litik fajlar, serbest kalırken bakteri hücrelerini lize ederek onun hızlı bir şekilde ölümüne neden olur [16,32]. Bakteri lizisi, agar üzerinde plak adı verilen alanları oluşturur.

Enfekte bir bakteri hücrelerinden 100'den fazla faj serbest kalabilir ve bunların her biri yeni bir bakteri hücrelerine bulaşabilir. Enfeksiyon siklusu, tüm

duyarlı bakteri hücreleri ölene kadar devam etme potansiyeli taşır [16].

**Lizojenik (ılımlı) fajlar:** Konakçının yaşam döngüsünün bir bölümünde profaj adı verilen pasif bir halde yer alırlar. Lizojenik döngüde viral DNA genellikle konak hücre DNA'sına entegre olur, bakteriyel DNA replikasyona uğrarken aynı anda faj DNA'sı da çoğalır ve böylece her bir yavru hücre (profaj) viral DNA içerir. Faj, bazen de plasmid olarak yer alır. Konak hücre DNA'sı replike olduğunda profaj DNA'sı da çoğaltılır ve böylece bir sonraki nesle gen aktarılır. İlımlı fajlar, laboratuvar çalışmalarında kullanılmalarına rağmen faj tedavisinde nadiren kullanılır. Bunun nedeni, ılımlı fajların patojenleri %100 öldürmemesi ve "lizojenik fenomen" olarak bilinen ve bazı durumlarda bakterinin daha virulent hale gelmesine neden olan genleri içermesidir [16]. Ancak ılımlı bir faj, gen baskılama teknolojisi kullanılarak bakterinin patojenitesini düşürecek yönde tasarlanabilir [11].

Lizojenik fajlar kendiliğinden litik döngüye girmezler. Ancak bir lizojenik hücre popülasyonu, ortam koşullarının değişmesi ya da değiştirilmesiyle; mitomycin C vasıtasıyla, UV ışığına maruz bırakılarak ya da mutajenik ajanlar vasıtasıyla; lizise indüklenebilir, yüksek sıcaklık ve sabit fazın etkisi altında lizojenik ve litik gelişim arasında geçiş yapabilir [16,17,19,10]. Profaj, kendisinin ve yakın ilişkili fajların gen transkripsiyonunu engelleyen baskılayıcı bir proteini yönetir. Böylece bir profajın varlığı, bakteri hücrelerinde, diğer faj enfeksiyonlarına karşı bir tür bağışıklık kazandırır [16].

Flamentöz morfolojiye sahip bazı fajlar hücre duvarında yıkıcı etki yaratmadan, duvarın içinden geçerek konak hücreden ayrılırlar. Bu fajlar tedaviyle ilgili olarak dikkate alınmazlar [16].

### Faj seçimi, İzolasyonu ve Saflaştırılması

Tüm faj tedavisi protokollerinde ilk adım, faj seçimi ve izolasyonudur. Uygulamada iki şekilde faj seçimi söz konusudur. İlki, tekli faj bileşenlerinden daha geniş bir etkinlik yelpazesine sahip (geniş spektrumlu) ve kısa sürede direnç oluşmasına imkân vermeyen Pyofaj ve intestifaj gibi çoklu faj kokteylleridir. İkincisi, enfeksiyondan ya da doğal ortamdan alınan, önceden iyi tanımlanmış fajla teste tabi tutulan faj seçimidir [1].

Faj izole edilecek örnekler, konağın sıklıkla bulunabileceği ortamlardan alınır; bunlar genellikle su, toprak, bitki artıkları, dışkı, atık su arıtma tesisleridir. Örneğin, enterik patojenlere karşı kullanılan fajlar, doğal olarak dışkı numunelerinden ya da kanalizasyon suyundan izole edilir. Faj izolasyonu yöntemlerinde farklar olsa da temelde aynı yol izlenir. Öncelikle toplanan örnekte faj varlığı tespit edilir.

Direkt izolasyon yönteminde örnek, filtreden geçirilir ve kontaminant mikroorganizma hücrelerinden arındırılır. Su ya da kanalizasyon atıklarında bu uygulanabilir; basit bir santrifüjden sonra, büyük partikül ve hücreleri geçirmeyen, fajların geçişine izin veren bir membran filtre ile filtrasyon uygulanır. Katı örneklerse, steril sıvı besiyeri ya da bufferle karıştırıldıktan sonra santrifüj ve filtrasyona tabi tutulur. Pleytler kaplanır (dilüe edilerek) ve oluşan plaklar incelenir. Konsantrasyon sağlamak isteniyorsa ya da gerekiyorsa, plaklama işleminden önce ultrasantrifüj, ultrafiltrasyon gibi yöntemler uygulanmalıdır [11].

Zenginleştirme ile izolasyonda, uygun besiyerinde üretilmiş konakçıya örnekler ilave edilir, inkübasyonun ardından santrifüj edilir. Faj-Konakçı içerikli suspansiyon filtreden geçirilerek hedef bakteri bulunan agara farklı dilüsyonlarda yayılır, plaklar sayılır. Zenginleştirme, faj miktarının az olduğu durumlara karşı daha geçerli bir yaklaşımdır [11].

Sıvı besiyerinde, bakterilerin neden olduğu bulanıklık, fajlar bakterileri parçaladığında kaybolur. Katı besiyerinde ise fajların bakterileri parçaladığı alanlar açık kalır ve bu bölgeler plak olarak adlandırılır. Bir süspansiyondaki faj sayısı, agar üzerinde plak oluşturan titre ile (plaque forming unit, PFU) ifade edilir. Çift tabaka agar ekim ve Rutin Test Dilüsyon olmak üzere iki sayım yöntemi vardır [15]. Fajlar, liyofilize veya dondurularak kurutulmuş halde uzun yıllar stabil kalabilmektedir [9,11].

### Fajların Kullanım Alanları

İnsan ve hayvanlarda tedaviye yönelik kullanımları dışındaki uygulamalar řu şekilde sıralanabilir;

**Gıda ve tarımda biyolojik kontrol maddesi olarak:** Bakteriyofajlar, karkas ve diğer işlenmiş ürünlerdeki ve taze sebze meyvelerdeki dekontaminasyonları azaltmak, ayrıca ekipmanlarda ve temas

yüzeylerinde dezenfeksiyonu sağlamak, bozulabilir gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak amacıyla doğal koruyucu olarak kullanılabilir.

**Biyoteknoloji:** Çalışmalar, modern biyoteknolojide fajların kullanılabilceğini göstermiştir. Fajlar, gen terapisinde, aşı ve proteinlerin nakil aracı olarak, patojenik bakterilerin tespitinde, protein, peptit ya da antikor kütüphanelerinin taranmasında araç olarak kullanılabilir

**Moleküler biyoloji:** Günümüzde immun tekniklerle gen teknolojisinin değerlendirildiği faj gösterim teknolojisini (faj display), yeni kuşak rekombinant antikorların geliştirilmesinde kullanılmaktadır.

**Bakterilerin identifikasyonu:** Fajlar, gıda kaynaklı ve klinik bakteriyel patojenlerin direkt tespit ve identifikasyonunda araç olarak kullanılır.

**Su ürünleri:** Su ürünleri hastalıklarına karşı alternatif tedavi veya profilakside kullanılma potansiyeli taşırlar, ancak az sayıda çalışma yapılmıştır.

### İnsanlarda Faj Kullanımı

İnsanlarda ilk faj çalışmaları, D'Herelle tarafından dizanterili ve vebalı hastalarda gerçekleştirilmiştir. Tiflis Eliava Enstitüsü'nde, gönüllülerde güvenlik çalışmalarını da içeren, sistemik uygulamalara yönelik faj preparasyonları geliştirilmiştir. Özellikle immun yetersizliği olan hastalarda, bebeklerde, pelvik inflamasyon vakalarında kullanılmıştır. Pyofaj ve İntestifaj gibi fajlar, gazlı gangrene karşı gerek profilaktik gerekse tedavi edici olarak ve askerlerin yara enfeksiyonlarında acil müdahalede başarılı bir şekilde kullanılmıştır [1]. SSCB'nin dağılmasının ardından başlayan Gürcistan Bağımsızlık Mücadelesi'nde (1991-92), savaş için özel olarak geliştirilmiş olan faj preparasyonları uygulanmış ve askerler tarafından Abazya'daki savaş bölgesine faj bidonları taşınmıştır. Fajlar, Rusya ve Gürcistan arasında 2008'de patlak veren savaşta askerlerde tedavi amacıyla yoğun bir şekilde kullanılmıştır [1].

Faj tedavisi, 1981-1986 yılları arasında 550 vakada uygulanmış; hastaların % 92,4'ünde iyileşme, % 6,9'unda belirtilerde gerileme görölmüş ve % 0,7'inde herhangi bir etki oluşmadığı bildirilmiştir.

Postoperatif ya da başka nedenlerden oluşan kronik deri enfeksiyonlarında etken olan *Staphy-*



*lococcus* ve Gram negatif bakterilere (*Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*) karşı uygulanan faj tedavisinde, hastaların %77'sinde iyileşme olmuş, kalan %23'ünde ise yan etkilerin gelişmesine ya da iyileşme belirtisi olmamasına bağlı olarak tedavi durdurulmuştur [1,31].

Oftalmoloji alanında da başarılı faj çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Dautova ve ark, 16'sında prulent kornea ülseri de bulunan travmatik bakteriyel keratitisi 30 hastayı "Pio" bakteriyofajla tedavi etmiştir. Eşit sayıdaki kontrol grubu gentamisin göz damlası ile tedavi edilirken, faj uygulanan hastalar, gentamisin uygulananlardan erken taburcu edilmiştir [1].

Antibiyotiğe dirençli bakteriyel akut konjunktivit olan otuz çocuğa faj uygulanmış, hastaların tamamı yedi günde iyileşmiş, sonraki ay yapılan kontrolde enfeksiyonun nüks etmediği gözlenmiştir [1].

Kanserle eş zamanlı olarak; *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *E. coli*'ye bağlı bakteriyel enfeksiyona yakalanmış, antibiyotikle tedaviye yanıt alınmamış, 20 kanser hastasına faj terapisi uygulanmıştır. Oral yolla günde üç kez faj verilen hastaların tamamı, tedaviyi izleyen 2 ila 9 hafta arasında ( ort. 32 gün ) tamamen iyileşmiştir [45].

Antibiyotiğe dirençli, 94 septisemi olgusu fajla tedavi edilmiş, vakaların 71'inde antibiyotik tedavisi ile faj tedavisi birlikte uygulanmış, kalan 23'üne sadece faj tedavisi uygulanmıştır. Bu tedavide 94 olgunun %85.1'inde iyileşme olurken, %14.9'unda etki görülmemiştir (Weber-Dabrowska ve ark., 2003).

Çeşitli firmalar tarafından, kulak enfeksiyonları, bacak ülserleri ve yanık yaralarının tedavisi için insanlarda klinik faj çalışmaları başlatılmıştır [10]. Stafilokokkal perfore osteomyelit, akut-kronik cerrahi yara enfeksiyonları, inatçı deri ülseri olgularında antistafajlar kullanılarak iyileşme sağlandığı belirtilmiştir (Summers, 2001).

Faj tedavisinde elde edilen başarı ortalama olarak %85'tir ve antibiyotik tedavisinin etkili olmadığı durumlarda, bakteriyel patojenlerle mücadelede faj tedavisinin yüksek etkinliği olduğunu göstermiştir [31].

## Hayvanlarda Faj Kullanımı

Antibiyotiklerin keşfinden sonra ilk önemli çalışmalar 1982-87'de Smith ve Huggins (Institute for Animal Disease Research, Cambridgeshire) tarafından yapılmıştır. Bu deneylerden birinde, potansiyel letal doz olan  $3 \times 10^8$  CFU (colony forming unit) mL-1 *E.coli* K1 enjekte edilmiş farelere, İntramuskuler yoldan tek doz,  $3 \times 10^8$  PFU (plaque forming unit) faj enjekte edilmiş, farelerde tam bir iyileşme sağlanmıştır. Deneyde bazı *E. coli* izolatlarının dirençli olduğu ancak bunların virülensinin daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, tek doz faj tedavisinin; tetrasiklin, ampicilin, trimetoprim, sulfafurazol ve kloramfenikolün çoklu dozlarından daha etkin olduğunu gösterilmiştir. Buzağı, domuz yavrusu ve kuzularda *E. coli* kaynaklı yeni doğan ishalini önlemek için faj başarıyla kullanılmıştır (Smith ve Huggins, 1982). Fare ölümlerinin, Smith ve Huggins'in kullandığı faj oranına bağlı olarak değişkenlik göstermesi çok önemli bir bulgu olmuş ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde fajları başarıyla kullanma umudunu yeniden canlandırmış, Batı'da pek çok araştırmacı bu konuya yönelmiştir [31].

Smith ve Huggins (1983,1987) keçilere uygulanan faj tedavisinden sonra faj dirençli (phage-resistant) *E.coli* mutant oluşumunu tanımlamıştır. Faj tedavisinde mutantların ortaya çıkması olası bir sorun olarak ele alınmıştır. Ancak, çok sayıda çalışmada, karakterize edilmiş olan faj rezistans mutantların, virülensinin daha az olduğu veya hiç olmadığı görüşü ağırlık kazanmıştır. Faj rezistans mutantların, etkinliği en fazla olan fajın tespitinde kullanılabileceği düşünülmüştür [23].

Merril ve ark (1996), farenin kan dolaşımında normalden uzun süre dolaşımında kalan bazı faj spesifik suşları izole etmiştir. Longcirculating denilen bu faj türevleri, farelerde  $\lambda$ vir (w60) (*E.coli* spesifik faj) ve P22vir (R34) (*Salmonella typhimurium* spesifik faj) olarak belirlenmiştir. Çalışma, Longcirculating  $\lambda$  mutantların, asıl suşlardan daha fazla anti bakteriyel etkinlik kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir [28].

*E.coli* K1 suşunun neden olduğu septisemi ve menenjit benzeri bir enfeksiyonda tavuklara, hastalık belirtileri görülmeye başladığında faj uygulanmış ve koruma sağlanmıştır. Aynı çalışmada, kolostrom almamış buzağılar oral yolla *E coli* ile enfekte

edilmiş, sekiz saat sonra İM. faj inokule edilmiştir. Sonuç olarak septisemi oluşumu gecikmiş ve bakterinin yaşam süresi kısalmıştır [2].

Köpeklerde *P. aeruginosa*'nın neden olduğu otitis externaya karşı faj tedavisi üzerine klinik çalışma yapılmış ve sonuçlar, uygulanan faj karışımı tedavisinin etkili olduğu göstermiştir [40].

*P. aeruginosa*'ya bağlı kronik otit gelişen 10 köpekte; kulak içine *P. aeruginosa*' karşı aktif 6 bakteriyofaj süşunun her birinden yaklaşık 105 PFU içeren topikal preparatlar uygulanmıştır. Uygulamadan 48 saat sonra swap alınarak bakteri ve faj sayımı yapılmıştır; faj sayısının arttığı, hedef bakteri sayısının azaldığı, ayrıca tedaviden önce yüksek olan klinik skorların düştüğü tespit edilmiştir. Bu tedavi, fajla enfeksiyon tedavisinde rapor edilmiş ilk klinik veteriner çalışması olmuştur [18].

Broylelerdeki bir *E. coli*'ye bağlı septisemi tedavisinde fajın, İM ve solunum yolu ile uygulandığında etkinliği incelenmiş, kas içi enjeksiyonlarda ölüm oranının azaldığı gözlenmiştir [20].

Broylelerdeki Kolibasilozise karşı bakteriyofaj-Enroflaksasin kombine tedavide mortalite görülmemiştir [22].

Koyun ve sığırlarda *E.coli* O157:H7 sayısını kontrol altına alabilmek amacıyla fajların kullanıldığı çalışmada, rektoanal bölgeye direkt olarak SH1 ve KH1 (spesifik litik fajlar) birlikte uygulandığında *E.coli* O157:H7 sayısında azalma tespit edilmiştir [36].

*S. aureus*' tan kaynaklanan subklinik mastitis olgusunda, *S. aureus* faj K, intramamillar yoldan 5 gün uygulanmış, istatistiksel olarak önemli bir sonuç elde edilememiştir. *S. aureus* izolatları, faj K lizisine duyarlı oldukları halde etkinlik elde edilememiş olması, süt proteinleri ya da meme bezlerindeki enzimatik aktivitenin, faj-hedef bakteri bağlanmasına engel oluşturabileceği üzerinde durulmuştur [12,13].

Tavuklarda *Salmonella typhimurium*'a karşı *Salmonella* spesifik faj kokteyli uygulanan hayvanların ileum ve sekumlarında *Salmonella* sayısının azaldığı, aynı zamanda tavuklarda kilo artışı görülmüştür [31].

Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (VRE) ile enfekte (109 CFU) fareler üzerinde yapı-

lan çalışmada, tek doz İP (intraperitoneal) ve iki yüksek doz (109 ve 108 PFU) olmak üzere litik ENB6 ve C33 fajları kullanılmış ve VRE bakteriyemik farelerin tamamı iyileşmiştir. Bu bakterinin, linezolid, quinupristindalfopristin gibi yeni antibiyotiklere dahi direnç oluşturabilen süşları bulunmaktadır ve alternatif tedavi olarak önemli bir yere sahip olmuştur [3].

Farelerde, MRSA (Metisilin rezistans *S. aureus*) süşları da içeren *S. aureus*'a karşı bakteriyofaj ΦMR11 ile koruma çalışması yapılmıştır. İntraperitoneal olarak 8X10<sup>8</sup> CFU *S. aureus* enjekte edilmiş farelerde bakteriyemi oluşmuş ve enfeksiyon ölümle sonuçlanmıştır. Periton içine ayrı bölgelerden bakteri ve saflaştırılmış faj suspansiyonu verilen farelerde ise ölümlerin baskılandığı gözlenmiştir. Bakteri eradike edilene kadar ΦMR11'in kanda önemli düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir [27].

İlaça dirençli bakteriler, su ürünleri yetiştiriciliğinde de problem olmuş ve balık patojenleriyle mücadele etmek için de fajlar kullanılmıştır. Aynı cinsi balıklardaki *Pseudomonas plecoglossicida* enfeksiyonuna karşı balıkların faj yoluyla korunması üzerine çalışılmıştır [33]. Sarıkuyruk cinsi balıklardaki *Lactobacillus garvieae* enfeksiyonuna karşı intraperitoneal ve oral faj uygulanmış, kontrol grubunda sadece %10 sağkalım, tedavi grubunda %100 iyileşme gözlenmiştir [30].

## Fajın Uygulanma Şekilleri

**Oral:** Oral bakteriyofaj uygulamasının gastrointestinal hastalıkların ve bazı durumlarda sistemik hastalıkların tedavisinde başarılı olduğu gösterilmiştir. Bu uygulamada faj, yiyecek ve içeceklere ilave edilebilir ve kullanımı kolaydır. Patojenik hedef bakteriler, bağırsağa lokalize olduklarından oral yolla verilen fajlar bağırsaklara ulaşabilir. Yüksek mide asiditesi ve proteolitik aktiviteye karşı faj etkinliğinin korunması için polimer mikrokapsülleme, anti-asit uygulaması gibi metotlar kullanılabilir. Son zamanlarda, oral verilen bazı fajların dolaşım sistemi tarafından absorbe edilebildiği gösterilmiştir [35].

**Lokal, topikal:** Lokal ve topikal faj uygulamalarının başarılı olduğu, birçok çalışmayla literatürlerde yer almıştır. *Staphylococci*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus* ve *Escherichia*'dan kaynaklanan; konjunktivit, otit, gingivitis, furunkulozis, dekubitis

ülseri, açık yara enfeksiyonu, yanık, ostit (kırıklardan kaynaklanan), kronik suppuratif fistül gibi enfeksiyonların tedavisinde pyofaj gibi faj kokteylleri ile lokal ve/veya topikal uygulamalar yapılabilmektedir. *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *Streptococcus spp*'yi hedef alan, fajların yanı sıra siproflaksasin de içeren PhagoBioDerm adlı ticari ürün, doğrudan enfekte yaraların üzerine örtülerek, küçük parçalar ya da toz halinde yara üzerine dökülerek veya enfeksiyon bölgesinin içersine yerleştirilerek kullanılabilen bir üründür. Faj preparatındaki temel bir bileşen, yarayı iyileştirmenin yanı sıra, ölü dokuların uzaklaştırılmasını da sağlayarak fajın hızlı üreyen bakterilere erişimini kolaylaştırma özelliğindedir [14,37].

**Aerosol:** Genellikle sprey formunda kullanılmak üzere, kanatlılarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan etkenlere karşı faj tedavi çalışmaları yapılmıştır. Yakın zamanda beşeri tıpta invitro yapılan çalışmada bakteriyofaj solüsyonu nebulizatör kullanılarak uygulanmış ve iyi sonuçlar alınmıştır. Faj titrasyonunun aerosol faj uygulamasının başarısında önemli olduğu anlaşılmıştır [35].

**Rektal:** *E. coli* spesifik KH1 ve SH1 fajları sığırlara rektal yolla verildiğinde bağırsaklardaki O157 sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir. Rusya'da rektal supozituar preparatları marketlerde satılmakla birlikte, rektal faj uygulamasının farmakokinetiği, daha fazla araştırılması gereken bir konudur [25].

**Parenteral:** İM (intramusküler), İP (intraperitoneal) ve SC (supkutane) uygulamalar, özellikle hayvan deneyi çalışmalarında en iyi sonuç alınan uygulama yöntemleri olmuştur. Pek çok çalışmada kullanılmıştır. Fajın, İV verildiğinde bağışıklık sistemi tarafından hızlı bir şekilde elimine edildiği anlaşılmıştır. Bu yöntemle ilgili çok az yayın bulunmaktadır [7].

### Fajların Antibiyotiklerle Karşılaştırılması

1. Bakteriyofajlar, sadece bağırsaktaki patojenleri hedef alır, doğal mikroflorayı etkilemez. Bakteri türüne spesifiktirler.
2. Bakteriyofajların etki mekanizmalarının, tüm antibiyotiklerden farklı olması nedeniyle, çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı bile etkilidirler.
3. Bakteriyofajların sayıları, hedef hücre içersinde kendiliğinden üstel olarak çoğaldığından (otodozaj-

lama) optimum terapötik etki oluşturmak için, çoğu zaman tekrar dozuna gerek yoktur.

4. Fajların, damar yapısı bozuk olan dokulara nüfuz edebileceği ve kan-beyin bariyerini aşabileceğine dair kanıtlar vardır.
5. Bakteriyofajlar yan etki oluşturmazlar. Lizis sırasında ortaya çıkan endotoksinlerin neden olduğu hafif yan etkiler bildirilmiştir.
6. Litik fajla enfekte olan bakteri, canlılığını sürdürmeyeceğinden, bakterinin direnç oluşturma olasılığı azdır. Faj direnci geliştiğinde yeni bir fajın seçilmesi hızlı işleyen bir süreçtir, birkaç gün veya hafta sürer. Faja dirençli bakteriler, benzer hedef aralığındaki diğer fajlara duyarlı kalır.
7. Tedavi dışında profilaktik olarak da kullanılabilir.
8. Özellikle kronik enfeksiyonlarda antibiyotiklere tercih edilmeleri daha az maliyetli olabilir [1,5,16,29,31],

### Önemli Kriterler

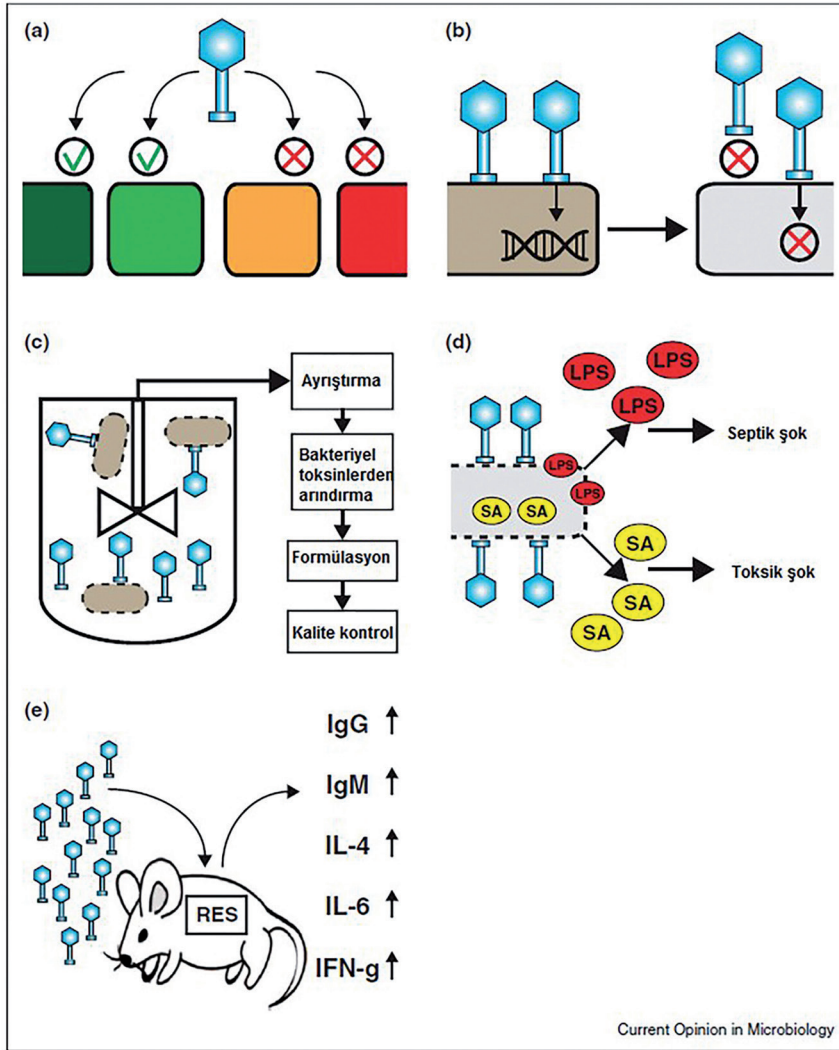
**Faj seleksiyonu:** Tüm fajlar tedavide kullanmaya uygun değildir. Bu nedenle doğru faj seçimi önemlidir. Tedavide kullanılacak faj(lar) kolay sağlanabilir ve hedef bakteriyi öldürecek kombinasyonda olmalı, normal koşullar altında ve sıcaklıkta stabilitesini korumalıdır. Konuyla ilgili etkinlik ve zararsızlık çalışmaları yapılmalı, hatta ideal olanı, tam sekansı belirlenerek, toksigen gibi istenmeyen genlerin olmadığı kesinleştirilmelidir. İlimli ve toksin taşıyan, hedef bakteriye karşı öldürme yeteneği zayıf olan fajlar tedaviye dahil edilmemeli ve seçilecek fajın bakteriler arasında gen transfer (transdüksiyon) potansiyeli düşük olmalıdır. Faj karakterizasyonu için, virion morfolojisine (elektron mikroskop ile), protein profiline, genotip özelliklerine bakılabilir. Sonuç olarak seçilecek fajın ilimli faj olmaması, hastayı etkileyecek virülens faktörleri taşımaması ve antibakteriyel virülensinin olması önemlidir ve bu tespitler için ideal olanı tam-genom sekans analizidir [1,5].

**Konakçı Aralığının Darlığı:** Yapılacak tedavi öncesinde, konakçı aralığı minimum seviyede tutularak patojenin spesifik faja duyarlılığı tespit edilmelidir. Fajlar, diğer antibakteriyellerle veya faj kokteylleri olarak kullanılırsa litik faj spektrumu genişletilebilir.

## Fajların Farmasötik Özellikleri

Farmasötik olarak fajlar, protein temelli ve canlı ajanlar olduğundan hastanın immun sistemiyle etkileşime girme potansiyeli taşır. Bakteri hücrelerinin lize edilmesiyle serbest kalan bakteriyel toksinler, immun sistemle etkileşime girebilir (Şekil 2) . An-

cak protein bazlı ilaçlar, bakteriyel lizis oluşturabilecek kimyasal antibiyotikler, zayıflatılmış canlı aşılarda vücutta benzer etkiler gösterme potansiyeli taşımalarına rağmen kullanımlarına izin verilmiştir. Bu nedenle faj bazlı farmasötikler de değerlendirme dışı bırakılmamalıdır [1,5].



Şekil 2. Klinik faj tedavisinde karşılaşılabilecek engellere genel bakış [46]

- (a) Fajlar dar spektrumlu antimikrobiyal ajanlardır, bu nedenle geniş bir hedef bakteri spektrumuna karşı etkinlikleri olmayabilir.
- (b) Bakteriler, çeşitli intra ve ekstraselüler mekanizmalarla faja karşı direnç geliştirebilir.
- (c) Bakteriyofaj elde etme süreci; üretim, saflaştırma, formülasyon ve kalite kontrol olmak üzere çok basamaklıdır. Bu süreç, endotoksin ve lizisle ortaya çıkan diğer hücrel toksinlerin varlığı ve multifaj kokteyllerine ihtiyacın olması gibi nedenlerle karmaşıklaşır.
- (d) İn vivo hücre lizisi sırasında serbest kalan toksinler, sistemik inflamatuvar bir yanıtı tetikleyerek sepsis ve toksik şoka neden olabilir.
- (e) Bakteriyofaj konağın immun sistemi tarafından ortadan kaldırılabilir.



## Sonuç

Yıllardır yapılan faj tedavi çalışmalarının geldiği noktada, etkin olmayan fajların, faj Yıllardır yapılan faj tedavi çalışmalarının geldiği noktada, etkin olmayan fajların, faj rezistans bakterilere karşı daha etkili olan mutant fajlar oluşturularak ya da yeni fajlarla güncellenmesi önem kazanmaktadır. Gürcistan ve Polonya’da, faj terapi merkezlerindeki faj bankalarında, düzenli olarak güncellenen çok sayıda farklı faj bulunmaktadır. Bazı durumlarda faj hastadan izole edilmekte (otofaj) ve bu prosedür birkaç gün ya da hafta sürmektedir. Ancak bu uygulamalar, geçerli ruhsatlandırma süreçlerine uygun bulunmamaktadır. Avrupa İlaç Ajansı (EMA - European Medicines Agency) bakteriyofajları, “Tıbbi Biyolojik Ürün” olarak kayıtlarına almıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi’nin (US FDA- Food and Drug Administration) öne sürdüğü gerekli test sayısı ve araştırmalar, faj tedavisinin canlanmasını ciddi şekilde etkilemektedir. Otoritelerin yaklaşımına karşın, bazı firmalar pahalı lisanslama koşullarıyla ürünlerini pazarlamaktadır [34].

Gün geçtikçe küresel bir sorun haline gelen antibiyotik direnci ve antibiyotik kullanımının maliyetli olması; insanlarda ve evcil hayvanlarda, su ürünleri yetiştiriciliğinde, bazı bitkilerde patojen bakterilere karşı korunma-tedavide faj ve diğer alternatiflerin kullanılması konusunu zorunlu kılmaktadır. Fajlar, modern teknolojiler kullanılarak ve plasebo kontrollü çalışmalara devam edilerek, ilaç rezistans bakterilere karşı ve hâlâ duyarlı olan bakterilere karşı antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında başarı şansı yüksektir. Veterinerlik ve kamu sağlığı alanında bu konuyla ilgili gelişmeler sağlanması, araştırma projelerinin mali olarak desteklenmesine bağlıdır [26].

## Kaynaklar

1. Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM, (2011). Phage treatment of human infections. *Landes Bioscience Journals, bacteriophage*,1, 66-85.  
<http://www.landesbioscience.com/journals/bacteriophage/article/15845>
2. Barrow P, Lovell M, Berchieri AO Jr, (1998). Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 5, p. 294-98.
3. Biswas B, Adhya S, Washart P, Paul B, Trostel AN, B. Powell, Carlton R, Merrill CR, (2002). Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun*.70, 204-210.
4. Bruttin A, Brussow H, (2005). Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents*. 49, 2874-2878
5. Carrillo CL, Abedon ST, (2011). Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*, 1, 111-14 <http://www.landesbioscience.com/journals/bacteriophage/LocCarrilloBP1-2.pdf>
6. Chanishvili N, Chanishvili T, Tediashvili M, Barrow PA, (2001). Phages and their application against drug resistant bacteria, *J Chem Technol Biotechnol*.76, 689-699.
7. Clark JR, March JB, (2006). Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials. *Trends in Biotechnology*. 24, 212-218.
8. Connerton PL, Loc CarrilloCM, Swift C, Dillon E, Scott A, Rees CED, Dodd CER, Frost J, Connerton IF, (2004). Longitudinal study of *Campylobacter jejuni* bacteriophages and their hosts from broiler chickens. *Appl environ microbiol*. 70, 3877-3883.
9. Fortier LC, Moineau S, (2009). Phage production and maintenance of stocks, including expected stock lifetimes. Martha R. J. Clokie, Andrew M. Kropinski (eds.), *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, characterization, and interactions*, humana press, a part of springer science,business media. 501, 203-219
10. Fortuna W, Międzybrodzki R, Dąbrowska B, Dąbrowska W, Górski A, (2008). Bacteriophage therapy in children: Facts and prospects. *Med Sci monit*. 14, 126-132.
11. Gill JJ, Hyman P, (2010). Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy. 11, 2-14
12. Gill JJ, Pacan JC, Carson ME, Leslie KE, Griffiths MW, Sabour PM, (2006a). Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle. *Antimicrob agents chemother*. 50, 2912-2918
13. Gill JJ, Sabour PM, Leslie KE, Griffiths W, (2006b). Bovine whey proteins inhibit the interaction of *Staphylococcus aureus* and bacteriophage K J. *Appl Microbiol*. 101, 377-386
14. Goodridge LD, (2010). Designing phage therapeutics, 11, 15-27.
15. Gürgün V, Halkman K, (1990). Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği. Yayın no 7. <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF10F86F55954CBB47>
16. Hanlon GW, (2007). Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *IJAA*. 30, 118-128.
17. Haq UI, Chaudhry WN, Akhtar MN, Andleeb S, Qadri I, (2012). Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virology Journal*. (9), 1-9.
18. Hawkins C, Harper D, Burch D, Anggard E, Soothill J, (2010). Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: A before/after clinical trial. *Veterinary microbiology*. (146) 309-313.
19. Hudson JA, Billington C, Carey-Smith G, Greening G, (2005). Bacteriophages as biocontrol agents in food. *Journal of Food Protection*, 68, 426-437

20. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM, (2003). Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an Escherichia coli respiratory infection. Poultry science. 82, 1108-1112.
21. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Xie H, Moore PA, Donoghue AM, (2002). Prevention of Escherichia coli respiratory infection in Broiler chickens with bacteriophage (SPR02). Poultry Science. 81, 437-441.
22. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM, (2004). Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (Enrofloxacin) individually and in combination to treat Colibacillosis in broilers. Poultry science. 83, 1944-1947.
23. Johnson RP, Gyles CL, Huff WE, Ojha S, Huff GR, Rath NC, Donoghue AM, (2008). Bacteriophages for prophylaxis and therapy in cattle, poultry and pigs. Cambridge University Press ISSN 1466-2523, Animal Health Research Reviews. 9, 201-215
24. Kramberger P, Honour RC, Herman RE, Smrekara F, Peterka M, (2010). Purification of the Staphylococcus aureus bacteriophages VDX-10 on methacrylate monoliths, 166, 60-64
25. Letarov AV, Golomidova AK, Tarasyan KK, (2010). Ecological basis for rational phage therapy. Acta naturae. 2, 60-72.
26. Levin BR, Bull JJ, (2004). Population and evolutionary dynamics of phage therapy. Nature Reviews Microbiology. 2, 166-173.
27. Matsuzaki S, Yasuda M, Nishikawa H, Kuroda M, Ujihara T, Shuin T, Shen T, Jin Z, Fujimoto S, Nasimuzzaman MD, Wakiguchi H, Sugihara S, Sugiura T, Koda S, Muraoka A, Imai S, (2003). Experimental protection of mice against lethal Staphylococcus aureus infection by novel bacteriophage  $\phi$  MR11. JID. 2003, 187, 613-624.
28. Merrill CR, Biswas B, Carlton R, Jensen NC, Creed GJ, Zullo S, Adhya S, (1996). Proc. Longcirculating bacteriophage as antibacterial agents. Natl Acad Sci USA. 93, 3188-3192.
29. Międzybrodzki R, Fortuna W, Dąbrowska BW, Górski A, (2007). Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment. Postepy Hig Med Dosw. 61, 461-465.
30. Nakai T, Park SC, (2002). Bacteriophage therapy of infectious diseases in aquaculture. Research in Microbiology. 153, 13-18.
31. O'Flaherty S, Ross RP, Coffey A, (2009). Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. FEMS. 33, 801-819.
32. Parisien A, Allain B, Zhang J, Mandeville R, Lan CQ, (2007). Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. J Appl Microbiol. 104, 1-13.
33. Park SC, Shimamura I, Fukunaga M, Mori K-I, Nakai T, (2000). Isolation of bacteriophages specific to a fish pathogen, Pseudomonas plecoglossicida, as a candidate for disease control. APPL environ microbiol. 66, 1416-1422.
34. Pirnay JP, De Vos D, Verbeken G, Merabishvili M, Chanishvili N, Vaneechoutte M, Laire MZG, Lavigne R, Huys I, Mooter GV, Buckling A, Debarbieux L, Pouillot F, Azeredo J, Kutter E, Dublanchet A, Górski A, Adamia R, (2011). The phage therapy paradigm: prêtàporter or surmesure? Springer Science Pharm Res. 28, 934-937.
35. Ryan EM, Gorman SP, Donnelly RF, Gilmore BF, (2011). Recent advances in bacteriophage therapy: how delivery routes, formulation, concentration and timing influence the success of phage therapy. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 63, 1253-1264.
36. Sheng H, Knecht HJ, Kudva IT, Hovde CJ, (2006). Application of bacteriophages to control intestinal Escherichia coli O157:H7 levels in ruminants. APPL Environ Microbiol. 72, 5359-5366.
37. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz- Krukowska A, (1987). Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. Arch Immunol Ther Ex. 35: 569-583.
38. Smith HW, Huggins MB, (1982). Successful treatment of experimental Escherichia coli infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. J gen microbiol. 128, 307-318.
39. Smrekar F, Ciringer M, Peterka M, Podgornik A, Strancar A, (2008). Purification and concentration of bacteriophage T4 using monolithic chromatographic supports. J Chromatogr AnalytTechnol Biomed LifeSci. 861, 177-180.
40. Soothill J, Hawkins C, Anggård E, Harper D, (2004). Therapeutic use of bacteriophages. The Lancet Infectious Diseases. 4, 544-545.
41. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris Jr JG, (2001). Bacteriophage therapy. ASM Antimicrob Agents Chemother. 45, 649-659.
42. Summers WC, (2001). Bacteriophage therapy. Annu Rev Microbiol. 55, 437-451.
43. Ustaçelebi Ş, Okuyan M, Odabaşıoğlu N, (1968). T4 R mutant bakteriyofajları ile serolojik deneyler ve normal insan serumlarının faj enfeksiyonunda stimulan etkisi. Mikrobiyoloji Bülteni. 4, 131-141.
44. Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A, (2003). Bacteriophages as an efficient therapy for antibiotic-resistant septicemia in man. Transplant Proc. 35, 1385-1386
45. Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A, (2001). Bacteriophage therapy for infections in cancer patients. Clin Applied Immunol Rev. 1, 131-134.
46. Yoshida K, Nasau Y, Shitami N, Toyoda H, Takemura H, Oomori K, (2009). A novel convenient method for high bacteriophage titer assay. Oxford University Press, Nucleic Acids Symposium Series. 53, 315-316.
46. Lu TK, Koeris MS, (2011). The next generation of bacteriophage therapy. Current opinion in microbiology. 14, 524-31.