

Bakteriyofaj Terapisi: Unutulmuş Bir Şifa Kaynağı

Bacteriophage Therapy: An Unforgetten Source of Cure

Aycan Gündoğdu¹, Ayşegül Ulu-Kılıç²

¹Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Özet

Hastane kökenli patojenler başta olmak üzere, mikroorganizmalarda görülen çoklu antibiyotik direnci halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bilim insanları, artan antibiyotik direnci gelişimine radikal bir çözüm getiremezken, uygun klinik durumlarda tedavi alternatifleri arayışı hızla devam etmektedir. Bakteriyofaj (faj) terapisi 1920-1950 yılları arasında oldukça popüler olmasına rağmen, çeşitli sebeplerle dünyanın büyük bir kısmında terk edilen ve bugün tekrar hatırlanan bir yöntem olarak alternatif terapilerin başında yer almaktadır. Enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji alanındaki bu yeniden keşif sürecinde, faj terapisinin ilginç tarihi, terk edilme sebepleri, antibiyotiklere göre üstünlükleri/zayıflıkları ve yeniden klinik kullanıma girmesiyle ilgili kaygılar hakkındaki bilgilerin gözden geçirilmesi önem taşımaktadır.

Klimik Dergisi. 2018; 31(2): 78-87.

Anahtar Sözcükler: Bakteriyofajlar, faj terapisi, çoğul ilaç direnci.

Abstract

Multidrug resistance observed in microorganisms, especially in hospital-based pathogens, poses a serious public health threat. While scientists have not been able to develop a radical solution for the increasing antibiotic resistance problem, the search for treatment alternatives in appropriate clinical settings continues consistently. Although bacteriophage (phage) therapy was quite popular between 1920 and 1950, it has been abandoned in many parts of the world due to various reasons, nowadays it is again at the agenda and is at the forefront of alternative therapies. In this rediscovery process in area of infectious diseases and clinical microbiology, it is important to consider the interesting history of phage therapy, the reasons for abandonment, the advantages/disadvantages over antibiotics, and the concerns about deployment in clinical use.

Klimik Dergisi. 2018; 31(2): 78-87.

Key Words: Bacteriophages, phage therapy, multiple drug resistance.

Giriş

Bakteriyofaj (faj), sadece bakterileri infekte etme özelliğinde olan virusların genel adıdır. Fajlar doğada bakterilerle simbiyotik bir ilişki içerisinde yaygın olarak bulunmaktadır. Biyosferde yaklaşık 10^{30} - 10^{32} faj partikülü olduğu, saniyede yaklaşık 10^{23} faj enfeksiyonu gerçekleştiği ve her 48 saatte dünyadaki bakterilerin yaklaşık yarısının fajlar tarafından yok edildiği öngörülmektedir. Bakteriyofaj terapisi, en basit ifadeyle enfeksiyondan sorumlu bakteriye karşı tedavi amaçlı fajın uygulanmasıdır. Belirli dozdaki saflaştırılmış fajın hastaya verilmesinin ardından, fajın enfeksiyon etkeniyle antagonistik rekabete girmesi ve patojeni kısa sürede eradike etmesi, bakteriyofaj terapisinin temel prensibini oluşturmaktadır. Tipik

olarak fajlar konağını (bakteri) üzerindeki reseptörlerden tanıyarak bağlanmaktadır. Bu bağlanma yüksek derecede spesifiktir ve genellikle sadece bir bakteri türünü hatta suşu hedef almaktadır. Bağlanmanın ardından faj, genomunu bakteri içine injekte ederek kendi genlerini eksprese ettirir. Tedavide kullanılan litik fajlarda konak parçalanarak yüzlerce faj progenisinin salınımı gerçekleşir. Bütün bu süreç, faj türüne göre değişmekle birlikte, genel olarak 15 dakika civarındadır. Salınan faj progenisinin ortamdaki diğer konak hücreleri infekte etmesiyle litik döngü sürer gider (1).

Antibiyotiklerle karşılaştırıldığında fajlar, oldukça spesifik konak özelliğine sahip olmaları sebebiyle, hedef olmayan bakterilere ve vücut dokularına karşı çok az et-

Cite this article as: Gündoğdu A, Ulu-Kılıç A. [Bacteriophage therapy: An unforgetten source of cure]. *Klimik Derg.* 2018; 31(2): 78-87. Turkish.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Aycan Gündoğdu, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

E-posta/E-mail: agundogdu@erciyes.edu.tr

(Geliş / Received: 27 Şubat / February 2017; Kabul / Accepted: 20 Mayıs / May 2018)

DOI: 10.5152/kd.2018.22



kinlik gösterirler. Ek olarak, tedavi amaçlı kullanılan faj preparatlarının üretim maliyetleri oldukça düşüktür ve antibiyotik hedeflerinden bağımsız olarak hızlı bakterisid etki gösterirler.

Fajlar 20. yüzyılın başlarında bakteriyel infeksiyonların tedavisinde tüm dünyada yaygın olarak kullanılmıştır. Fakat antibiyotiklerin kullanıma girmesi ve erken dönem faj terapisi çalışmalarıyla ilgili çeşitli olumsuzluklar sebebiyle belirli ülkeler (Gürcistan, Polonya, Rusya vb.) dışında uzunca bir süre unutulmuştur. Bugün, ESKAPE patojenler (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Enterobacter* spp.) başta olmak üzere, çoklu dirençli mikroorganizmalar için antibiyotik seçeneklerinin kısıtlı olması –ve bu kısıtlı seçeneklere dahi hızla direnç gelişmesi– faj terapisinin tekrar gündeme gelmesine sebep olmuştur (2). Her ne kadar son zamanlarda faj terapisi tekrar hatırlanmış olsa da, daha önce “terk edilmiş bir yaklaşım olması” sebebiyle bilim insanlarının bir kısmı günümüzde yöneme kuşkuyla yaklaşmaktadır. Ancak faj terapisinin zamanla terk edilmeye yüz tutmasının sebebinin, yöntemin başarısızlığı veya düşük güvenilirliği mi, yoksa diğer sosyal ve bilimsel gelişmeler mi olduğu hakkında daha belirgin bir fikre sahip olabilmek için öncelikle bakteriyofaj terapisinin tarihine göz atmak gerekmektedir.

Tarihsel Perspektif: Tartışmalı Bir Keşif

Fajların etkinliği çeşitli mikrobiyologlar tarafından farklı zamanlarda gözlemlenmiş olsa da, bunun bir fenomen olarak bildirilip hakkında hipotezlerin ortaya atılması 20. yüzyılın başlarına denk gelmektedir. İngiliz bakteriyolog Ernest Hankin (1865-1939), ilk olarak 1896 yılında Hindistan’daki Ganj ve Yamuna nehirlerinin sularında *Vibrio cholerae*’ye karşı antibakteriyel etkinlik tespit etmiş ve buna porselen filtrelerden geçebilen henüz tanımlanmamış küçük yapıların sebep olduğunu, hatta bu fenomenin bölgedeki kolera salgınlarını önemli ölçüde engellediğini bildirmiştir (3). Benzer sonuçları farklı araştırmacılar da gözlemlemekle birlikte, İngiliz bakteriyolog Frederick Twort (1877-1950)’tan önce hiçbir bilim insanı bu fenomeni açıklayan bir görüş ortaya atmamıştır. Twort (4), 1915 yılında antibakteriyel etkinliğin –başka seçeneklerle birlikte– virus kaynaklı olabileceğini iddia etmiştir. Öte yandan aynı yıllarda Paris’te Pasteur Enstitüsü’nde benzer bulgular üzerinde çalışan Fransız-Kanadalı bakteriyolog Felix d’Herelle (1873-1949) bu çalışmaları daha da ileri götürerek bakterileri infekte eden virüslere “bakteriyofaj” ismini vermiştir. Felix d’Herelle’in çalışmasının sonuçlarını 1917 yılında yayımlamasıyla bilim dünyasında yıllar sürecek olan bir tartışma süreci başlamıştır (5).

Bakteriyofajların infeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanılması fikri ve bu konudaki ilk çalışmalar yine d’Herelle’e aittir. Bakteri-bakteriyofaj antagonistik simbiyozunu gözlemlemiş olan d’Herelle, infeksiyon etkeninin hastaya verilen zenginleştirilmiş faj solüsyonlarıyla eradike edilebileceğini göstermiş ve fajların tedavide kullanılmasını sağlamıştır. Fransa’da dizanteri vakaları üzerinde yapılan denemelerde tek faj uygulamasıyla ağır hastalardaki semptomların birkaç gün içerisinde –hatta bazı vakalarda 24 saat içerisinde– ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (5). Streptokoksik pyodermiler gibi

infeksiyonlarda da benzer başarılı sonuçların alınmasıyla faj terapisinin altın dönemi başlamıştır. d’Herelle Hindistan’da kolera ve bubonik veba gibi büyük salgınların önlenmesinde ve tedavisinde faj temelli geniş çaplı çalışmalar yürütmüştür. O dönemlerde bakteriyofajların hem kişisel dozajlı tedavi amaçlı kullanımı hem de yerel su kaynaklarına profilaktik olarak uygulanması birçok yerleşim biriminde salgınların 48 saat içerisinde kontrol altına alınmasını sağlamıştır (6). Bu çalışmaların ardından dünyanın pek çok bölgesinde farklı araştırmacılar tarafından faj çalışmaları/terapi uygulamaları başlamıştır. Brezilya’da dizanteri tedavisinde, Senegal ve Mısır gibi Afrika ülkelerinde yine dizanteri ve veba tedavisinde, İngiltere, İtalya ve Yunanistan’da tifo ve paratifo tedavisinde faj kullanımı erken dönemdeki önemli terapi çalışmaları olarak öne çıkmaktadır (7,8).

Erken dönemde elde edilen bu başarılı sonuçların etkisiyle faj terapisi ticari bir boyut kazanmış ve endüstriyel boyutta bakteriyofaj üretimi başlamıştır. Başta d’Herelle’in Paris’te bulunan ticari laboratuvarı olmak üzere yine d’Herelle’in desteğiyle 1923’te kurulan Gürcistan’daki Eliava Enstitüsü ve daha sonra 1952 yılında Polonya’da faaliyete başlayan Hirsfeld Enstitüsü faj kokteylleri üreten başlıca merkezler olmuştur. Bu kurumlar içerisinde halen etkin olarak çalışmalarını sürdüren Eliava Enstitüsü’nün en aktif olduğu dönemlerde günde tonlarca ağırlıkta faj üretimi yaptığı ve dönemin Sovyetler Birliği ordusunun düzenli olarak profilaktik amaçlı faj kullandığı belirtilmektedir (1). Eliava Enstitüsü’nün aktif ve başarılı bir şekilde faj üretmesi İkinci Dünya Savaşı sırasında (hem Sovyetler Birliği hem de Almanya’nın tedavide faj kullanması sebebiyle) Nazi Almanya’sının Gürcistan’ı işgal etme sebepleri arasında sayılmaktadır. Yine aynı dönemde Amerika Birleşik Devletleri’nde Stanford Üniversitesi ve Michigan Halk Sağlığı Laboratuvarı, faj preparasyonları hazırlayarak sağlık merkezlerine dağıtımını gerçekleştirmiştir (9). Penisilin keşfedilip tedavide kullanılmaya başlandığı Londra St. Mary Hastanesi’ndeki ilk penisilin çalışmaları da penisiline dirençli bakterilerin oluşmaması amacıyla faj destekli olarak yürütülmüştür (10).

Özetle, 1920-1950 yılları arasında bakteriyofaj terapisi mikrobiyolojik paradigmaya dönüşmüş ve infeksiyon hastalıklarının tedavisinde genel kabul gören bir yöntem haline gelmiştir. Fakat bütün bu olumlu gelişmelere rağmen (i) antibiyotiklerin keşfi, (ii) faj biyolojisi/faj üretim tekniklerinin iyi anlaşılabilmesi sebebiyle çelişkili sonuçların yayımlanması, (iii) “bakteriyofaj fenomeninin” tam olarak açıklanamaması ve (iv) terapinin etkinliğini ortaya koyacak kontrollü klinik çalışma tasarımlarının bulunmaması gibi sebeplerle faj terapisine olan ilgi zamanla azalmış ve unutulmuş bir kür olarak tarihe geçmiştir.

Faj Terapisinin Terk Edilmesi

Faj terapisinin terk edilmesinde antibiyotiklerin keşfi oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Antibiyotiklerin geniş spektrumlu olması, jenerik moleküler formüllerinin olması ve belli bir standardla üretilebilmesi bakteriyofajlara kıyasla önemli bir avantaj oluşturmuştur. Öte yandan oldukça spesifik konak özelliği bulunan bakteriyofaj kokteyllerinin hazırlanması çok hassas ve döneminde standardlaştırılmamış

prosedürlere dayanmıştır. Bu durumun olumsuz bir getirisi olarak, d'Herelle ve onun ekolünü izleyen Sovyetler Birliği enstitüleri tarafından üretilen kokteyllerle oldukça başarılı klinik sonuçlar elde edilmişken, diğer coğrafyalardan sık sık negatif sonuçlar bildirilmiştir (11,12). d'Herelle 1930'lu yıllarda terapötik amaçlı faj kokteyli üretiminde dikkat edilmesi gereken noktalar olduğunu, her bakteriyofajın farklı olduğunu ve kaliteli preparasyonların dikkatli bir laboratuvar süreciyle elde edilmesi gerektiğini belirterek piyasadaki ticari kokteyllerde bu kalite kriterlerinin gözetilmediğini, hatta bu preparasyonların hemen hemen hiçbirinin infeksiyon tedavisine yardımcı olamayacağını öne sürmüştür (13).

Bakteriyofaj fenomeninin döneminde tam olarak açıklanamamış olması faj terapisine karşı şüpheli tutumun ve nihayetinde terk edilmesinin bir diğer sebebidir. Bakteriyofaj terapisi konusundaki tartışmalara bir açıklık getirmek isteyen Amerikan Tıp Derneği Ecza ve Kimya Konsülü 1934 yılında faj terapisi hakkında kapsamlı bir rapor hazırlatmıştır (11). "Eaton-Bayne-Jones Raporu" olarak bilinen bu çalışmayla "bakteriyofajın virus olduğunu kanıtlayan hiçbir delilin olmadığı ve antibakteriyel etkenin inanimat (cansız) olduğu, dolayısıyla muhtemelen bir enzim olduğu" öne sürülmüştür. Faj terapisi konusunda olumsuz görüş bildiren bu rapor Batı tıp dünyasında büyük yankı oluşturarak terapiden uzaklaşılması sürecini başlatmıştır. Yedi yıl sonra, Eaton-Bayne-Jones Raporu'nu destekleyen ikinci bir rapor olan Krueger-Scribner Raporunda "fajın yüksek moleküler ağırlığı olan bir protein olduğu, üstelik faj preparasyonlarının mevcut ilaçlara oranla hiçbir etkinliğinin olmadığı" sonucuna varılmıştır (12). Elektron mikroskopunun kullanılmaya başlandığı 1940'lı yıllarla birlikte bakteriyofajların bakteriyi infekte eden viruslar olduğu ispatlanarak söz konusu raporların yanlışlığı ortaya konmuş olsa da, bu tarih antibiyotiklerin keşfiyle aynı döneme denk gelmiş ve bakteriyofajın Batı tıbbına geri dönüşü sağlanamamıştır.

Bakteriyofaj terapisinin popüler olduğu dönemde bile kesin ve etkili bir çözüm olarak tartışmalı bulunmasının arkasında, terapinin etkinliğini tam olarak ortaya koyacak bilimsel bir çalışmanın yapılmamış olması da bulunmaktadır. Özellikle dönemin öncüsü olan d'Herelle'in bilimsel yöntemlerindeki eksiklik, terapi etkilerinin tam olarak ölçülebilmesinin önüne geçmiştir. d'Herelle'in çalışmalarında plasebo ve kontrol grupları bulundurmaması, çalışmaları yürüten diğer grupların da aynı metodolojik hatalara düşmeleri, sonuçların nesnel olarak incelenmesini etkileyen ana faktör olarak görülmektedir (1,9).

Penisilin bulunuşu ve antibiyotik çağına geçilmesiyle İkinci Dünya Savaşı sonrası birbirinden görece olarak izole, iki kutuplu bir dünyanın ortaya çıkışı aynı döneme denk gelmektedir. Bu kutuplaşma infeksiyon hastalıkları tedavisine de farklı ekoller olarak yansımıştır. Savaş sonrası Batı dünyası antibiyotik tedavisini geçerli yöntem olarak belirlemişken, Sovyetler Birliği ve Doğu Avrupa ülkelerinde faj, ana tedavi yöntemi olarak devam etmiştir (1,2). Her ne kadar bu dönemde kontrol ve plasebo grupları kullanılarak bilimsel olarak daha geçerli sonuçlar bildirilmiş olsa da, söz konusu yayınların Rusça ve Doğu Avrupa dillerinde yapılmış olması çiktıkların dünyanın geri kalanıyla paylaşılmasına neden

olmuştur. İkinci Dünya Savaşı sonrası Doğu Avrupa ülkeleri dışında da az sayıda kontrollü faj uygulaması gerçekleştirilmiştir. Fakat söz konusu çalışmalarda Doğu Avrupa ülkelerindeki kadar yüksek başarı elde edilmemiştir. Bu çalışmalara, 1960'ların sonunda Dünya Sağlık Örgütü'nün Dakka ve Doğu Pakistan'daki kolera salgınlarıyla mücadelede akut fazdaki hastalara faj terapisi uygulaması ve Kuzey Amerika'da çocuk hasta grubu üzerine yapılan çalışmalar örnek olarak gösterilebilir (14,15).

Faj Terapisinin Yeniden Keşfi

Dünya genelinde giderek artan oranda bildirilen çoklu dirençli patojenlerin, antibiyotik öncesi çağa dönüşeceğinin sinyallerini vermesi, bugün faj terapisini infeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir alternatif haline getirmiştir. Bu yeniden keşif sürecinde, 1990'larda Sovyet ve Polonya literatürünün İngilizce'ye kazandırılmasıyla faj terapisi rönesansı ivme kazanmış, 2000'li yıllara gelindiğinde genom bilimi ve yaygın ekoloji bazlı faj çalışmalarının gelişmesiyle ilerleme göstermiştir (16). Yöntemin yaklaşık 100 yıldır Gürcistan, Polonya ve Rusya'da rutin tedavinin bir parçası olarak tablet ya da likid preparatlar şeklinde başarıyla kullanılması ve fajların antibiyotiklere karşı olan üstünlükleri bu farkındalık sürecinde önemli yer tutmaktadır (2). Söz konusu ülkelerde, fajların profilaktik kullanımının yanında dermatoloji, cerrahi, yara tedavisi, intestinal infeksiyonlar, oftalmoloji, jinekoloji ve ürolojide başarılı bir şekilde kullanımı hakkında birçok yayın ve derleme bulunmaktadır (17,18). Örneğin, Slopek ve arkadaşları (19) tarafından yapılan bir derlemede 1981-1986 yılları arasında Polonya'da fajla tedavi edilmiş süperatif bakteriyel infeksiyonlu 550 vaka değerlendirilmiştir. Bu derlemede 508 (%92.4) vakada pozitif sonuç elde edilirken, 38 vakada olumlu gelişme elde edilmiş, 4 vakada ise herhangi bir gelişme gözlemlenmemiştir (19). Markoishvili ve arkadaşları (20) tarafından yayımlanan bir makalede diyabetik ayak infeksiyonu olan ve konvansiyonel yöntemlerle tedavi edilemeyen 94 hastaya Eliava Enstitüsü'nde üretilen ve ticari olarak satılan faj + antibiyotik + analjezik içerikli yara bandları (PhagoBioDerm™, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, Gürcistan) uygulama sonuçları yer almıştır. *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* ve *Proteus* türleri için litik faj içeren bu bandlarla yapılan çalışmanın sonucunda hastaların %70'inde (67/96) tamamen iyileşme (6 gün ile 15 ay arasında), 24'ünde ülserde küçülme görülmüş, 5 hastada herhangi bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Hastalarda herhangi bir sistemik etki kaydedilmemiştir (20).

Günümüzün Batı Dünyasında Faj Uygulamaları

Doğu Avrupa ülkeleri dışındaki faj terapisi çalışmalarına bakıldığında, özellikle son yıllarda Batılı klinisyenlerle Doğu Avrupa'daki bakteriyofaj üzerine çalışan uzmanlar arasında işbirliğinin arttığı görülmektedir. Almanya'daki *E.coli* O104:H4 salgınına karşı bakteriyofaj tanımlanması ve Belçika'da yanık yaralarında *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı bakteriyofaj tanımlanması gibi çalışmalar Batı dünyasında giderek artan çalışmalara örnektir (21,22). Son yıllarda özellikle Amerika ve Avrupa'da *in vitro* faj duyarlılık çalışmalarının yanında *in vivo* klinik faj uygulamaları üzerine yapılan çalışmalar da hız

kazanmıştır (23-35). Örneğin Texas'ta bir yara bakım kliniği (Wound Care Center in Lubbock, Texas, ABD) bir dizi başarılı tedaviyi içeren Faz 1 çalışmalarını Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı olarak 2008'de tamamlamıştır (23). Söz konusu Faz 1 çalışmasının bir parçası olarak, kronik venöz bacak ülseri olan 39 hastanın tedavisinde özel bir faj kokteylinin (iki farklı *S. aureus* fajı, beş farklı *P. aeruginosa* fajı ve bir *E. coli* fajı) herhangi bir yan etki oluşturmaksızın başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir (24). Wright ve arkadaşları (25), İngiltere'de 24 kronik otitis media hastası üzerinde yaptıkları çalışmada faj uygulamasının başarılı olduğunu ve herhangi bir yan etki gözlemlenmediğini bildirmiştir.

Faj terapisi, Polonya'nın Avrupa Birliği'ne girmesinden önce de rutin tedavinin bir parçası olarak kullanılmış olmakla birlikte, Polonya İmmünoloji ve Deneysel Terapi Enstitüsü'nde (Institute of Immunology and Experimental Therapy, ILET) kurulan "Faj Terapisi" ünitesi, 2005'te Avrupa Birliği'nde resmi olarak deneysel faj uygulaması gerçekleştirilen ilk merkezdir. Söz konusu merkezden Miedzybrodzki ve arkadaşları (26), (i) çoklu dirençli patojenlerle infekte olmuş ya da (ii) tedaviye rağmen infeksiyonları persiste eden ya da (iii) tıbbi kontrindikasyonlar sebebiyle hedeflenen antibiyotik tedavisi mümkün olmayan 153 hastaya ait bir çalışma yayımlamışlardır. Tekli ve/veya çoklu patojenlerin etken olduğu söz konusu infeksiyonların tedavisi için kütüphanelerinde hazır bulunan *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Salmonella* ve *Stenotrophomonas* fajları, topik, oral, rektal, vaginal olarak ve/veya inhalasyon yoluyla uygulanmış ve hastaların %18.3'ünde tamamen iyileşme olmak üzere toplam %40'ında olumlu gelişmeler gözlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen hasta grubunun oldukça ciddi infeksiyonlarının olması ve daha önce uygulanan yaklaşımlarla tedavilerinin mümkün olmaması sebebiyle %40'luk başarı oldukça umut verici olarak değerlendirilmiştir.

Pilot çalışmaları takiben Belçika, Fransa ve İsviçre ortaklığında çok merkezli (11 merkez) olarak 2013 yılında başlatılmış "Phagoburn" projesi önemli bir diğer Avrupa merkezli çalışmadır (27). Çalışma açık etiketli randomize kontrollü olarak tasarlanmış ve ilk hastasını 2015 yılı sonunda almıştır. Projeye, *E. coli* ve *P. aeruginosa* ile infekte yanık yaralarının faj terapisi toleransının ve etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Avrupa Birliği Horizon-FP7 programı kapsamında desteklenen "Phagoburn" projesi kapsamında, yaklaşık 4.3 milyon Avro bütçeyle, bir yılı aşan süre içerisinde 11 farklı Avrupa ülkesinden 220 hastaya faj terapisi uygulanması planlanmaktadır. "Durum ispatı" olarak değerlendirilen "Phagoburn" projesi sonraki klinik çalışmalar için öncü nitelik taşıması bakımından çok değerlidir.

2017 yılında California Üniversitesi San Diego Hastanesi'nde çok ilaca dirençli *A.baumannii* ile ilişkili nekrotizan pankreatiti olan bir hastanın eşzamanlı damar içi ve perkütan faj uygulamasıyla kısa sürede tedavi edilmesi tüm dünyanın ilgisinin bir anda faj terapisine toplanmasını sağlamıştır (28). Bu vaka hem Doğu Avrupa ülkeleri dışında ilk damar içi uygulama olarak bilimsel literatüre geçmiş olması, hem de faj terapisinin güvenilirliğiyle ilişkili kaygıları azaltması bakımından oldukça önemlidir. Bu başarılı sonucu takiben Avrupa'da üriner sistem infeksiyonu olan 81 hasta

için, çift kör, plasebo kontrollü, randomize olarak tasarlanan çalışmayla intravezikal faj kokteyli uygulamasının sonuçları yayımlanmıştır (29). Avrupa ve Amerika'daki bu hareketliliğe paralel olarak ülkemizde de faj çalışmaları hız kazanmıştır (30).

Faj Terapisinin Antibiyotiklere Göre Avantajları ve Dezavantajları

Litik fajlar esas olarak belirgin antibakteriyel etkileri bakımından antibiyotiklere benzemektedir. Fakat terapötik amaçlı oluşturulmuş faj preparatlarının antibiyotiklere göre bazı avantajları/dezavantajları bulunmaktadır (Tablo 1). Bunların içinde en önemlileri, fajın uygulanma biçiminden bağımsız olarak nerede ihtiyaç varsa oraya göç etmesi ve orada çoğalması, antibiyotik direncinden bağımsız olarak aktivite göstermesi, biyofilm üzerine etkin olması, etki spektrumunun dar olması ve faj terapisi öncesi etken/faj ilişkisinin tanımlanmış olması olarak sıralanabilir.

Faj Terapisinin Yeniden Klinik Kullanıma Girmesiyle İlgili Kaygılar

Bakteriyofaj terapisinin Batı'da tekrar gündeme gelmesi modern tıp için belirli soru işaretleri oluşturmaktadır. Bunun başında, terapinin insan üzerinde uygulanmasının güvenli olup olmadığı ve hangi boyutta bir bakteriyel direnç problemi karşılaşılabileceği gelmektedir.

Faj terapinin güvenirligi: Bir ilacın toksisitesi ve hedef olmayan dokular üzerinde etkisi, o ilacın sekonder farmakodinamiğini oluşturur. Fajın vücut dokusu üzerindeki etkisi de benzer şekilde ele alınmaktadır. Faj partiküllerinin immünolojik reaksiyonları başlatması, fajın hedef olmayan mikrobiyotaya üzerine etkisi ve bakteriyel hedefleri değiştirme yeteneği gibi özellikleri yan etki olarak değerlendirilir. Bu kapsamda, günümüze kadar yapılan çalışmalarda faj terapisiyle ilgili olarak –minör yan etkiler dışında– hiçbir yan etki bildirilmemiştir (31). Faj terapisi güvenliğiyle ilgili olarak yürütülen önemli çalışmaların bir kısmı Tablo 2' de özetlenmiştir.

Birçok dokuyla etkileşimi olan ilaçlar, hedef olmayan dokuyla da etkileşerek istenmeyen etkilere neden olur. Fajlar da hedef olmayan dokuyla belli bir ölçüde etkileşebilirler. Örneğin, oral kullanılan faj preparatları gastrointestinal yoldan kana geçmektedirler. Dolayısıyla, bu geçişin faj-epitel ya da retiküloendotelial sistem etkileşimiyle ilgili olduğu düşünülebilir. Faj terapisi çalışmalarında vücut dokularıyla etkileşimin yan etkiye neden olmadığı bildirilmiştir (31). Yarım yüzyıldan daha uzun bir süredir faj immünolojisi çalışılmış ve faja karşı oluşturulan immün cevabın –hümmoral immün cevabın oluşması da dahil olmak üzere– faj viriyonlarının inaktivasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar sırasında anafilaksiye neden olan bir duruma rastlanmamıştır. Bunun yanında, Gorski ve arkadaşları (32) tarafından immün sistem fonksiyonlarına fajın pozitif bir etkisi olduğuyla ilgili kanıt sağlanmıştır. Çeşitli sitokinler üzerinde değişikliklere neden olarak anti-tümör özellikleri de ortaya koyulmuştur. Clark ve arkadaşları (33) tarafından yapılan bir çalışmada ise çeşitli düzeylerde immün yetmezliği olan hastalarda ajuvan olmadan intravenöz olarak uygulanan faja karşı antikor oluşumu gösterilmiştir. Fakat buradaki en önemli kaygı, fajın

Tablo 1. Bakteriyofaj ve Antibiyotiklerin Karşılaştırılması

Bakteriyofajlar	Antibiyotikler	Yorum
Etki spektrumu oldukça dar ve oldukça spesifiktir.	Etki spektrumu geniştir.	Faj tedavisi öncesi bakterinin tanımlanması ve faj duyarlılığının test edilme gerekliliği sebebiyle, yüksek spesifite fajın dezavantajları arasında sayılabilir. Fakat faj uygulamasında disbiyoz ve sekonder infeksiyon gelişme riski oldukça düşüktür. Antibiyotikler etyolojik ajan bilinmeden de faydalı olabilir. Ek olarak etki spektrumunun geniş olması kullanım kolaylığını da beraberinde getirir. Fakat mikrobiyal dengeyi etkiler ve ciddi sekonder infeksiyonlara yol açabilir.
İnfeksiyonun olduğu yerde replike olur ve nerede ihtiyaç varsa orada çoğalır (oto-dozlama).	Vücutta metabolize edilir ve eliminasyona uğrar.	Fajlar, geometrik olarak çoğaldıklarından infeksiyon bölgesinde optimal terapötik etki için az sayıda faj uygulaması yeterli olabilir. Antibiyotiklerin infeksiyon bölgesinde her zaman konsantre olmaması sebebiyle yüksek dozlarda ve belli süre uygulanması gerekir.
Hızlı bakterisid etki gösterir.	Bakterisid / Bakteriyostatik etki gösterebilir.	Hızlı bakterisid etki sebebiyle, akut vakalarda çok kısa sürede faj tedavisine cevap alınabilir. Bakteriyostatik antimikrobiyaller direnç gelişiminde etkili olabilir.
Şimdiye kadar bildirilmiş ciddi yan etkisi bulunmamaktadır. Fakat immün sistem elamanlarını uyarabilir.	İntestinal bozukluklar, alerjiler, sekonder infeksiyonlar başta olmak üzere birçok yan etkisi vardır.	Faj tarafından parçalanmış bakterilerden salınan endotoksinlere bağlı olarak çok az yan etki bildirilmiştir. Yüksek düzeyde pürifiye edilmiş faj preparasyonları kullanılarak faj terapisi esnasında oluşabilecek anafilaktik cevaptan sakınılır.
Faja dirençli bakteriler aynı hedefe sahip diğer fajlara duyarlı kalabilir.	Antibiyotik direnci sadece hedeflenen bakteriyle sınırlı kalmaz.	"Doğada bir bakteri varsa, onu infekte eden faj da mutlaka vardır" varsayımı dolayısıyla, herhangi bir faj partikülüne karşı dirençli bakteri için yeni fajlar kolaylıkla izole edilebilir. Antibiyotik direnci özellikle hareketli genetik elamanlar aracılığıyla aktarılabilir.
Yeni faj seçimi hızlı bir işlemdir; günler haftalar içinde yapılabilir. Oldukça düşük maliyetlidir.	Yeni bir antibiyotik geliştirilmesi (antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı) çok uzun süre ve maliyet ister.	Doğadan izole edildiği için istenen konağa özgü fajın izolasyonu oldukça kolaydır ve düşük maliyetli bir işlemdir. Fakat doğru fajın seçilmesi ve terapide kullanılacak hale getirebilmesi için uzmanlara ihtiyaç vardır. Buna ek olarak, kültürü zor olan bakteriler için faj izolasyonu da aynı derecede zordur.
Biyofilm formlarında oldukça etkilidir.	Biyofilm oluşturan bakteriler birçok tolerans mekanizmasıyla antibiyotik tedavisine karşı dirençlidir. Biyofilm içine antibiyotik penetrasyonu zayıftır.	Bakteriyofajlar biyofilm içinde ilerleyebilir. Bu yolla ekstraselüler polimerik madde üreten bakterileri ortadan kaldırıp biyofilmi aşamalı olarak giderebilir ve rejenerasyon potansiyelini düşürebilir. Fajlar, ekstraselüler polimerik maddeyi bozan depolimerize edici enzimleri kodlayabilir veya eksprese edebilir.
İnsan vücudunda faj aktivitesi azaltıcı etkenlere maruz kalabilir (mide asidi, safra tuzları, üre toksisitesi, antikorlar ya da fagositoz gibi).	Aktivite azaltıcı etkenlerden korunmak için standardizasyonları oldukça iyi yapılmıştır.	Antibiyotiklerin kullanım kolaylığının yanında bu durum faj terapisinin dezavantajı olarak sayılmaktadır. Fakat konuda tecrübeli uzman hekimler tarafından faj uygulamasının yapılması (uygulama öncesi ön işlemlerden sonra) ve ileri teknolojilerle faj preparasyonlarının kapsül haline getirilmesi söz konusu aktivite azaltıcı etkenlerden kaçınmada etkili yöntemler olarak gösterilmektedir.
İntraselüler patojenlere etkili değildir.	İntraselüler patojenlerin tedavisinde kullanılır.	Fajlar biyolojik yapıları gereği insan hücrelerine tutunma ya da içerisine girme özelliğinde değildir. Bu sebeple insan hücrelerinin içinde çoğalan patojenler için faj terapi uygun bir seçenek değildir.

Tablo 2. Faj Terapisinin Güvenirliğini Gösteren Majör Çalışma Örnekleri

Faz	Deney Detayları	Hedef Bakteriler	Sonuçlar	Yorum	Kaynak
Güvenlik çalışmaları	Doğal yollarla faja maruz kalınması (yoğurt gibi mayalı gıdalarla alım, barsak ve cilt mikrobiyomunun doğal elamanı olması ve çevreden edinme)	Farklı türlere ait bakteriler	Gerek dışarıdan alımın gerekse insan mikrobiyom elemanı olarak vücudumuzda yaygın olarak bulunmasının insan sağlığını etkileyecek herhangi bir risk taşımadığı bildirilmiştir.	Çoğunluğu moleküler temelli olan bu çalışmalarla bakteriyofajların hem doğal flora elemanlarının bir parçası olarak vücudumuzda bulunduğu hem de tıpkı diğer mikroorganizmalar gibi sürekli olarak dışarıdan alındığı ortaya konmuştur.	(35-37)
	Sistemik infeksiyon, gastroenterit, menenjit, akciğer infeksiyonu, yanık/ yara infeksiyonu, üriner sistem infeksiyonu gibi deneysel hayvan infeksiyon modelleri üzerinden, faj terapisinin etkinliğinin ve güvenirliliğinin, oral, intravenöz, intraperitoneal, intramüsküler, subkutan, topik, intranazal vb. uygulamalarla test edildiği çalışmalar	<i>E. coli</i> , ÇİD bakteriler (<i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> , MRSA, VRE, <i>K. pneumoniae</i>) <i>Chronobacter turicensis</i>	Çalışmaların bir kısmında faj terapisinin antibiyotik grubuna göre daha iyi sonuçlar verdiğinin bildirilmesinin yanı sıra, genel olarak fajın tek ya da kombine kullanımının mortalite oranlarını azalttığı bildirilmiştir. Faj uygulamasının hayvan mikrobiyotasına etkisinin olmadığı ve sonrasında kanda/iç organlarda faj partiküllerine rastlanmadığı bildirilmektedir.	Bu çalışmalarla farklı yollardan uygulanan faj terapisinin klinik olarak etkin ve güvenilir olduğu hayvan deneyleri üzerinden gösterilmiştir.	(38,39)
	Faj güvenliğini test etmek amacıyla, 15 sağlıklı gönüllüden 10'unun farklı yoğunluklardaki <i>E. coli</i> T4 fajını oral yoldan aldığı plasebo kontrollü randomize çalışma	Herhangi bir hedef yok	Farklı yoğunluktaki faj solüsyonunu alan grupların karaciğer enzim değerlerinde herhangi bir değişiklik ya da hasar bildirilmemiştir. Faj grubundaki gönüllülerin kanında anti-T4 antikorlarına rastlanmamıştır.	Bu çalışma bağışıklık sisteminin faja karşı bir tepki vermediğini yani antikor oluşturmadığını göstermektedir. Dolayısıyla faj, vücutta patojen olarak algılanmamaktadır. Bu durum fajın insan mikrobiyomunun bir parçası olmasıyla açıklanabilir.	(40)
Faz I/II	Farklı dozlardaki faj kokteyllerinin 15 sağlıklıya oral olarak uygulandığı randomize, çift kör ve plasebo kontrollü çalışma	Herhangi bir hedef yok	Herhangi bir yan etki bildirilmemiştir. Pirosekans çalışmalarına göre faj alan grupların fekal mikrobiyotasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.	Bu çalışmayla oral faj uygulamasının barsak mikrobiyotasına herhangi bir etkisinin olmadığı sağlıklı insanlar üzerinden gösterilmiştir. Yan etkinin olmaması faj güvenliğini destekler niteliktedir.	(41)
	50 HIV hastasına ϕ X174 fajının intravenöz olarak verildiği iki farklı çalışma	Herhangi bir hedef yok	CD4+ hücre sayısı oldukça düşük olan HIV hastalarına fajın yüksek oranda verildiği bu çalışma sonucunda hastalarda herhangi yan etki bildirilmemiştir.	Sağlıklı insanlarda yapılan benzer çalışmalarda toksisitenin immün sistem tarafından elimine edilip edilmediğinin tam olarak gözlenmesi mümkün olmayabilir. Fakat bu iki çalışmada bağışıklığı zayıflamış olan hastalarda bile intravenöz faj uygulaması sonrası yan etkilere rastlanmaması, faj toksisitesinin çok düşük olduğuna işaret etmektedir.	(42,43)

Tablo 2. Faj Terapisinin Güvenirliğini Gösteren Majör Çalışma Örnekleri (Devam)

Faz	Deney Detayları	Hedef Bakteriler	Sonuçlar	Yorum	Kaynak
Faz I/II (Devam)	Venöz bacak ülserli 42 hastaya topik faj uygulamasının faj güvenliği bakımından test edildiği çalışma	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Herhangi bir yan etki bildirilmemiş. Fakat plasebo kontrol ve bakteriyofaj grubu arasında tedavi yönünden anlamlı bir farklılık bildirilmemiştir.	Fajın yan etki göstermemesi faj güvenliğini destekler niteliktedir. Çalışmada hastalardan izole edilen patojenler üzerinde fajın <i>in vitro</i> aktivitesi test edilmeksizin faj kokteylleri uygulanmıştır.	(24)
	Yanık yarası olan 9 hastaya topik faj uygulamasının güvenliğinin test edilmesi	ÇİD <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Herhangi bir yan etki gözlemlenmediği ve bakteri yükünün değişmeden kaldığı bildirilmiştir.	Sadece güvenirlilik yönünden dizayn edilmiş bu çalışmada da faj güvenliği yönünde olumlu sonuçlar alınmıştır.	(27,44)
	Polonya Bilimler Akademisi tarafından 1987-1999 arasında 1307 hastadan oluşan olgular	ÇİD patojenler – farklı süpüratif infeksiyonlar	Hiçbir yan etki bildirilmemiş, hastaların %86'sı tamamen iyileşirken %4'ünde etkinlik görülmemiştir.	Bu çalışmalar, faj terapisinin etkinliğini ve güvenliğini geniş bir kohort üzerinde göstermektedir.	(45)
	Kronik dış kulak yolu infeksiyonu olan 24 hastanın 12'sine faj diğer 12'sine serum fizyolojik uygulamasını içeren çalışma	<i>P. aeruginosa</i>	Herhangi bir yan etki gözlenmemiş, faj grubunda patojen sayısında ve semptomlarda anlamlı azalma tespit edilmiştir.	Batı dünyasında yapılan, plasebo grubu olan öncü klinik çalışmalar arasında yer alan bu çalışmaya, 50 yıldan daha uzun süredir dış kulak yolu infeksiyonu olan hastalar dahil edilmiştir. Çalışma sonuçlarının başarılı olması kronik infeksiyonlarda da faj terapisinin iyi bir alternatif olabileceği hakkında fikir vermektedir.	(25)
Faz III	6 ay ile 7 yaş arasındaki 30 769 çocuğun dahil olduğu profilaktik amaçlı oral yolla dizanteri fajı alımı	<i>Shigella</i> spp.	Faj alan çocuklarda dizanteriye yakalanma oranının 4 kat daha az olduğu bildirilmiştir.	Çift kör, plasebo kontrollü ve randomize olarak dizayn edilmiş olan bu çalışma 1968 yılında Rusça yayımlanmıştır. 2001 yılında Sulakvelidze ve arkadaşları (1) tarafından yapılan derlemeye kadar çalışma Batı'ya yaygın olarak duyurulmamıştır. Çalışmayla fajın profilaktik olarak kullanıldığı gösterilmektedir.	(1,46)
	Transüretal prostat rezeksiyonu geçiren üriner sistem infeksiyonlu 81 hastanın yer aldığı çalışmada oluşturulan gruplara, intravezikal faj, antibiyotik ve plasebo kontrol olarak %0.9 NaCl uygulanan çalışma	<i>Enterococcus</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>E. coli</i>	Çalışma sonuçlarında fajın güvenilir ve etkin olduğu bildirilmiştir.	Plasebo kontrollü, çift kör, randomize olarak Batı'da yapılmış ilk çalışma olan bu çalışmayla fajın intravezikal uygulamadaki güvenirliliği gösterilmiştir.	(29)

ÇİD: Çok ilaca dirençli.

insan hücresine etki edip etmeyeceğidir. Şimdiye kadar yapılan uygulama ve çalışmalar, fajın memeli hücrelerini infekte etmediği yönündedir. Bunlara ek olarak, nesiller boyunca çok fazla miktarda faj viriyonlarına maruz kalınmış olması –

özellikle son yıllarda yapılan metagenomik çalışmalar insan barsağında oldukça fazla miktarda faj bulunduğunu ortaya koymuştur– fajın insan hücrelerine zararsız olduğunu kanıtlar niteliktedir (34).

Bir diğer önemli konu faj genomunun bakteriye aktarılabilirliği ihtimalidir. Bu durum, ılımlı fajların lizojenik özellik göstermesi sebebiyle sıklıkla ortaya çıkan bir yatay gen transfer yoludur. Fakat söz konusu özelliği gösteren ılımlı fajların tedavi amaçlı kullanılmayacağı ve özellikle faj seçim ve preparasyon aşamalarının konuda tecrübeli uzmanlar tarafından yapılması gerekliliği, terapinin ilk yıllarından bu yana üstünde durulan bir durumdur (1,23). Bunun yanı sıra, bakteriyel virülans faktörü genlerini, lizojenik fajlar gibi, tedavide kullanılan litik fajlar da genomlarında taşıyabilirler. Fakat söz konusu litik/virulan fajların infekte ettikleri bakterileri öldürmeleri sebebiyle virulan gen taşıma durumunun sorunlara yol açmayacağı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra litik fajın virulan faktör taşıyabileceği şüphesini gidermek için günümüzde terapötik amaçla kullanılacak olan fajların tüm genomlarının incelenmesi ve genomunda bu faktörleri taşıyan fajların dışlanması söz konusudur.

Faj direnci: Bakteriyofaj ve konağı olan bakterilerin antagonistik bir simbiyoz ilişkisinde olmaları, özellikle bakterilerin faj lizisi baskısı altında fajlar tarafından infekte edilemeyecek biçimde evrimleşmelerinin, dolayısıyla faj direnci kazanmalarının kolayca gerçekleşebileceğini akla getirmektedir. Antibiyotik çağını büyük bir krize taşıyan direnç probleminin, aynı şekilde bakteriyofaj dönemi için de yaşanması ihtimali bilim dünyasının bu konudaki en büyük kaygısını oluşturmaktadır. Bu olasılık, konu üzerinde kapsamlı yeni nesil çalışmalar yapılması gerekliliğini doğururken, günümüze değin elde edilmiş bilgi birikimi bu konuda belirgin öncül fikirler sahibi olabileceğini sağlamaktadır.

Her ne kadar antibiyotik direnci ve bakteriyofaj direnci pragmatik olarak benzer sonuçlara sebep olsa da, bu iki antibakteriyel etken sınıfı birbirinden bütünüyle farklı mekanistik süreçlere sahip olduğundan, direnç mekanizmaları ve karakteristikleri birbirinden bağımsız ve farklıdır. Bakterilerde bakteriyofaj direnci temel olarak iki ana mekanizmayla gerçekleşmektedir.

CRISPR/CAS9 savunması: CRISPR/CAS9 sistemi bakterilerin faj tarafından hücre lizisine uğramalarını engellemek için geliştirdikleri doğal bağışıklık mekanizmasıdır (47). Bu sistem, bakteriyofaj DNA'sını tanıyarak bakteri hücrelerine injekte edilmiş faj genomuna bağlanıp genomu parçalayan bir enzim-DNA kompleksi kullanarak bakteri hücrelerini savunmaktadır. Dolayısıyla faj genomunu tanıyarak lizise izin vermeden imha eden CRISPR sistemine sahip bakteriler doğal seçim sonucu söz konusu fajlara karşı bağışıklığı olan soylar oluşturabilirler.

Yüzey reseptör proteinlerinin modifikasyonu: Bakteriyofajlar bakteri hücrelerine reseptör proteinleri tanıyarak tutunmakta ve paraziter aktivitelerini başlatmaktadır (48). Fajların suşlara özgü aktivite göstermesinin ana sebebi aynı türe ait farklı suşların farklı reseptör protein yapılarına sahip olabilmesidir. Reseptör protein yapısı değişecek şekilde mutasyon geçiren bazı suşlar, fajlar tarafından tanınmayarak yüzey tutunumundan kaçınabilirler. Bu çeşit mutasyonlar, söz konusu bakterilerin bakteriyofaj direnci geliştirmeleri için bir mekanizma oluşturmaktadır.

Bakteri-bakteriyofaj birlikteliği döngüler halinde (infektif faj-dirençli bakteri döngüleri) iki antagonistin birbirine üstünlük sağladığı bir birlikte evrim sistemi oluşturmaktadır.

Yukarıda bahsedilen iki bakteri mekanizması bu döngülerde bakteri üstünlüğünü sağlarken, fajlar çeşitli viral evrim mekanizmalarıyla virulan karakterini baskın tutmaya çalışmaktadır. Yürütülen faj biyolojisi çalışmalarında fajların çevreden edindikleri virulan genler ve hatta karşı CRISPR/CAS mekanizmalarıyla bakterilerin direnç mekanizmalarının üstesinden gelmeye çalıştıkları görülmüştür. Bu karşılıklı evrim fenomeni infeksiyon etkeni patojenlere karşı güncel fajlar kullanılması gerekebileceği görüşünü desteklemektedir (49). Çünkü birlikte evrim döngüsü içerisinde, söz konusu konak bakteriye karşı koyabilen bir faj, bu birlikteliğin dışında kalmış standard bir fajla oranla çok sayıda mutasyon geçirmiş olabilir. Dolayısıyla standard bir faj preparasyonu içerisindeki virusların bu toplu genetik sürüklenmişliğe adapte olmalarının zor olduğu öne sürülebilir. Oysaki bugüne değin kullanılmamış ticari faj preparasyonlarıyla gerçekleştirilen uygulamalarda bu tür bir fenomenin bildirilmemiş olması, pratikte standard kokteyllerin bu tip bir bakteriyofaj direncinden önemli ölçüde etkilenmediğinin ipuçlarını vermektedir. Bununla birlikte farklı coğrafyalardan ve farklı zamanlarda elde edilmiş fajların da yine jenerik olarak başarılı olabildiği gösterilmiştir (50). Dolayısıyla, birçok durumda faj direnci için gerçekleşen modifikasyonlar geçici olabilmekte ve hızlıca kaybedilebilmektedir. Faj terapisi sonucunda oluşabilecek dirençler hakkındaki bir diğer önemli kaygı, terapide genel yöntem olan faj kokteyli, yani birçok suş üzerinde etkili birkaç bakteriyofajın topluca uygulanmasının yaratabileceği durumlardır. Kokteyl uygulaması, bakteriyofajların suşa özgü olmalarının dar spektrum etkisi yaratması sebebiyle tercih edilmektedir. Büyük çeşitlilikte bir faj kokteyli, daha geniş bir spektrumda antibakteriyel etkinlik sağlamaktadır. Ancak bu durumda çok sayıda faj tarafından lizis baskısına alınmış bakterilerin içinden geniş spektrumlu direnci olan suşların evrimleşip seçilebileceği ve "çoklu faj dirençli süperbakterilerin" ortaya çıkabileceği öne sürülmektedir (50). Yine bu durumun araştırılması için bu alanda daha geniş faj biyolojisi çalışmaları yürütülmelidir. Öte yandan yaklaşık yüz-yıla yaklaşan ve bugüne dek milyonlarca insanın infeksiyon tedavisinde kullanılmış olan faj kokteylleri için henüz herhangi bir çoklu direnç olgusu bildirilmemiştir (1). Bunun nedeni, bakteriyofajların kolay elde edilmesi sayesinde kokteyllerin sürekli güncel tutulmasının olumlu bir yanıması olabileceği gibi, çoklu bakteriyofaj direncinin hızlı bir şekilde ortaya çıkabilen bir fenomen olmamasından da kaynaklanabilir.

Bakteriyofaj terapisinin antibiyotiklere alternatif olarak öne çıkabileceği yeni dönemde artık biyoteknoloji, faj davranışlarının moleküler düzeyde gözlemlenebileceği ve müdahale edilebileceği oranda gelişmiş bulunmaktadır. Bu sebeple direnç profillerinin ve mekanizmalarının yeni nesil genom dizileme teknolojileri kullanılarak incelendiği *in vitro* ve *in silico* deney tasarımları bu konuda bilimsel bilgi birikimini artırırken aynı zamanda genom mühendisliği uygulamalarına önayak olacak ve bakteriyofaj temelli yeni nesil antibakteriyel terapilerin geliştirilmesine de zemin hazırlayacaktır.

Intravenöz Kullanım

Fajların da tıpkı antibiyotiklerde olduğu gibi, oral, lokal ve inhalasyon yoluyla kullanılmalarının yanında intravenöz kullanımı da bulunmaktadır. Fakat her ne kadar literatürde başa-

rılı damar içi faj uygulamaları bulunsa da intravenöz uygulama ile ilgili olarak muhtemel iki problemden söz edilmektedir. Bunlardan birincisi hızlı bakterisid etki sebebiyle ortaya çıkan yoğun bakteriyel lizistir. Diğer tedavi formlarında da ortaya çıkabilecek olan bu etkinin başlangıçta düşük doz faj uygulamalarıyla önlenilebileceği ortaya konulmuştur. Diğer endotoksinlerin muhtemel sistemik etkileridir. Söz konusu olumsuz durumdan sakınmak için özellikle parenteral ve sistemik faj uygulamalarında ileri düzeyde pürifikasyon (saflaştırma) yapılmış faj preparatlarının kullanılması gerektiği bildirilmiştir (28,29).

Özetle, faj terapisi uzunca bir süre unutulmuş bir yöntem olarak bugün özellikle çoklu dirençli bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlarla mücadelede alternatif bir yaklaşım olarak popülerleşmektedir. Bu yeniden hatırlanma sürecinde faj terapisinin tarihinden ders alıp, konuyla ilgili bilgi birikiminden ve genom teknolojilerinden faydalanarak, öncelikle terapi potansiyeli olabilecek doğru litik fajların seçilmesi, iyi tanımlanması ve biyolojisinin iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda herhangi bir yan etki bildirilmemiş olsa da, terapinin etkinliğini kanıtlayacak, deney tasarımı iyi yapılmış daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

- Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG-Jr. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(3): 649-59. [CrossRef]
- Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol.* 2010; 28(12): 591-5. [CrossRef]
- Hankin EH. L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibrion du cholera. *Ann Inst Pasteur.* 1896; 10: 511-23.
- Twort FW. An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. *Lancet.* 1915; 186(4814): 1241-3. [CrossRef]
- Summers WC. *Félix d'Herelle and the Origins of Molecular Biology.* New Haven, Conn: Yale University Press, 1999.
- Fruciano DE, Bourne S. Phage as an antimicrobial agent: d'Herelle's heretical theories and their role in the decline of phage prophylaxis in the West. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2007; 18(1): 19-26. [CrossRef]
- d'Hérelle F. Essai de le traitement de la peste bubonique par le bactériophage. *Presse Méd.* 1925; 33: 1393-4.
- Compton A. Results of bacteriophage treatment of bacillary dysentery at Alexandria. A statistical retrospect. *BMJ.* 1942; i(4249): 719-20. [CrossRef]
- Summers WC. Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol.* 2001; 55: 437-51. [CrossRef]
- Himmelweit F. Combined action of penicillin and bacteriophage on Staphylococci. *Lancet.* 1945; 246(6361): 104-5. [CrossRef]
- Eaton MD, Bayne-Jones S. Bacteriophage therapy. Review of the principles and results of the use of bacteriophage in the treatment of infections. *JAMA.* 1934; 103(23):1769-939. [CrossRef]
- Krueger AP, Scribner EJ. Bacteriophage therapy. II. The bacteriophage: its nature and its therapeutic use. *JAMA.* 1941; 116(19): 2160-67. [CrossRef]
- d'Herelle F. *Les Pérégrinations d'un Microbiologiste.* Paris: Archives de l'Institute Pasteur, 1946 (Yayımlanmamış taslak).
- Monsur KA, Rahman MA, Hug F, Islam MN, Northrup RS, Hirschhorn N. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull World Health Organ.* 1970; 42(5): 723-32.
- Witting HJ, Raffetto JF, Basom R. Bacteriophage therapy in infective childhood asthma. *JAMA.* 1966; 196(5): 435. [CrossRef]
- Brüssow H, Canchaya C, Hardt WD. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2004; 68(3): 560-602. [CrossRef]
- Letkiewicz S, Międzybrodzki R, Kłak M, Jończyk E, Weber-Dąbrowska B, Górski A. The perspectives of the application of phage therapy in chronic bacterial prostatitis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010; 60(2): 99-112. [CrossRef]
- Kutter E, De Vos D, Gvasalia G, et al. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010; 11(1): 69-86. [CrossRef]
- Slopek S, Weber-Dąbrowska B, Dąbrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1987; 35(5): 569-83.
- Markoishvili K, Tsitlanadze G, Katsarava R, Morris JG Jr, Sulakvelidze A. A novel sustained-release matrix based on biodegradable poly(ester amide)s and impregnated with bacteriophages and an antibiotic shows promise in management of infected venous stasis ulcers and other poorly healing wounds. *Int J Dermatol.* 2002; 41(7): 453-8. [CrossRef]
- Merabishvili M, De Vos D, Verbeken G, et al. Selection and characterization of a candidate therapeutic bacteriophage that lyses the *Escherichia coli* O104:H4 strain from the 2011 outbreak in Germany. *PLoS One.* 2012; 7(12): e52709. [CrossRef]
- Merabishvili M, Vervaeke C, Pirnay JP, et al. Stability of Staphylococcus aureus phage ISP after freeze-drying (lyophilization). *PLoS One.* 2013; 8(7): e68797. [CrossRef]
- Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage.* 2011; 1(2): 66-85. [CrossRef]
- Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. *J Wound Care.* 2009; 18(6): 237-8. [CrossRef]
- Wright A, Hawkins CH, Anggård 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. *Clin Otolaryngol.* 2009; 34(4): 349-57. [CrossRef]
- Międzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dąbrowska B, et al. Clinical aspects of phage therapy. *Adv Virus Res.* 2012; 83: 73-121. [CrossRef]
- Rose T, Verbeken G, de Vos DD, et al. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps. *Int J Burns Trauma.* 2014; 4(2): 66-73.
- Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(10): e00954-17. [CrossRef]
- Leitner L, Sybesma W, Chanishvili N, et al. Bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *BMC Urol.* 2017; 17(1): 90. [CrossRef]
- Gundogdu A, Bolkvadze D, Kilic H. In vitro effectiveness of commercial bacteriophage cocktails on diverse extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* strains. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1761. [CrossRef]

31. Chanishvili N. Phage therapy--history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res.* 2012; 83: 3-40. [\[CrossRef\]](#)
32. Górski A, Borysowski J, Międzybrodzki R, Weber-Dąbrowska B. Bacteriophages in medicine. In: McGrath S, van Sinderen D, eds. *Bacteriophage: Genetics and Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2007: 125-58.
33. Clark L, Greenbaum C, Jiang J, Lernmark A, Ochs H. The antibody response to bacteriophage is linked to the lymphopenia gene in congenic BioBreeding rats. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2002; 32(3): 205-9. [\[CrossRef\]](#)
34. Dutilh BE, Cassman N, McNair K, et al. A highly abundant bacteriophage discovered in the unknown sequences of human faecal metagenomes. *Nat Commun.* 2014; 5: 4498. [\[CrossRef\]](#)
35. Brüssow H. Phages of dairy bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001; 55: 283-303. [\[CrossRef\]](#)
36. Desiere F, McShan WM, van Sinderen D, Ferretti JJ, Brüssow H. Comparative genomics reveals close genetic relationships between phages from dairy bacteria and pathogenic streptococci: evolutionary implications for prophage-host interactions. *Virology.* 2001; 288(2): 325-41. [\[CrossRef\]](#)
37. Oh J, Byrd AL, Deming C, et al. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature.* 2014; 514(7520): 59-64. [\[CrossRef\]](#)
38. Reyes A, Haynes M, Hanson N, et al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature.* 2010; 466(7304): 334-8. [\[CrossRef\]](#)
39. Chibani-Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A, Kutter E, Sarker S, Brüssow H. In vitro and in vivo bacteriolytic activities of Escherichia coli phages: implications for phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(7): 2558-69. [\[CrossRef\]](#)
40. Weiss M, Denou E, Vrutttin A, Serra-Moreno R, Dillmann ML, Brüssow H. In vivo replication of T4 and T7 bacteriophages in germ-free mice colonized with Escherichia coli. *Virology.* 2009; 393(1): 16-23. [\[CrossRef\]](#)
41. Bruttin A, Brüssow H. Human volunteers receiving Escherichia coli phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(7): 2874-8. [\[CrossRef\]](#)
42. Fogelman I, Davey V, Ochs HD, et al. Evaluation of CD4+ T cell function in vivo in HIV-infected patients as measured by bacteriophage phiX174 immunization. *J Infect Dis.* 2000; 182(2): 435-41. [\[CrossRef\]](#)
43. Rubinstein A, Mizrahi Y, Bernstein L, et al. Progressive specific immune attrition after primary, secondary and tertiary immunizations with bacteriophage phiX174 in asymptomatic HIV-1 infected patients. *AIDS.* 2000; 14(4): F55-62. [\[CrossRef\]](#)
44. Merabishvili M, Pirnay JP, Verbeken G, et al. Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. *PLoS One.* 2009; 4(3): e4944. [\[CrossRef\]](#)
45. Weber-Dąbrowska B, Mulczyk M, Górski A. Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our institute's experience. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2000; 48(6): 547-51.
46. Babalova EG, Katsitadze KT, Sakvarelidze LA, et al. [Preventive value of dried dysentery bacteriophage]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 1968; 45(2): 143-5. Rusça.
47. Hyman P, Abedon ST. Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol.* 2010; 70: 217-48. [\[CrossRef\]](#)
48. Lenski RE. Two-step resistance by Escherichia coli B to bacteriophage T2. *Genetics.* 1984; 107(1): 1-7.
49. Seed KD, Lazinski DW, Calderwood SB, Camili A. A bacteriophage encodes its own CRISPR/Cas adaptive response to evade host innate immunity. *Nature.* 2013; 494(7438): 489-91. [\[CrossRef\]](#)
50. Bush K, Courvalin P, Dantas G, et al. Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 9(12): 894-6. [\[CrossRef\]](#)