



## Възможно ли е бактериофагите да са отговорът на кризата COVID-19?

През последните две десетилетия се наблюдава появата на четири тежки вирусни заболявания: епидемията от остър респираторен синдром (*SARS*) от 2002 г., причинен от *Coronavirus* (*CoV*), грипната епидемия от 2009г., епидемията, причинена от инфлуенца А вируса, щам H1N1, Близкоизточния респираторен синдром (*MERS*) и най-скоро пандемията от COVID-19, причинена от *SARS CoV-2*. Появата на нови смъртоносни щамове на *CoV* в човешките популации стават все по-чести и пораждат все по-голяма загриженост в световен мащаб. *SARS-CoV-2* причини първата голяма епидемия в Китай през 2019 г., която се превърна в световна пандемия, довела до заразяване на 115 милиона души в световен мащаб и до близо 2,56 милиона смъртни случая (към 03.03.2021г.), с много по-висока заболяемост и инвазивност от *SARS* и *MERS* (Guarner, 2020; Kannan et al., 2020). Спектърът от клинични проявления на *SARS-CoV-2* е силно променлив, като инфекциите варират от асимптоматично протичащи до тежки вирусни пневмонии с дихателна недостатъчност, често водеща до смърт (Li et al., 2020).

Към момента има създадени обещаващи и успешни терапии, лечебни средства и ваксини в борбата срещу вируса, причиняващ COVID-19, но точно лечение и 100% успеваемост не е налична. Поради „смъртоносния характер“ на *SARS-CoV-2* светът е изправен пред безпрецедентни предизвикателства в области като общественото здраве, икономиката и политиката. През последните няколко десетилетия мониторинга на заболявания като туберкулоза, ХИВ и малария показват, че без ваксинации или ефективно превантивно лечение, овладяването на тези заболявания е бавно, трудно преодолимо и многостъпково посредством различни подходи. За съжаление, на този етап не е известно колко ефикасни ще бъдат ваксините и леченията в дългосрочен план, които понастоящем се прилагат за *SARS-CoV-2*. Освен това, дори първите кандидати за лечение и ваксини да са успешни, може да се наложи да се развият различни подходи за лечение при леки и тежки случаи, пациенти с придружаващи хронични заболявания или пациенти, които приемат други лекарства. В разработването на лекарства има много подходи, но в случая фокусът е върху потенциалната роля на бактериофагите (фаги) при контролирането на пандемията COVID-19.

Фагите инвазират, атакуват и лизират патогенните бактерии, срещу които проявяват строга специфичност. Преди повече от век, по време на откритието на бактериофагите, е имало голям интерес да се използват за лечение на бактериални инфекции, но с откриването на антибиотиците, изследванията в тази посока почти са спрели. През последните години има подновен интерес към фаговата терапия, отчасти поради бързоразвиващата се антибиотична резистентност (AMP), и като алтернатива на антибиотичното лечение при бактериални инфекции. В допълнение към фаговата терапията, фокусът е върху двете най-нови приложения на фагите - *phage display technology* и терапия с ендолизини (специфични литични ензими, изолирани от фагите).

Доказано е, че **бактериалните ко-инфекции повишават риска от смъртност при пациенти с COVID-19**, поради което антибактериалните свойства на фагите могат да бъдат обещаващ начин за лечение в настоящата пандемия.

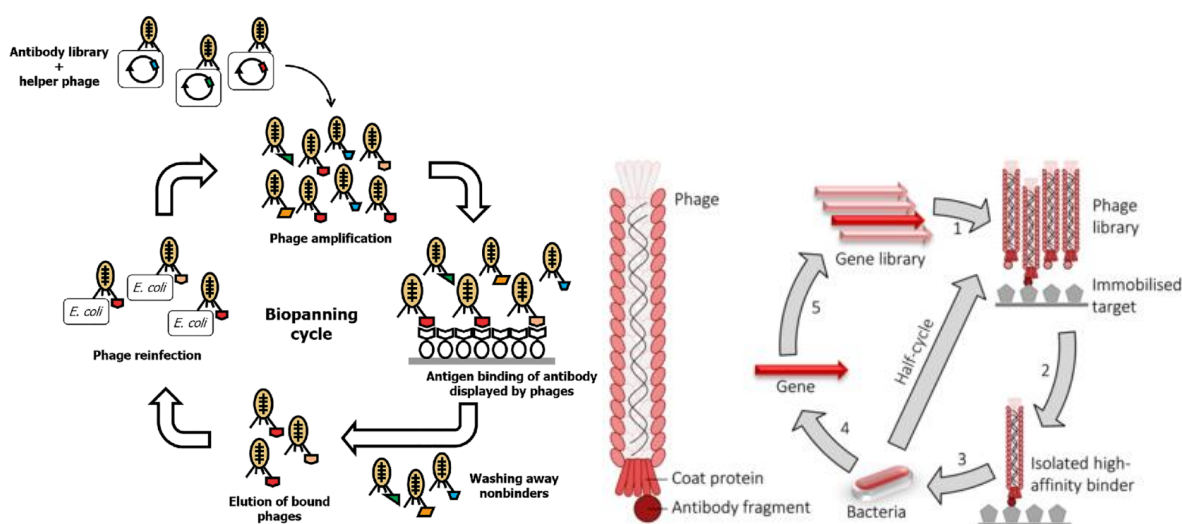
**Фагите са разглеждани като обещаваща алтернатива на антибиотичните лечения** и имат потенциала да **намалят прекомерната употреба на антибиотици**. Прекомерната употреба на антибиотици е особено тревожна особено по време на пандемията, тъй като голяма част от хоспитализираните пациенти получават антибиотично лечение както като основно лечение, така и като профилактика. Високият процент на приложение на антибиотици често е свързан със превантивна защита на пациентите в ситуация с много неизвестни, затова е необходимо спешно разработване на програми за идентифициране на случаи, които се нуждаят от антибиотично лечение и които биха се повлияли и от алтернативи на антибиотиците. С **прекомерната употреба на антибиотици** се повишава антибиотична резистентност и в резултат на това **рискът от намаляване на ефективността на антимикробните средства (АМС) се повишава**, което е крайгъглен камък на съвременната медицина.

С напредването на пандемията употребата на фагови продукти като рутинно средство за контрол на бактериалните инфекции става все по-малко вероятно и поради това фаговата терапия вероятно няма да може да се наложи като алтернатива на антибиотиците при пациенти с COVID-19. Фагите са силно специфични за отделните видове бактерии, поради което ще са необходими допълнителни тестове, **за да се намери комбинацията от фаги, които са ефективни за всеки пациент (персонализирано лечение)**. Друго ограничение за съжаление, възпрепятстващо внедряването като терапевтична схема на фаговата терапия е все още недоказаната ефективност и недовършените във фаза III клинични изпитвания. Съществуват и много законодателни предизвикателства (поне в Европа), които ограничават фаговата терапия и усложняват употребата им още повече. Фагите биха могли да мутират и взаимодействат както с бактериите, така и с имунната система по не напълно изучени механизми, което прави регулирането им още по-сложно.

**Ендолизините** и терапията с такива препарати би могла да заобиколи някои от проблемите, свързани с класическата фагова терапия. Ендолизините са ензими, използвани от бактериофагите в края на техния цикъл на репликация, за да нарушават целостта на бактериалните клетъчни стени, лизирайки и убивайки бактериалните клетки. Тези ензими и техните производни представляват алтернатива на антибиотиците, тъй като те показват висока степен на гостоприемникова (бактериална) специфичност. Като такива те са безвредни за човека и, тъй като не се възпроизвеждат, няма риск от мутация и дозата на пациента може да бъде точно контролирана. Ендолизините ще бъдат важни в борбата с АМР, но подобно на фаговата терапия, ще бъдат необходими допълнителни тестове, клинични проучвания и анализи, за да се идентифицират бактериофагите, специфични за конкретни бактериални видове, ефективността и успеваемостта на тази терапия в различни сценарии и при различни условия. Поради не достатъчните проучвания както на фаговата терапия, така и на терапията с ендолизини, надали ще бъде възможно внедряване на тези алтернативни терапии при борбата с COVID-19 и бактериалните ко-инфекции.

**Phage display technology**, от друга страна, може да има много важна функция в борбата както с настоящите, така и с бъдещи пандемии. *Phage display technology* е бърза техника за идентифициране на антитела, насочени срещу всеки антиген, който

представлява интерес. В резултат на доста разработки и проучвания тази технология вече се използва за развитие на терапевтични антитела. Тази технология разчита на използването на фагови библиотеки, за да се идентифицират секвенциите с потенциал за създаване на неутрализиращи антитела срещу вируси, които след това могат да бъдат произведени чрез рекомбинантни антитяло техники. Това изисква ДНК информация от бета-клетки, изолирани от хора, които вече произвеждат съответните антитела. Както **Европейският съюз, така и САЩ имат текущи проекти за събиране на плазма, която включва антитела, насочени към SARS-CoV-2.** Ефективността на антителата, получени от тази плазма, обаче не е достатъчно тествана в този момент и употребата ѝ все още е спорна. Все още са необходими допълнителни изследвания върху безопасността и ефективността на използването на антитела от плазма. Ако приемем, че е ефективна, *phage display technology* може да бъде **по-безопасен и по-рентабилен начин за получаване на достатъчно количество антитела**, отколкото донорска плазма от пациенти, прекарвали COVID-19. Тази техника избягва проблеми, причинени от различните количества антитела при различните пациенти, избягва разходите, свързани със събиране на плазма, и позволява по-лесен контрол на качеството.



Фиг. 1: схематично представен процеса на *phage display technology*

Терапията с антитела остава обещаващ начин за лечение на пациенти с COVID-19, но за съжаление, антителата, създадени от *phage display technology*, са в предклинична фаза на изпитване. Въпреки това, *phage display* технологията вече играе роля в борбата срещу пандемията COVID-19, тъй като данните от проучванията с бактериофаги предоставят солидни доказателства при оценяване защо едно съединение работи по-добре в лечението на пациенти от други и при по-ясното разбиране на заболяването. Въпреки че фагите могат да имат потенциал да играят роля в сегашната пандемия, важно е също да се разбере и да се отбележи, че **няма магически куршум за тази пандемия**. Намирането на терапевтични и превантивни лечения, които са ефективни срещу SARS CoV-2, са само част от решението. Ваксините и медикаментите срещу този вирус трябва да бъдат произведени и тяхното справедливо и ефективно разпространение по целия свят трябва да бъде осигурено. В противен случай социално-икономическите различия в обществата, засегнати от пандемията, ще се задълбочат още

повече. Може би наличието на **разнообразие от терапевтични схеми на лечение и различни фармацевтични продукти** би помогнало в този процес.

В тази екстремна ситуация **пренасочването на лекарства** може да бъде също **подходящата стратегия** за търсене на **бърз и ефективен терапевтичен отговор на пандемията** на COVID-19. Добър пример за такава стратегия е пренасочване на метформин, добре познато лекарство, използвано за лечение на диабет тип 2, за превенция и лечение на рак. Има и опити за пренасочване на метформин за сърдечно-съдови заболявания и дори за бактериални инфекции. Както бе споменато, в момента се проучват редица лекарства за способността им да бъдат пренасочени за лечение на COVID-19 (**хлорохин, азитромицин, лопинавир, ритонавир**). Тези лекарства могат да причинят **значителни странични ефекти**, като сърдечна и чернодробна токсичност, панкреатит, увреждане на костния мозък и др., освен това **тяхната клинична ефективност досега не е доказана** - в момента **няма „магическо хапче“**. Следователно има спешна нужда от други агенти, които биха могли да бъдат пренасочени за борба с епидемията.

Настоящата антибиотична криза силно разпали интереса към потенциала на фагите при лечението на резистентни на различни лекарства бактериални инфекции посредством фаговата терапия. Учените се надяват, че настоящата тенденция към персонализирано лекарство може да помогне за въвеждането на терапията в съвременната клинична медицина. От друга страна, неотдавнашният напредък в разбирането на фаговата имунобиология отваря перспективи за пренасочване на фаговата терапия към заболявания, различни от бактериалните инфекции.

*“Recent progress in our understanding of phage immunobiology opens perspectives for the repurposing of phage therapy to clinical indications other than bacterial infections alone.”*

Има данни, които предполагат, че такива перспективи могат да включват и вирусни инфекции, включително COVID-19.

През 2005 г. в кратък преглед, и през 2020г. в проучване на тема: *„Phages in the fight against COVID-19?“* на авторски колектив: *Andrzej Go'rski, Ryszard Miedzybrodzki, Maciej Zaczek & Jan Borysowski*, са обобщени наличните научни данни в литературата, категорично предоставящи доказателства, че **фагите, както *in vitro*, така и *in vivo*, могат да повлияят на еукариотните вируси**. Тези проучвания са започнати преди около половин век и посочват **антивирусните ефекти на бактериофаги, фагови лизати**, както и на **фагови нуклеинови киселини**. Такива антивирусни активности на фагите могат да се изразяват в индуцирана от фаги продукция на интерферон, конкуренция на фагите и еукариотните вируси за същите клетъчни рецептори, както и индукция на антивирусни антитела, кръстосано реагиращи с патогенни вируси (фагови ваксини). В допълнение, фагово-медираното инхибиране на други явления, свързани с вирусозависимата патология, също може да бъде включено. Резултатите от изследванията, проведени през следващите 15 години, подкрепят предположението, че проучванията, фокусирани върху пренасочването на фаговата терапия поне като допълнителна терапия за вирусни инфекции, са оправдани.

Фагите могат да проникнат в епителните клетки, да защитят тези епителни и миелоидни клетки от индуцирана от вируса апоптоза и да регулират експресията на защитни клетъчни шаперони. В това проучване са демонстрирани защитната активност

на **T4 фага** върху оцеляването на заразените белодробни епителни клетки на човека с човешки AdV, когато фагът е добавен преди или по време на цялото време на AdV инфекция; преинкубацията с фага също е защитна. Интересното е, че докато SARS-CoV и SARS-CoV-2 са известни, че индуцират апоптоза и произтичащата от това лимфоцитопения е често срещана лабораторна находка (> 60 от пациентите и > 80% при починалите пациенти), **апоптозата се намалява** в дихателните пътища **посредством терапия с епителни клетки**, събрани от човешките бронхи и **култивирани с фаги *in vitro***. Освен това, както препаратите с T4 фаги, така и **A3/R** (стафилококов фаг) **значително намаляват процента на DEC-205 + човешки миелоидни клетки** (разпознаващи лектин рецепторни лиганди, експресирани по време на апоптоза и некроза на различни клетъчни популации). Както фагите T4, така и **A5/80** могат да причинят **висока свръхекспресия на гена HSA1**, кодиращ топлинно шокския протеин **Hsp70** в човешки алвеоларни клетки. Този добре познат клетъчен шаперон може да предпази клетките, подложени на трансцитоза, от потенциално увреждане от клетъчни фаги. От друга страна, експресията на друг топлинно шок протеин **Hsp90**, може да бъде регулирана от фагите **T4** и **M13**. Hsp90 участва в жизнения цикъл на вирусите и неговите инхибитори и може да имат антивирусни свойства. Екипът от учени в това проучване допуска хипотезата, че **фагите**, присъстващи в човешкото тяло, могат да трансмигрират от червата и да медиат **имуномодулиращи дейности на различни тъканни места**. Тази хипотеза е напълно потвърдена от скорошни проучвания, които разкриват, че фагите, присъстващи в човешкото тяло, могат да проникнат в епителните клетъчни слоеве от червата, белите дробове и други органи, без да причиняват вредни ефекти. Например, T4 фагът може да мигрира през епителните клетки и това явление обхваща различни фаги от основните морфотипове и Грам-положителни и отрицателни гостоприемници. Средно човешкото тяло индуцира **транцитоза на  $3,1 \times 10^{10}$  фага на ден** и се смята, че този непрекъснат поток от ендогенни фаги, разпространяващи се през кръвта и органите, може да **осигури антимикробна защита**. Освен това, сравнимо количество от фагова суспензия може да се влива на пациенти по време на фаговата терапия. По този начин, фагите, постъпили в организма чрез фаговата терапия, осигуряват значителна допълнителна подкрепа на циркулиращи в организма естествени бактериофаги, способни да проникнат в епителните клетки в процес, описан от *Ngyuen et al.* С други думи, **увеличаването на фаговата транцитоза** от епителните клетки, причинено от фаговата терапия, може да изгради **защитна бариера за еукариотните вирусни частици**. Тъй като белодробният епител също участва в транцитоза на фаги, това явление може да играе **известна роля в защитата на тези клетки от инвазия от коронавируси**.

Показано е, че T4 фагът инхибира адсорбцията на човешки AdV към белодробни и бъбречни епителни клетки на човека, като освен това вирусната репликация също е инхибирана. T4 фагът също може да наруши свързването на CoV към целевите клетки чрез неговата **KGD** последователност. Този интегронов **KGD** мотив (Lys-Gly-Asp), присъстващ в капсидния протеин на T4 фага, е функционален и може да медира взаимодействията на фага с еукариотни клетки. **KGD** се намира на видно място при gH/gI гликопротеин, активна инфекция на EBV на В клетки и епителни клетки, и инактивирането му понижава EBV взаимодействието с целевите клетки. Следователно, T4 може да попречи на EBV инфекцията. Интересното е, че тази аминокиселинна последователност се запазва в няколко коронавируса и също се показва във верига на



основен структурен SARS-CoV протеин S. Освен това **същата KGD последователност** се експресира и в молекулата на ангиотензин-конвертиращия ензим 2 (ACE 2), рецептор за разпознаване на протеина S, предполагаща **потенциална инхибиторна роля на интегрините в рецепторното насочване на SARS-CoV и SARS-CoV-2**. Следователно, **T4 фагът също може да се конкурира с коронавируса и ангиотензин-конвертиращия ензим 2 и по този начин да инхибира коронавиралната инфекция на целевите клетки**. Както T4, така и A5/80 антистафилококовите фаги значително намаляват експресията на HAdV гени, докато синтезът на HAdV ДНК се инхибира само от T4 фага.

Патогенните вируси (включително коронавируса) индуцират NF-κB транскрипционен фактор, регулиращ експресията на гени, участващи в имунния отговор. Преинкубацията на **ендотелни и епителни клетки с фага T4** може да премахне или **значително да намали активирането на NF-κB**, задействано от херпесен вирус. Интересното е, че *Zhang et al.* съобщава за подобни ефекти, използвайки антистафилококов фаг. Белодробната инфекция с респираторни вируси е свързана с възпаление и клетъчна смърт, причинени от прекомерно производство на реактивни кислородни видове (ROS) и корелацията между тежестта на увреждането на белите дробове и маркерите на оксидативен стрес се наблюдава при пациенти, заразени с човешки респираторен синцитиален вирус. Нещо повече, клетъчните ROS са значително увеличени в експресиращите SARS-CoV клетки, докато високи нива на ROS се наблюдават рано в хода на заболяването COVID-19. Известно е, че фагите регулират производството на ROS. Много изследвания посочват положителната роля на антиоксидантната терапия при заразени клетки от опитни животни, но няма убедителни клинични данни. Все пак антиоксидантните добавки се препоръчват за лечение на COVID-19.

Съществуват също така данни, които предполагат, че **фагите могат да стимулират антивирусен имунитет чрез индуциране на антивирусни цитокини**, например IFN-α и IL-12. Още през 1977 г. *Taborsky u Dolnik* доказват, че фаговата РНК може да индуцира IFN-α в човешки гранулоцити. Наскоро *Sweere et al.* демонстрира, че **Pf** фагите (и фаговата РНК), чрез лещкоцитна ендцитоза, задействат TLR3-зависими рецептори за разпознаване и инхибират TNF- производството на IFN тип I. При липса на бактериална инфекция, ***Escherichia coli* фаг 536 P1** насърчава увеличаването на производството на IFN-α и IL-12 в белите дробове (но не и в кръвта), позволявайки **наличието на антивирусна активност** в белите дробове на здрави неинфектирани мишки (този ефект е специфичен за фагите и е медиран от 536 P1, а не от LM33 P1 фаги). Това фагозависимо антивирусно явление в белите дробове може да възникне, тъй като фагите имат способността да проникват в този орган по множество пътища, така че фаговата терапия се използва успешно при бактериални инфекции на белите дробове при животни и хора. Интересното е, че честотата на вирусни патогени (включително CoV) е свързана с намален процент на естествени бактериофаги. Последни данни от *Gogokhia et al.* показват, че фаговите *Lactobacillus*, *E. coli* и *Bacteroides* и фаговата ДНК могат да стимулират производството на IFN-γ чрез активиране на TLR9. IFN-γ е друг мощен антивирусен цитокин. *TNF*, произведен по време на възпаление, е от значение за координираното развитие на възпалителния отговор. Прекомерното производство на TNF обаче може да причини повишен риск от вирусна репликация и бактериални инфекции. Следователно, терапевтичен агент, чието действие може да регулира

производството на TNF, за да го поддържа на нива, оптимални за пациентите, би бил особено добре дошъл. Предклиничните проучвания показват, че **експерименталната вирусна пневмония** може да бъде **подобрена чрез анти-TNF терапия**. Тъй като повишените нива на TNF са доказани в тъканни и кръвни проби от пациенти с COVID-19, скорошната статия в *The Lancet* призовава за **спешни проучвания на анти-TNF терапия** при това заболяване. Както беше споменато, някои фаги могат да инхибират производството на TNF, което се потвърждава от по-ранни данни от други автори, които показват, че **фагите могат да регулират нивата на TNF-α** в серума и белите дробове на мишки с експериментална остра пневмония. Интересното е, че **клиничната фагова терапия може да намали производството на TNF**, когато претерапевтичните нива са високи и да ги увеличи при слаба реакция и ефект.

Тези данни могат да се разглеждат като релевантен аргумент за разглеждането на фагите също като потенциален агент, който би могъл да помогне за постигане и поддържане на нивата на TNF, позволявайки подходящи антивирусни имунни отговори при COVID-19, като същевременно намаляват риска от прекомерна имуносупресия.

Фагите също могат да взаимодействат с TLR. В тази връзка е показано, че фагът T4 увеличава експресията на гена TLR2. TLR2 участва в антивирусни отговори в резултат на разпознаване на повтарящите се протеинови субединични модели, общи за много вирусни капсиди. Други антивирусни ефекти могат да бъдат медириани от стафилококовия **фаг A5/80** чрез способността му да увеличава експресията на гена IL-2. IL-2 задвижва активността на NK клетките, което е важно за защитата срещу вирусни инфекции. **Фагите могат също да индуцират антивирусен имунитет** чрез повишено регулиране на експресията на дефензин 2, подобно на T4 фагът, който може да индуцира регулиране на гена, кодиращ *hBD2*, многофункционален пептид, експресиран главно в епителни клетки с антивирусна активност. Вирусното инактивиране от този пептид включва директно свързване на вируса чрез *hBD2*, **намаляване на вирусната репликация и модулация на сигналните пътища, необходими за антивирусни ефекти**, както и синтез на **имунни клетки**, допринасящи за антивирусната активност, водеща до понижаване на цитопатичните ефекти при човешки алвеоларни и ларингиални епителни клетки. Експериментални проучвания при мишки разкриват пряка връзка между експресията на бета-дефензин и белодробния имунитет. Също така участието на *hBD2* в антивирусната защита в дихателните пътища е потвърдена при някои човешки заболявания.

Предполага се, че фагите могат да бъдат пренасочени за лечение не само на бактериални, но и на инфекции, включително вирусни и гъбични (*Adv*, *Epstein-Barr virus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*). Изглежда, че има основания да се смята, че фагите могат да бъдат включени сред лекарствата, които в момента се изследват за пренасочване при лечението на COVID-19. Въз основа на горните данни най-вероятното **приложение на фаги в COVID-19** може да бъде **като допълнителна антивирусна терапия**, подобно на съвременната тенденция за комбиниране на фаги с антибиотична терапия при повечето бактериални инфекции. Освен това може да се обмисли **стандартна фаготерапия за лечение на бактериални усложнения от COVID-19**, които се срещат при > 40% от пациентите.

В обобщение, фагите могат да предпазват еукариотните клетки, като се конкурират при вирусната адсорбция и вирусното проникване в клетките, могат да повлияят медириани от вируса клетъчна апоптоза и вирусна репликация. Фагите могат също да

индуцират антивирусен имунитет, докато допринасят за поддържане на балансиран имунен отговор. Освен това, чрез инхибиране на активирането на производството на NF- $\kappa$ B и ROS, **фагите могат да регулират прекомерните възпалителни реакции**, свързани с патологията и клиничния ход на COVID-19. Данните, представени в това проучване са предварителни, но предполагат, че са необходими по-нататъшни проучвания, фокусирани върху потенциала на фаговата терапия поне като допълнително лечение на COVID-19. Необходими са повече проучвания, включително съответни клинични изпитвания, за да се хвърли повече светлина върху потенциала на фагите, за да се помогне в борбата с пандемията на COVID-19.

## **Вторични бактериални инфекции по време на COVID-19: Фагова терапия като алтернатива на антибиотиците?**

**Вторичните бактериални инфекции** се проявяват **по време или след вирусна инфекция(и)** и могат да доведат до отрицателни резултати, а понякога до фатални клинични усложнения. Научните изследвания и развитието на клиничните интервенции до голяма степен се фокусират върху първичния патоген, като изследванията върху всяка вторична инфекция(и) се пренебрегват. В проучване на тема: „*Secondary Bacterial Infections During Pulmonary Viral Disease: Phage Therapeutics as Alternatives to Antibiotics?*“ на авторски колектив *Prasanth Manohar, Belinda Loh, Sudarsanan Athira, Ramesh Nachimuthu, Xiaoting Hua, Susan C. Welburn and Sebastian Leptihn* е подчертано въздействието на вторичните бактериални инфекции, и по-специално тези, причинени от устойчиви на антибиотици щамове, върху резултатите от заболяванията и е изследван **потенциала на фаговата терапия и терапевтичните протеини като обещаващи стратегии за лечение на вторични бактериални инфекции**, включително прилагането им в комбинация с антибиотици.

Установено е, че поне един от седем пациенти с COVID-19 е допълнително засегнат от вторична бактериална инфекция, като 50 % от смъртните случаи по време на епидемията от SARS-CoV-2 са причинени от нелекувани вторични бактериални инфекции, в повечето случаи в белия дроб (*Zhou et al., 2020*).

Половината от смъртните случаи от COVID-19 се дължат на прекарана някаква форма на вторична инфекция (белодробна или друга), която може да е довела до фаталния край на пациента. По време на тежка форма на COVID-19 с пневмония, алвеолите в белите дробове се изпълват с гной и серозна течност, „питателни“ субстрати за патогени, включително *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Тъканите са подложени на цитолитичната активност на вируса и бактериите навлизат по-дълбоко в тъканта, продължавайки да отделят токсини, които допълнително разрушават околните клетки. При фатални случаи на COVID-19, смъртта най-често е резултат от дихателна недостатъчност от тежка пневмония, причинена или само от SARS-CoV-2 или в резултат на вторична бактериална инфекция (*Tetro, 2020*).

Въпреки че антибиотиците не оказват влияние върху самия вирус, почти всички сериозно болни пациенти се лекуват с антибиотици, с цел предотвратяване появата на вторични бактериални инфекции. Всяко покачване на употребата на антибиотици по време на пандемията COVID-19 има пагубен ефект върху нивата на резистентност към антибиотици особено при вътреболничните бактериални патогени (*Reardon, 2020*).



*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* и членове на рода *Proteus*, *Enterobacter* и *Citrobacter* spp. са едни от най-често изолираните бактерии по време на вторични инфекции (Handel et al., 2009). Болниците са общ източник на патогени, които причиняват вторични инфекции, тези т.нар. нозокомиални патогенни инфекции.

Десетилетията злоупотреба и прекомерното предписване на антибиотици доведе до подбор на патогени, които показват мултилекарствена резистентност (МЛР). МЛР е глобално предизвикателство за здравето, тъй като в много случаи не съществуват антибиотици за лечение на такива инфекции, включително вторични инфекции. Вторичните бактериални инфекции се улесняват от експозицията на патоген заедно с имунна система, която не може да реагира по подходящ начин и на двата типа патогени, като последица от първичната вирусна инфекция. За такива пациенти единственият вариант е да поддържат имунната си система и да се предотврати прогресия на инфекцията. **Антибиотичните терапии**, класифицирани като „последен шанс“ или употребата на **изключително високи дози от антибиотици** често имат **отрицателни последици**. Много **ключови човешки патогени** показват **резистентност към антибиотици**, включително метицилин-резистентен *S. aureus* (MRSA), мултирезистентен *Streptococcus*, ванкомицин-резистентен *Enterococci* (VRE), резистентен *Mycobacterium*, карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae* (CRE), колистин-резистентни *Klebsiella*, карбапенем-резистентни- *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. Проблемът с антибиотичната резистентност е изострен от спирането от големите фармацевтични компании на програмите за откриване и разработване на нови антибиотици (Loh u Leptihn, 2020), затова всякакви други възможни алтернативи за лечение на MDR инфекции биха били от полза.

Разпространението на вторични бактериални инфекции по време на първично вирусно заболяване се дължи на променения имуноен отговор към един патоген (тук: вирусът), който често променя реакцията на системата към другия инфекциозен агент (тук: бактерията), която води до повишена заболяемост (Hendaus et al., 2015). Тежките вирусни инфекции предизвикват промени в имунния отговор на гостоприемника, които персистират за продължителен период от време. Тези имунни изменения, наречени „трениран имунитет,, „вроден отпечатък,“ или „имунна парализа“ (“*trained immunity*,” “*innate imprinting*,” or “*immune paralysis*”), променят възпалителния отговор на имунните клетки (Williams et al., 2004; Cheng et al., 2014; Roquilly et al., 2017; Morgan et al., 2018). Освен това вирусните инфекции на дихателната система могат да доведат до имунни реакции, които променят микробиома на гостоприемника. Тази промяна в микробиома се предполага, че е възможно да модулира имунната клетъчна подготовка срещу вторични бактериални предизвикателства (Hanada et al., 2018).

За пациенти с вирусно-бактериални смесени инфекции наличието на терапевтични възможности и за двата инфекциозни агента е от решаващо значение. Антивирусните средства се използват за борба с вируса, като нямат ефект върху бактериалните патогени (McCullers, 2011), а бактериалните инфекции се лекуват с антибиотици. За да се предотвратят усложнения, причинени от вторични бактериални инфекции и за премахване на бактериалните патогени, са необходими алтернативни антибактериални терапии като фаговата терапия.

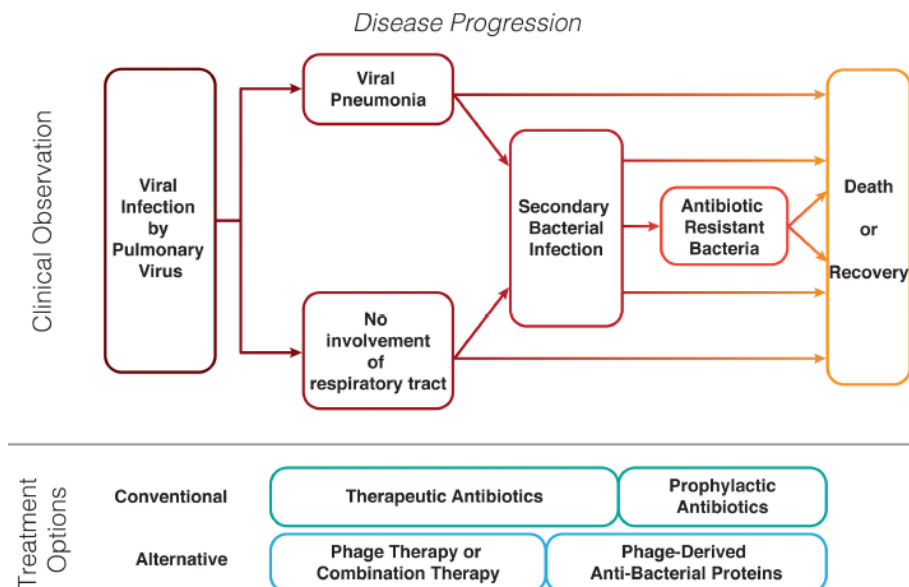
На пациентите, страдащи от белодробна инфекция, включително COVID-19, често им се прилагат профилактични антибиотици, включително азитромицин,

моксифлоксацин, цефтриаксон, ванкомицин или цефепим, за да се намали риска от вторични инфекции, често в допълнение към друг антибиотик, който се използва след установяване на инфекцията (*Holshueet et al., 2020; Wang et al., 2020*). Тъй като броят на устойчивите на антибиотици бактериални щамове продължава да расте, има повишен риск от суперинфекция при тежко болни пациенти, особено в интензивните отделения. По време на пандемията COVID-19 са съобщени много клинични проучвания на COVID-19 пациенти, но основно се фокусират върху самата вирусна инфекция. Има малко сведения за вторични бактериални инфекции и още по-малко описващи АМР. Докато ваксината не бъде приложена в световен мащаб, бактериалните вторични инфекции ще продължат да бъдат важни при лечението с COVID-19. Изводът е, че трябва да бъдат разработени нови антибиотици или алтернативни лечения, като фаговата терапия или фаг-извлечени терапевтични протеини, насочени срещу вторични бактериални инфекции за COVID-19 и последващи пандемии.

**Фагите и терапевтичните протеини, извлечени от фаги имат предимства и недостатъци в сравнение с антибиотичните терапии.**

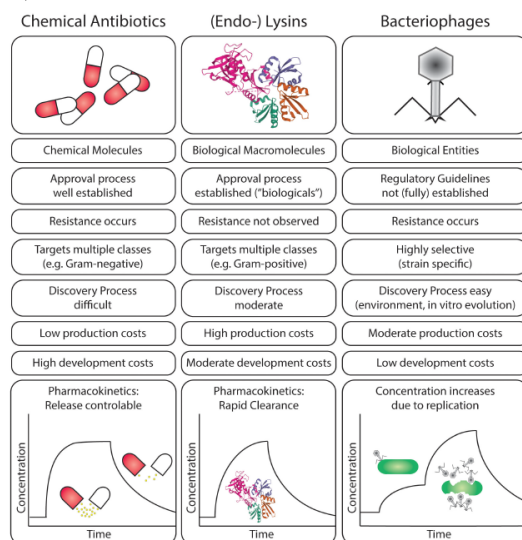
- Голямо предимство на бактериофагите е, че те проявяват бактериална специфичност на гостоприемника (*Seguin et al., 2006*) и селективно се насочват към патогенни бактерии без неблагоприятно въздействие върху нормалната микрофлора (*Brussow, 2005*). Фагите могат да бъдат родово или видово-специфични, и дори щамово специфични. Тъй като повечето вторични бактериални инфекции са причинени от един бактериален род, вид или шам, **фаговата терапия предлага обещаваща възможност за лечение.**
- Клиничните проучвания, използващи фаги, са показали успех в елиминирането на резистентните бактериални щамове (*Capparelli et al., 2007; Kutter et al., 2010; Chan et al., 2013*).
- Самовъзпроизвеждащият характер на фагите им позволява да функционират като „активни и самовъзстановяващи се“ лекарства, приложени на пациента, така че дозата е по-малко важна за достигане на терапевтични нива.
- Фагите показват ниска токсичност, състоят се главно от протеини и ДНК и в крайна сметка претърпяват разграждане в тялото на пациента. Разграждането на фаговите частици не води до производство на токсични молекули, за разлика от антибиотиците.
- Тъй като повечето вторични бактериални инфекции възникват при имунокомпрометирани или имунодефицитни пациенти, е необходимо да се проучи ефикасността на фаговата терапия при такива условия.
- Фагите не предизвикват имунен отговор, за разлика от човешките патогенни вируси (*Manoharet al., 2019a*). Нивата, на които прилаганите фаги могат да индуцират имунен отговор, са добре проучени и не са наблюдавани нежелани странични ефекти (*Borysowski u Gorski, 2008; Ahmadi et al., 2016; Jault et al., 2019; Voelker, 2019*).
- Въпреки че няма доказателства, показващи ефикасността на фаговата терапия по време на вирусни инфекции, бактериофагите са ефективни профилактични средства (*Ahmadiet al., 2016*).
- Редица фактори могат да доведат до фагова резистентност на патогенните бактерии, като например промяна във фаговите рецептори на бактериалната

клетъчна повърхност; разграждане на фаговата ДНК чрез ограничаване на ендонуклеазата, получена от бактериите гостоприемници; появата на механизми, които инхибират проникването на фаговата ДНК в бактериалния гостоприемник и др. (Jo et al., 2016; Valerio et al., 2017). При определени условия, като ниско ниво на фаги спрямо бактериални патогени, или когато се използва единичен фаг за лечение на инфекция, могат да се появят бактерии, резистентни на бактериофаги. Този подбор на резистентни мутанти е недостатък на фаговата терапия.



Фиг. 2: методи на терапия при COVID-19

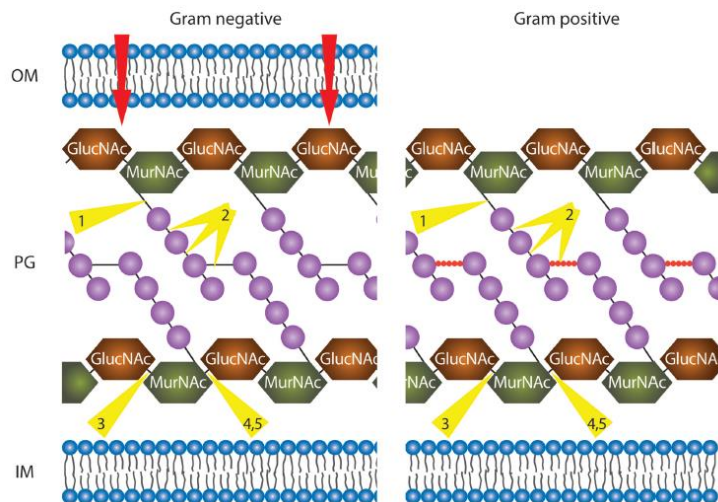
Добро решение за преодоляване на тази бактериална резистентност е провеждането на комбинирана терапия (синергична терапия). Очаква се комбинираното синергично използване на фаги и антибиотици да осигури по-силно потискане на бактериалния растеж и се очаква да помогне за намаляване на бактериалната резистентност срещу фаги и антибиотици. Последните *in vitro* и *in vivo* проучвания показват подобрена ефикасност при контролирането на растежа на бактериални патогени като *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *S.aureus*, като се използват комбинации от фаги и антибиотици (Torres-Barcelo et al., 2016; Chaudhry et al., 2017).



Фиг. 3: Синергично действие на бактериофаги и антибиотици

Съобщава се в доста проучвания, че **фаг-антибиотичната терапия** има **повисока успеваемост в предотвратяването на появата на бактериална резистентност**, тъй като бактериите, които стават нечувствими към единия агент, все още могат да бъдат убити от другия и обратно. Фаг-антибиотичната терапия може да предотврати появата на двойно резистентни изолати.

**Фаговите протеини** могат да бъдат извлечени и „проектирани“ като алтернатива на целия фагов терапевтичен ефект. Ендолизините са ензими, кодирани от фаги, произведени в края на бактериофаговия литичен жизнен цикъл, които улесняват освобождаването на фаговото потомство в околната среда, разрушавайки пептидогликановия слой на бактериалната клетъчна стена на гостоприемника (*Imanishi et al., 2019*). Способността на ендолизините да смилат бактериалната клетъчна стена, когато се прилага екзогенно, предлага възможност за тяхното разполагане като **потенциални антибактериални агенти**, да се прицелват и убиват патогенни бактерии, потенциално без да навредят на нормалната микрофлора поради специфичността на ензимната активност (*Haddad Kashani et al., 2017*). Шансовете бактерии да развият резистентност към ендолизини са ниски (*husiak-Szelachowska et al., 2020*). Ендолизините от фаги са обещаващи кандидати за лечение на вторични бактериални инфекции или мултилекарствено резистентни бактериални инфекции (*Imanishi et al., 2019; Kim et al., 2020*). Съществуват пет основни класа ендолизини въз основа на тяхната ензимна специфичност (*Schmelcher et al., 2012*).



Фиг. 4: схематично представени класовете ендолизини от бактериофаги

Повечето естествени ендолизини имат ограничен ефект върху Грам-отрицателните бактерии, тъй като външната мембрана (OM) предпазва пептидогликановия слой от атака от ензима. Ефикасното ендолизин медирано инактивиране на Грам-отрицателните патогени обаче може да бъде постигнато чрез химична/физическа пермеабилзация на OM, или чрез създаване на ендолизин-пептидни-фузии, които имат способността да пермеабilizират OM (*Briersu Lavigne, 2015*).

Тъй като фагите са много специфични, „коктейлът от бактериофаги“ трябва да съдържа различни видове фаги. Фаг-получените терапевтични протеини като

ендолизините биха били изгодни, тъй като те биха имали по-ниска специфичност към бактериите и могат да инактивират по-широк кръг от бактериални патогени.

## **Бактериофагите могат да бъдат потенциален променящ играта терапевтичен агент в траекторията на коронавирусната пандемия (COVID-19)**

Както стана ясно и от предходните цитирани проучвания, увреждането на имунните функции може да забави производството на антитела и обикновено се очаква при пациенти в старческа възраст, което може да бъде част от причината за високата възрастова смъртност, наблюдавана при пациенти с Covid-19.

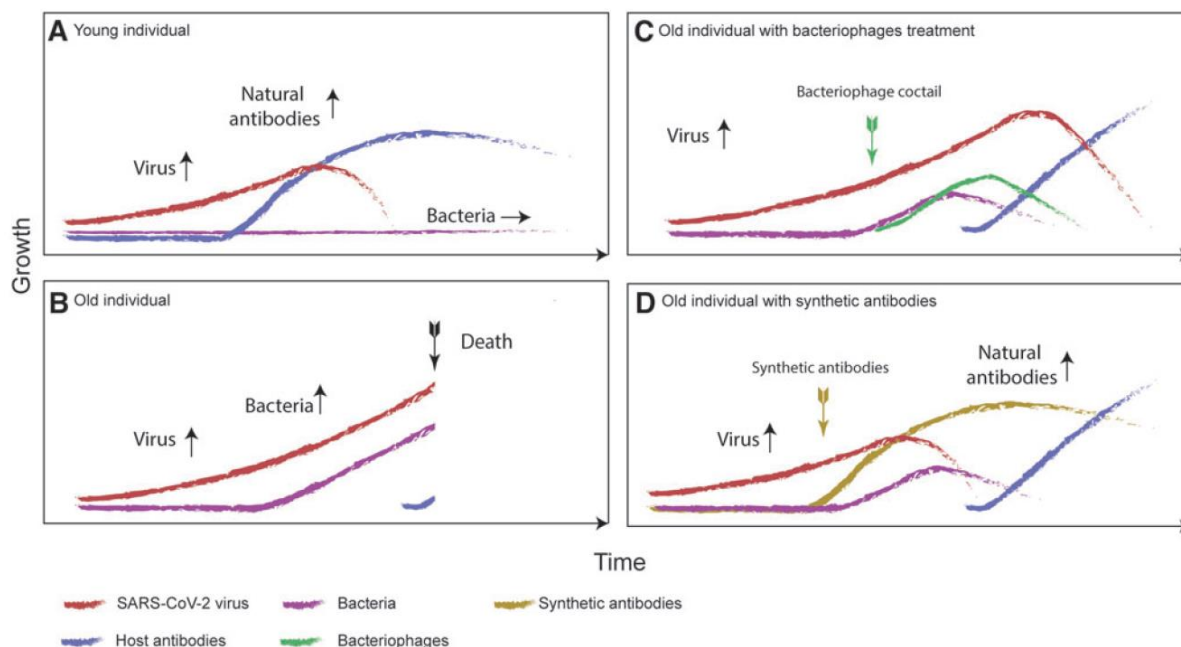
Скорошен преглед показва, че бактериалните инфекции, включително *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*, също са документирани при пациенти, болни от Covid-19, особено в интензивно отделение. При починали пациенти е доказан сепсис и вторична бактериална инфекция, въпреки че не са съобщени подробни резултати от бактериологията.

**Средното време, дадено за тези вторични бактериални инфекции да се развият е 17 дни**, въпреки че обхватът във времето е доста голям. Правдоподобно е, че бактериалните инфекции започват да колонизират преди да се развие остър респираторен дистрес синдром.

Ако приемем, че бактериалният растеж, заедно със забавеното производство на антитела, е значителен фактор за смъртността при Ковид-19, то тогава допълнителното време, необходимо за адаптиране на имунната система на човешкото тяло за производство на антитела, може да се осигури чрез намаляване на бактериалния растеж в дихателната система на пациента. Ако растежът на бактериите в белите дробове може да бъде спрял, тогава скоростта на увеличаване на течността в белите дробове също трябва да се намали. Въпреки това, тъй като растежът на вируса е експоненциален, може да се наложи да се намали вирусния товар едновременно с бактериалния товар, за да се забави имунологичния отговор.

Доказано е, че атаката на бактериофагите е специфична, което означава, че един вид бактериофаг е насочен само към един вид бактерии. Сценарият на атаката в едно от проучванията е както следва: (1) бактериофагът се прикрепва към податлива бактерия, заразява единствено бактериалната клетка на гостоприемника и (2) отвлича биохимичните “машини” на бактерията, за да произвежда множество копия от себе си. (3) бактерията след това претърпява унищожаване (лизиране) и нови копия на бактериофага се освобождават и заразяват изключително други бактерии от същия вид в съседните райони.





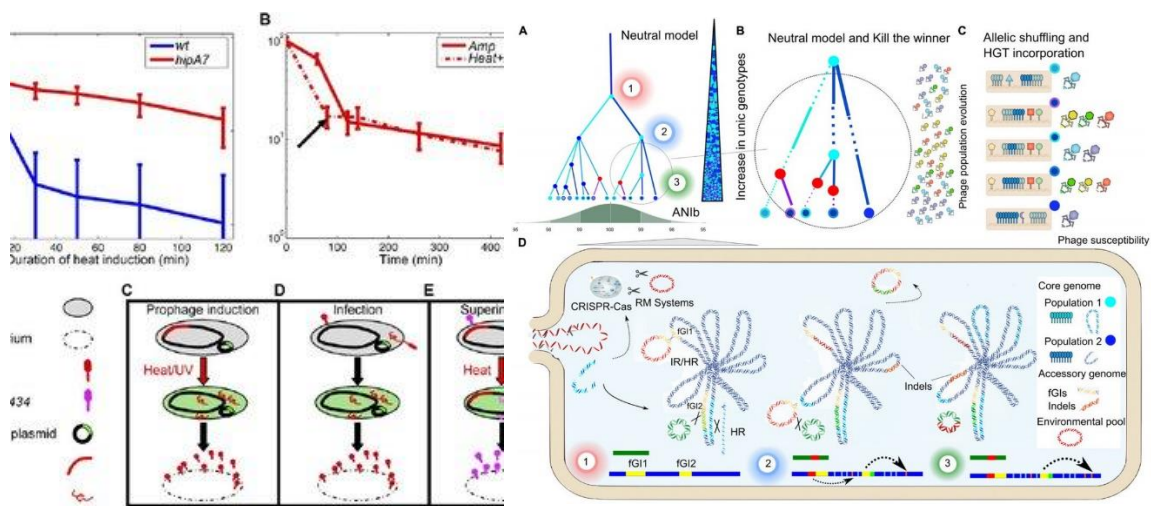
Фиг. 5.: Теоретични времеви курс за растеж на вируса SARS-CoV-2 (червени криви), бактериален растеж (лилави криви) и производство на антитела (сини криви) за четири сценария. (А) Млад здрав човек, който няма проблеми с развитието на антитела срещу вирусната инфекция. (Б) Стар човек, който има забавено производство на антитела, което води до бактериален растеж, както и увеличаване на растежа на вируса. (В) Стар индивид, за който бактериофаговия коктейл е въведен като част от стандартната терапия. Увеличението на бактериофагите е отбелязано (зелена крива) съобразно времето на лечение (зелена стрелка). Връзката между бактериофагите и бактериите може да бъде описана от модела на популацията Lotka-Volterra. Вирусният товар не намалява, докато не се създадат естествени антивирусни антитела на организма, но не се осигурява и повече време, за да се случи това. (Г) Стар индивид, за който са въведени синтетични антитела (кафява крива), създавайки незабавно намаляване на вирусния товар и за пореден път осигурява време за производството на естествени антитела. SARS-CoV-2, тежък остър респираторен синдром коронавирус 2.

С помощта на техниката, наречена *phage display therapy*, спомената по-горе в изложението, бактериофагите имат потенциала бързо да произвеждат рекомбинантни антитела. Тази техника за производство на антитела е разработена за MERS-CoV и успешно прилагана. При тази техника, могат да бъдат „проектирани“ блокиращи взаимодействието с ACE2 рецептора механизми посредством серума на имунните пациенти. Методът подчертава възможността за използване на сурови антигени за изолиране на моноклонални антитела чрез *phage display therapy*. Преди това производството на изкуствени антитела се извършва предимно чрез използване на опитни животни. Друга полза от този метод е, че моноклонални антитела, произведени чрез *phage display therapy* могат да бъдат лесно прилагани и в хуманната медицина.

Употребата на антитяло терапия за контрол на вирусните заболявания вече е преразгледана и някои терапии са одобрени за тестване върху хора. Като пример, компанията **ProteoGenix** стартира проучване за откриване на терапевтични антитела чрез скрининг на антитяло библиотека с човешки изолати (*Liab-SFMAX™*, *scFv*, *Fab*, *IgG*) или библиотека с имунни човешки антитела (получени от плазмата на пациенти с COVID-19) чрез използване на техниката *phage display*. Това показва, че терапевтичното откриване на антитела е много осъществимо в обозримо бъдеще.

Ето защо има два основни начина, по които бактериофагите могат да се използват за намаляване на смъртността от пандемията Covid-19. Те могат да се използват за намаляване на популацията на бактериите в дихателната система на пациента и/или *phage display therapy* могат да се използват за ефективно производство на синтетични антитела срещу SARS-CoV-2.

Бактериалната скорост на растеж може потенциално да бъде намалена от аерозолното приложение на бактериофаги, които инвазират основните видове бактерии, за които е известно, че причиняват респираторни синдроми. Това може да се случи по саморегулаторен начин. Експоненциалният растеж на бактериофаговата популация, трябва да позволи бърз клирънс, особено в случаите, когато бактериалната популация вече е нараснала значително. Връзката може да бъде описана посредством модели *Lotka-Volterra* или *Kill-the-Winner*.



Фиг. 6: схематичен изглед на моделите *Lotka-Volterra* или *Kill-the-Winner*

**В заключение,** профилактично прилаганите бактериофаги намаляват белодробните бактериални тежести и осигуряват подобрена преживяемост на резистентни към антибиотици заразени индивиди с различни бактериални патогени.

Във всички тези цитирани проучвания са направени **научни предположения, заключения и препоръки**, които трябва да бъдат взети предвид по време на клиничните проучвания:

- (1) Подходите трябва да бъдат избрани, за да има висока вероятност за повлияване на бактериалните инфекции.
- (2) Трябва да се гарантира, че да има правилния избор на бактериофаги, които са насочени към оптималните целеви бактерии и са най-ефективни за намаляване на растежа на популацията на бактериите.
- (3) Бактериофагите не трябва да влияят на вродената или адаптивната имунна система на пациента.
- (4), (5) Друга пречка може да бъде рискът от бактерии развиващи резистентност към бактериофагите, според споменатия коеволуционен процес. Въпреки това, това е по-малко сериозния проблем от колкото този с антибиотичната резистентност, тъй като са открити възможности бактериофагът да се адаптира и да преодолее всяка резистентност към него,

(6) Бактериофагите са толкова специфични за един вид бактерии и има много минимален шанс бактериофаговият препарат да увреди полезни коменсални бактерии, но това все още трябва да бъде проверено в клинични проучвания. Трябва да се отбележи, че смисълът на бактериофаговата терапия е да се намали бактериалния растеж в критична ситуация като коинфекция с вируси и следователно да се даде на пациента повече време да се възстанови от инфекцията Covid-19, в частност.

(7) Съществува доказан потенциал на бактериофагите да навлизат в дихателната система на пациентите по различен начин и да действат различно спрямо антибиотиците, за да се намали смъртността на пациентите, заразени с вируса SARS-CoV-2.

(8) Интензивното използване на антибиотици, насочени срещу Covid-19 в клинични условия може допълнително да доведе до разпространение на бактериална резистентност в болниците. Използването на бактериофаги може да намали натоварването върху АМР и да е в помощ за преодоляване на този проблем.

(9) Съществуват и научни хипотези, проучвания и предположения, които трябва да бъдат изпълнени по време на клиничните проучвания относно прогнозното моделиране на поведението на SARS-CoV-2 и развоя на Covid-19, като бъдат използвани и включени най-лошите сценарии като (възраст >80) и висок вирусен товар; трябва да бъдат тествани и осигурени правилният набор антитела, които са насочени към епитопа на вируса и нищо друго в човешкото тяло; не на последно място трябва подбраните антитела да не причиняват недостатъчност на имунната система (анафилактичен шок); задължително е дозата и честотата на терапията с антитела да бъдат математически моделирани; и системата за доставка на тези антитела трябва да бъде ефективна.

(10) Преди да бъдат избрани кандидат бактериофаги, ще трябва да се направят внимателни литературни проучвания, за да се провери за потенциални известни взаимодействия. Например, доказано е, че някои бактерии могат да произвеждат биофилм, когато са изложени на съответните им бактериофаги, което би могло да бъде пречка за развитието и внедряването на тези методи като лечение за пациенти с Covid-19. Въпреки че повечето бактериофаги убиват техните бактериални гостоприемници, други могат да съществуват вътре в тях, без да ги убиват. Също така, уроците и изводите от последните проучвания по темата трябва да бъдат внимателно проследени, трябва да има обмяна на професионален опит и колаборация между институциите и заинтересованите страни за максимална успеваемост, висока ефективност и безпроблемно внедряване на такъв тип терапия в рутинната схема на лечение на Covid-19. Например, публикувани са данни за сложна имунна дисрегулация при някои Covid-19 пациенти с тежка дихателна недостатъчност. Публикувани са и доста имунологични прегледи, в които авторите идентифицират големи пропуски в знанията, които трябва да бъдат разгледани от научната общност.

(11) Въпреки недостатъците, които бяха изтъкнати, ако лечението с помощта на бактериофагова терапия може да се развие и усъвършенства, е вероятно да се окаже практичен подход, тъй като бактериофагите могат да бъдат произведени сравнително бързо и евтино. Производството на антитела чрез техниките на *phage display* ще има някои производствени разходи, но поради големия напредък в областта, развитието трябва да бъде просто, не отнемашо много време и ресурс. Бактериофагите също могат да се съхраняват и транспортират лесно. Бактериофагите имат потенциала да бъдат практическо средство за смекчаване на пандемията, причинена от SARS-CoV-2, особено при пациенти с вторична бактериална инфекция и висок вирусен товар. Доказва се в

различни научни разработки все повече, че е малко вероятно да има някакви значителни странични ефекти и че тази терапия има потенциала да спаси голям брой животни.

(12) След прегледа на *O'Neill* и препоръките през 2016 г. за противодействие на кризата с АМР и международни инициативи като годишната световна седмица на антибиотичната осведоменост повишават разбирането и знанията за АМР и осведомеността на обществото от необходимостта за разумно използване на антибиотиците. С потенциала на фаговата терапия, който е демонстриран в хиляди научни проучвания би могла да се намали АМР и употребата на антимикробни средства особено при вирусни заболявания. С внедряването на фаговата терапия би могло да спадне и изписването на антибиотични средства и нерегламентираната и прекомерна употреба на АМС с цел превенция. Антибиотиците трябва да се използват отговорно и пестеливо, като се прилагат като емпирична терапия на тези случаи с висока вероятност от бактериална инфекция, като се вземат предвид данните за локална резистентност.

(13) Намалването на употребата на антибиотици при продуктивни животни има за цел да запази ефекта и терапевтичната успеваемост като лечение с антибиотици за хората. В това отношение през 2006 г. ЕС забрани употребата на антибиотици като стимулатор на растежа във фуражите за животни. От тогава е постигнат значителен напредък. Последният доклад от *ESVAC*, публикуван през октомври 2020 г., показва, че продажбите на антибиотици за употреба при животни в ЕИП и Швейцария са спаднали с повече от 34 % за периода 2011-2018г. Заплахата от придобиване на резистентност от животинските видове, храните и от дивите животни, идентифицирани като резервоар, продължава да е все пак на лице и е наложително да бъде следван интегрирания многосекторен подход в духа на стратегията „*One Health*“, фокусирайки се не само върху общественото здраве и здравето на животните, а и върху аквакултурите, дивата природа и околната среда. Все повече проучвания доказват ефективността на техники като трансплантацията на фекален микробиом или пък фаговата терапия като алтернативи в борбата с упоритите резистентни патогенни бактерии, а може би в бъдеще и вируси. От гледна точка на глобалното здраве АМР е проблем, който налага интегриран многосекторен подход с подходяща финансова подкрепа, за да се намери задоволително решение. Кризата с COVID-19 с внезапната поява на *SARS-CoV-2* задължително трябва да бъде разглеждана и през призмата на АМР.

Фаговата терапия или като самостоятелно лечение или в комбинация с антибиотици или пък терапията с ендолизини, продукти от жизнения цикъл на бактериофагите могат да предложат ценна алтернатива за лечение на вторични бактериални инфекции. Клиничните проучвания трябва да оценяват ефикасността на тези алтернативни терапии при пациенти, инфектирани с вируси като CoV.

Белодробните CoV вероятно ще бъдат клинично предизвикателство в продължение на много години. Вирусните пандемии от CoV и нововъзникващите патогени са неизбежни в нашия глобализиран свят с взаимосвързани общества, пътувания и търговия. Необходимо е да сме добре подготвени за дългосрочно управление на COVID-19 и за следващата пандемия, както и да бъдат проучвани и създавани нови алтернативи за лечение на бактериални и вирусни инфекции. При предотвратяването на здравната криза, дължаща се на COVID-19 и резистентността към антибиотици при вторични бактериални инфекции, медицински интервенции, използващи фагови продукти или фагова терапия, може да са най-обещаващите възможности.

Изготвил:

Красимира Захаријева,

Главен експерт в дирекция ОРХВ, ЦОРХВ

**Използвана литература:**

- Bacteriophages Could Be a Potential Game Changer in the Trajectory of Coronavirus Disease (COVID-19) - Marcin W. Wojewodziec, PhD - DOI: 10.1089/phage.2020.0014
- Multidrug-Resistant Bacterial Infections in Geriatric Hospitalized Patients before and after the COVID-19 Outbreak: Results from a Retrospective Observational Study in Two Geriatric Wards - Beatrice Gasperini, Antonio Cherubini, Moira Lucarelli, Emma Espinosa and Emilia Prospero
- Could bacteriophages be the answer to the COVID-19 crisis? - Antal Martinecz & Marcin W. Wojewodziec - DOI: 10.1080/14787210.2021.1836960
- Activity profiling and crystal structures of inhibitor-bound SARS-CoV-2 papain-like protease: A framework for anti-COVID-19 drug design - Wioletta Rut, Zongyang Lv, Mikolaj Zmudzinski, Stephanie Patchett, Digant Nayak, Scott J. Snipas, Farid El Oualid, Tony T. Huang, Miklos Bekes, Marcin Drag, Shaun K. Olsen
- Phages in the fight against COVID-19? Andrzej Gorski, Jan Borysowski, Maciej Żaczek, Ryszard Międzybrodzki
- Secondary Bacterial Infections During Pulmonary Viral Disease: Phage Therapeutics as Alternatives to Antibiotics? - Prasanth Manohar, Belinda Loh, Sudarsanan Athira, Ramesh Nachimuthu, Xiaoting Hua, Susan C. Welburn and Sebastian Leptihn
- Antimicrobial multidrug resistance in the era of COVID-19: a forgotten plight? - Eric Pelfrene, Radu Botgros and Marco Cavaleri