

噬菌体治疗研究进展

王 盛 童贻刚*

(军事医学科学院微生物流行病学研究所病原微生物国家重点实验室 北京 100071)

摘要: 噬菌体发现之初,便被前苏联和东欧医学界用来治疗细菌感染。但是,随着抗生素时代的到来,人们慢慢忽略了对噬菌体的深入研究。近来,由于全球耐药菌感染率不断攀升,用抗生素治疗细菌感染面临了前所未有的挑战,一些科学家和临床工作者开始重新把注意力集中到噬菌体研究上来,并在这个领域取得了极大的进展,尤其是通过大量的实验证明:噬菌体可以有效地提高细菌感染的实验动物的存活率。本文就近几年国内外的科研工作者在噬菌体治疗领域所取得的进展做一综述。

关键词: 噬菌体,噬菌体治疗,细菌感染

Recent Advance in Bacteriophage Therapy

WANG Sheng TONG Yi-Gang*

(State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Department of Pathogenic Molecular Biology Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, China)

Abstract: At the time of phage's discovery, phage therapy was regarded as a possible treatment method against bacterial infection. Although phage therapy was used to treat and prevent bacterial infection in the former Soviet Union and Eastern Europe, it was abandoned by the West in the 1940s with the arrival of the antibiotic era. However, the ongoing evolution of bacterial multidrug-resistance has recently motivated the Western scientific community to reevaluate phage therapy for bacterial infections that are incurable by conventional chemotherapy. With the in-depth study of phages, it's increasingly acknowledged that phages, as the medicine to cure bacterial infection, are convenient, safe and efficient therapeutics. This paper summarizes the recent years' advanced researches in this area.

Keywords: Bacteriophage, Bacteriophage therapy, Bacterial infection

近些年来,由于人们不当地服用抗生素类药物治疗细菌感染,导致了一系列耐药病原菌的出现^[1-3],如:结核杆菌、粪肠球菌、金黄色葡萄球菌、鲍氏不动杆菌和绿脓杆菌,引起了公众的广泛关注,尤其是耐青霉素金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)的出现,使人们意识到,用抗生素治疗革兰氏阴性菌的时代已接近终点^[4]。同样使人

担忧的是研发新型抗生素的速度远远低于细菌对抗生素产生抗性的速度,Spellberg等人^[5]对全球最大的15个跨国制药公司的研发部门进行调查得出结论:目前只有5个抗生素制剂处于研发阶段。未来十年,可以用于临床的、新的抗生素的研发前景堪忧。这最终促使一部分科研工作者投身于噬菌体治疗这一研究领域中来,并取得了极大的进展^[6]。

* 通讯作者: Tel: 86-10-66948407; 信箱: Tong.YIgang@gmail.com
收稿日期: 2008-11-04; 接受日期: 2009-02-16

自2000年以来,国外已经有多篇有关噬菌体治疗的综述发表^[6-20],而本文立足于近几年的最新进展,着重综述了噬菌体在模型动物和临床治疗上的应用。

1 噬菌体的生物学特征

噬菌体(Bacteriophage, phage)是能够感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒的总称,因部分能引起宿主菌的裂解,故称为噬菌体,最早是由Twort和Herelle D分别于1915年和1917年发现的。在过去的三、四十亿年里,噬菌体与细菌共同进化,并不断发展壮大,据Brussow等人的数据^[21],地球上大概有 10^{32} 个噬菌体存在,这个数据大概是细菌数量的十多倍。可以说,凡是有细菌分布的地方,就会有噬菌体的踪影^[22]。尽管噬菌体数量庞大,但大概可分为13个科,其中长尾噬菌体科(Siphoviridae)、肌尾噬菌体科(Myoviridae)和足状噬菌体科(Podoviridae)这3个科,共15个属,包含了大部分的噬菌体,其余噬菌体分属于剩余的10个科^[23]。

噬菌体有严格的宿主特异性,不能感染哺乳动物的细胞,只寄居在易感宿主菌体内。一种噬菌体往往只侵染一种细菌,或只侵染某一菌株。

从生活周期上讲,噬菌体可分为烈性噬菌体和温和噬菌体两种类型^[24]。侵入宿主细胞后,随即引起宿主菌裂解的噬菌体称作烈性噬菌体。烈性噬菌体被看作正常表现的噬菌体。温和噬菌体则是:当它侵入宿主细胞后,其核酸附着并整合在宿主染色体上,和宿主核酸同步复制,宿主菌不裂解而继续生长。从噬菌体治疗的角度考虑,温和噬菌体的可用价值不高,我们通常提到的噬菌体均为烈性噬菌体。

2 噬菌体作为治疗性制剂的优势

1) 噬菌体特异性强,只针对相应的病原菌,而不会破坏正常菌群。传统抗生素治疗在杀灭致病菌的同时,也破坏了消化道及泌尿生殖道等部位的正常寄居菌,从而导致微生态失衡,引起机会性感染甚至更严重的全身性感染。

2) 噬菌体的作用机制与抗生素完全不同,治疗效果不受细菌耐药性的影响。所以他们能够有效的治疗那些由耐药性细菌所引起的疾病。

3) 噬菌体的指数增殖能力是噬菌体治疗的一个显著优势。噬菌体药代动力学显示:在适当的条件下,一个裂解周期内,每个噬菌体会产生200个子代噬菌体,即噬菌体将以 200^n 进行增殖。这就意味着:通常情况下,使用噬菌体治疗只需要给药一次就够了,而抗生素则需要多次给药才能达到治疗效果。

4) 噬菌体治疗的副作用少。很少有噬菌体治疗引起严重副反应的报道,偶尔可出现轻微的细菌内毒素反应,也在可控制的范围内。Bruttin等^[25]让一些健康的志愿者口服纯化后的T4噬菌体制剂,与对照组相比,他们并没有什么不良的症状,而且有足够的证据表明:即使是一些存在免疫缺损的病人服用噬菌体治疗细菌性感染也是很安全的^[26]。

5) 细菌不易对噬菌体产生抗性。Carlson^[27]指出,细菌对抗生素产生抗性的突变频率是 10^{-6} ,而对噬菌体产生抗性的突变频率为 10^{-7} ,联合用药的双突变率降为 10^{-13} 。而且噬菌体可产生适当的变异以适应宿主菌的变异,传统抗生素则不具备这种优势。

6) 噬菌体是宿主菌依赖性的,只在细菌感染部位发生作用,随着宿主菌的清除而死亡,不会残留在体内^[28],而抗生素则进入机体新陈代谢,最终排出体外,有些易在体内残留。

7) 噬菌体研发所需的时间短,成本低,仅通过离心就可以去除细菌碎片得到纯化,常温下易保存、运输^[28]。且从进化的观点来看,完全可以通过自然选择来筛选噬菌体治疗耐药或耐噬菌体的细菌感染,这是抗生素所无法比拟的。

3 噬菌体的临床实例

在国内外的各大期刊中,已经有很多篇优秀的文章详细地介绍了噬菌体及其在抗细菌感染方面的发展历程^[8,21,29,30]。

早在1919年,虽然噬菌体刚刚发现不久,对其生物学特征的研究还很浅显,但是东欧和前苏联便开始运用噬菌体来治疗细菌感染。最初,前苏联(特别是乔治亚民主共和国)对应用噬菌体治疗细菌感染进行了大量的临床实验,主要是集中在治疗由细菌引起的伤口感染,取得了比较理想效果。但是这些临床实验的结果绝大部分刊登在乔治亚和乌克兰的期刊中,并没有传播到西方学者手中,即使有

一小部分传到西方科学界,也由于缺乏周密的实验设计、详细的实验数据和相应的对照实验而受到西方学者的摒弃。而且从商业角度上说,噬菌体治疗很难划定清晰的知识产权,这些都导致西方世界不愿意对噬菌体进行深入的研究^[31]。后来,治疗细菌感染的特效药—抗生素的出现,进一步减缓了噬菌体的研究进程。

直到 2001 年,Chanishvili^[32]才第一次对早期临床工作者的文章进行了详细的综述,客观地指出:虽然这些文章存在一定的不足,但是保存的实验数据是真实可靠的,世界科学界(当然也包括西方科学界)应该重新审视噬菌体作为抗细菌感染药物所具有的巨大潜力。

步入 21 世纪后,正是基于一些科研工作者的倡导和耐药菌的广泛出现,促使人们谨慎的应用噬菌体到临床治疗上来。尽管我们还不确定噬菌体通过口服或者注射入人和动物体内后具体的新陈代谢情况,但是有一点可以肯定,无论是口服、吸入或者是注射,我们都可以在血液中检测到噬菌体的存在^[33,34]。在英国,曾经应用噬菌体来治疗由绿脓杆菌引起的慢性耳部感染,据在 2008 年噬菌体大会上公布的数据,共有 24 名患者接受了治疗,治疗 3 周后,实验组有 50% 的患者症状消失,而对照组只有 20%;从实验组患者耳部分离到的细菌数量减少了 80%,而对照组非但没有降低,甚至有所升高^[35]。而在比利时布鲁塞尔,医学伦理委员会也于 2007 年批准医务工作者用噬菌体治疗由绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌引起的烧伤后感染^[36]。

不得不承认,由于作为治疗药物的特殊性,噬菌体还没有真正应用于临床治疗。但是应用噬菌体治疗动物细菌感染的研究却早在上世纪七八十年代便开始了。

4 动物实验

随着西方科学届越来越多地把注意力集中到噬菌体研究上来,一些学者尝试着通过更为严谨详细的实验来重新评估噬菌体临床治疗的实用价值。其中 Smith 和 Huggins 可以说是这方面的先驱。他们在上世纪七、八十年代出色地进行了大量的实验,先后发表的 5 篇文章^[37-41]引起了科学界极大的反响。人们深刻地意识到:噬菌体在治疗实验动物的细菌

感染上是切实有效的,未来将极有可能成为治疗人类细菌感染的有效武器^[42]。

最近, Tanji 等人^[43,44]从动物和人的粪便中分离到多株噬菌体,从中筛选出了宿主谱最宽的 3 株,制成混合制剂,用来裂解 *E. coli* O157:H7。实验结果显示:这种混合制剂能够成功的裂解体外培养的 *E. coli* O157:H7 菌株,把它喂给被 *E. coli* O157:H7 感染的小鼠,小鼠肠道内的 *E. coli* O157:H7 被完全清除。2006 年, Sheng 等人^[45]进行了相似的实验,得到了更为详细的数据。在这个实验中, Sheng 主要使用了两种噬菌体(一种是 Kudva 在 1999 年筛选的 KH1 噬菌体^[46],另一种是新分离到的宿主谱较 KH1 更广的 SH1 噬菌体)、3 种实验动物(7 月龄的雌性萨福克羊、8 个星期大的雌性瑞士韦伯斯特小鼠、6 月龄的雄性荷尔斯坦因乳牛)。首先,给实验动物喂食适量浓度的 *E. coli* O157:H7 悬浊液,然后在不同的时间段喂食 KH1、SH1 噬菌体溶液或 SH1 和 KH1 噬菌体混合液,并设立相应的对照组,实验结果显示:所有实验动物均健康成活,没有因为感染 *E. coli* O157:H7 而死亡。

2007 年是噬菌体研究大丰收的一年,在这一年中,有多篇具有指导意义的文章发表。Atterbury 和他的研究小组^[47]从早先分离的 232 株沙门氏菌噬菌体中挑选了宿主谱最宽的 3 株,用来清除食用鸡体内的沙门氏菌,最终得出结论:这 3 株噬菌体可以显著的减少食用鸡体内的肠炎沙门氏菌和鼠沙门氏菌的浓度。而 Capparelli^[48]用分离到的噬菌体 M^{sa} 治疗被耐青霉素金黄色葡萄球菌感染的小鼠时,有效率达 97%。

Watanabe 等人^[49]以小鼠为实验对象,应用分离到的噬菌体 KPP10 治疗由绿脓杆菌引起的小鼠肠源性败血症,有效率达 66.7%。基于此, McVay 的研究小组^[50]进行了针对性更强的实验。他们把分离到的 3 株绿脓杆菌噬菌体混合在一起,通过肌肉、皮下或腹腔注射的方式,来治疗由于烧伤而感染绿脓杆菌的小鼠,结果显示:这 3 种给药方式都能有效地提高小鼠的成活率(由 6% 上升到 22%~87%),其中腹腔注射效果最好(高达 87%),这在一定程度上推动了噬菌体的临床应用。

近两年我国也有一些相关的文章发表,其中 Wang 2006 年发表于国际分子医学杂志(International

Journal of Molecular Medicine)上的2篇文章中^[51,52],分别应用噬菌体治疗耐西司他丁绿脓杆菌(Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, IMPR-Pa)和产超广谱β-内酰胺酶大肠杆菌(EBSL-producing *E. coli*)引起的感染,均能够极大的降低感染动物的死亡率。

从目前发表的文章来看,分离到的噬菌体多针对革兰氏阴性菌,而有关革兰氏阳性菌的报道比较少。2002年,Biswas等^[53]报道:他们运用噬菌体成功地治疗了感染了耐万古霉素屎肠球菌(Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, VRE)的小鼠。VRE具有耐万古霉素的特性,有报道称,就连一些新研发的抗生素,如:利奈唑胺、奎奴普丁和达福普汀它也同样具有抗性,这为治疗VRE感染造成了很大的困难。因此,尝试运用噬菌体治疗VRE的感染具有特殊的意义。在此实验中,Biswas等把浓度为 10^9 CFU的VRE腹腔注射入小鼠体内,48 h后,小鼠全部死亡,而在实验组中,注射VRE 45 min后,再注射入 3×10^8 PFU的噬菌体培养液,所有小鼠均正常存活。

5 噬菌体治疗的发展趋势

噬菌体具有严格的宿主特异性,只能裂解某一种细菌,甚至是某一株细菌,这一方面使其具有的副作用极小,不会影响到人体内的正常菌群,另一方面却为科研工作者们提出了个难题:当患者感染某种细菌后,我们无法快速的确定此细菌的株系,也就无法确定选择哪一种噬菌体治疗。所以,Carlton建议^[54]:我们可以慎重的筛选噬菌体,并把不同宿主谱的噬菌体混合在一起联合用药,这从某种意义上讲就是扩大了噬菌体的宿主谱;另外,我们也可以通过分子生物学的方法改造噬菌体,扩大它的宿主谱,使其能够特异性裂解某一种属的细菌,甚至不同种属的细菌。很显然,从生物技术的角度来说,后一种方法是更加切实有效的,因为我们已经可以通过分子生物学的方法,相对容易的改造优化噬菌体了。

其次,筛选、培育能在体内长期循环的噬菌体也是一大趋势。为延缓机体免疫系统对噬菌体的清除,延长噬菌体在体内存留时间,我们可以通过连续传代的方法来筛选那些发生变异后能在体内长期

循环的噬菌体。美国国立卫生研究所及国立癌症研究所合作开发的“系列病原体培育法”,可以分离长期循环的噬菌体株系。这些由系列病原体培育法产生的长期循环的噬菌体与衍生而来的野生型噬菌体相比,在治愈致命性菌血症动物方面的效果更明显。

最近的一些研究显示,噬菌体对于人体具有免疫调节的特性,能够协助机体清除内源的和外源的病原体^[14]。值得一提的是,在机体内,噬菌体能够对细菌、内毒素和核因子kappa B (Nuclear factor-kappa B, NF-κB)的激活做出反应,抑制活性氧的生成^[55-57],这一点值得我们进行深入的研究。

除此之外,噬菌体与抗生素的联合用药、噬菌体融壁酶(Lysin or Endolysin)^[13,58]、通过蛋白质组学的方法找出噬菌体致敏蛋白^[59]等相关研究领域也将有助于噬菌体治疗的发展。

6 展望

毫无疑问,噬菌体作为治疗制剂的前景是非常可观的。但是,如何长期地保存噬菌体、如何高效安全地给药、如何评价噬菌体治疗的效用等等都是摆在我们面前的难题。运用分子生物学领域的技术方法,从基因水平改造噬菌体,使其携带一种甚至多种细菌的通用配体,扩大其宿主谱,应该是我们努力的方向;同时,还可以在提高现有噬菌体的裂解能力等方面做研究。相信在众多科研工作者的共同努力下,噬菌体定能协助人类战胜细菌的侵害。

参考文献

- [1] Jansen WT, Van der Bruggen JT, Verhoef J, *et al.* Bacterial resistance: a sensitive issue complexity of the challenge and containment strategy in Europe. *Drug Resist Updat*, 2006, 9(3): 123-133.
- [2] Croft AC, D'Antoni AV, Terzulli SL. Update on the antibacterial resistance crisis. *Med Sci Monit*, 2007, 13(6): 103-118.
- [3] Grisar-Soen G, Sweed Y, Lerner-Geva L, *et al.* Nosocomial bloodstream infections in a pediatric intensive care unit: 3-year survey. *Med Sci Monit*, 2007, 13(6): 251-257.
- [4] Coelho J, Woodford N, Turton J, *et al.* Multiresistant *Acinetobacter* in the UK: how big a threat? *J Hosp Infect*, 2004, 58(3): 167-169.
- [5] Spellberg B, Powers JH, Brass EP, *et al.* Trends in antimicrobial drug development: implications for the future.

- Clin Infect Dis*, 2004, **38**(9): 1279–1286.
- [6] Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris Jr JG. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, **45**(3): 649–659.
- [7] Sulakvelidze A, Barrow P. Phage therapy in animals and agribusiness. In: Kutter R, Sulakvelidze A, eds. *Bacteriophages: Biology and Application*. Boca Raton: CRC Press, 2005, pp.335–380.
- [8] Sulakvelidze A, Kutter E. Bacteriophage therapy in humans. In: Kutter E, Sulakvelidze A, eds. *Bacteriophages: Biology and Application*. Boca Raton: CRC Press, 2005, pp.381–436.
- [9] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Górski A. The potential use of bacteriophages in view of the current antibiotic therapy crisis. *Pol Arch Med Wewn*, 2005, **113**(1): 73–78.
- [10] Brussow H. Phage therapy: the *Escherichia coli* experience. *Microbiology*, 2005, **151**(pt7): 2133–2140.
- [11] Chibani-Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A, et al. *In vitro* and *in vivo* bacteriolytic activities of *Escherichia coli* phages: Implications for phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, **48**(7): 2558–2569.
- [12] Fischetti VA. Phage antibacterials make a comeback. *Nat Biotechnol*, 2001, **19**(8): 734–735.
- [13] Fischetti VA. Novel method to control pathogenic bacteria on human mucous membranes. *Ann NY Acad Sci*, 2003, **987**: 207–214.
- [14] Górski A, Weber-Dabrowska B. The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens. *Cell Mol Life Sci*, 2005, **62**(5): 511–519.
- [15] Inal JM. Phage therapy: a reappraisal of bacteriophages as antibiotics. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2003, **51**(4): 237–244.
- [16] Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, et al. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother*, 2005, **11**(5): 211–219.
- [17] Payne RJ, Jansen VA. Pharmacokinetic principles of bacteriophage therapy. *Clin Pharmacokinet*, 2003, **42**(4): 315–325.
- [18] Merrill CR, Scholl D, Adhya SL. The prospect for bacteriophage therapy in Western medicine. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, **2**(6): 489–497.
- [19] Hanlon GW. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2007, **30**(2): 118–128.
- [20] Skurnik M, Pajunen M, Kiljunen S. Biotechnological challenges of phage therapy. *Biotechnol Lett*, 2007, **29**(7): 995–1003.
- [21] Brussow H, Kutter E. Phage ecology. In: Kutter E, Sulakvelidze A, editors. *Bacteriophages: biology and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005, pp.129–163.
- [22] Breitbart M, Rohwer F. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends Microbiol*, 2005, **13**(6): 278–284.
- [23] Ackermann HW. Bacteriophage classification. In: Kutter E, Sulakvelidze A, editors. *Bacteriophages: biology and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005, pp. 67–90.
- [24] Lenski RE. Dynamics of interactions between bacteria and virulent bacteriophage. *Adv Microb Ecol*, 1988, **10**: 1–44.
- [25] Bruttin A, Brussow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: A safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, **49**(7): 2874–2878.
- [26] Borysowski J, Górski A. Is phage therapy acceptable in the immunocompromised host? *Int J Infect Dis*, 2008, **12**(5): 466–471.
- [27] Carlton RM. Phage therapy: past history and future prospect. *Arch Immunol Ther Exp*, 1999, **47**(5): 267–274.
- [28] Miedzybrodzki R, Fortuna W, Weber-Dabrowska B, et al. Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2007, **61**: 461–465.
- [29] Duckworth DH. Who discovered bacteriophage? *Bacteriol Rev*, 1976, **40**(4): 793–802.
- [30] Summers WC. Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol*, 2001, **55**: 437–451.
- [31] Clark JR, March JB. Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials. *Trends Biotechnol*, 2006, **24**(5): 212–218.
- [32] Chanishvili N, Chanishvili T, Tediashvili M, et al. Phages and their application against drug resistant bacteria. *J Chem Technol Biotechnol*, 2001, **76**: 689–699.
- [33] Dabrowska K, Opolski A, Gorski A, et al. Bacteriophage penetration in vertebrates. *J Appl Microbiol*, 2005, **98**(1): 7–13.
- [34] Górski A, Wazna E, Dabrowska BW, et al. Bacteriophage translocation. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2006, **46**(3): 313–319.
- [35] Medical news today: Technology to defeat bacterial infection shows positive results. Available from: URL: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/98346.php>, 2008.
- [36] Verbeken G, De Vos D, Vaneechoutte M, et al. European regulatory conundrum of phage therapy. *Future Microbiol*, 2007, **2**(5): 485–491.
- [37] Smith HW, Huggins MB. Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. *J Gen Microbiol*, 1982, **128**(2): 307–318.
- [38] Smith HW, Huggins MB. Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves, piglets and lambs. *J Gen Microbiol*, 1983, **129**(8): 2659–2675.
- [39] Smith HW, Huggins MB. Experimental infection of calves,

- piglets and lambs with mixtures of invasive and enteropathogenic strains of *Escherichia coli*. *J Med Microbiol*, 1979, **12**(4): 507–510.
- [40] Smith HW, Huggins MB, Shaw KM. Factors influencing the survival and multiplication of bacteriophages in calves and in their environment. *J Gen Microbiol*, 1987, **133**(5): 1127–1135.
- [41] Smith HW, Huggins MB, Shaw KM. The control of experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves by means of bacteriophages. *J Gen Microbiol*, 1987, **133**(5): 1111–1126.
- [42] Bull JJ, Levin BR, DeRouin T, *et al.* Dynamics of success and failure in phage and antibiotic therapy in experimental infections. *BMC Microbiol*, 2002, **2**: 35.
- [43] Tanji Y, Shimada T, Fukudomi H, *et al.* Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *J Biosci Bioeng*, 2005, **100**(3): 280–287.
- [44] Tanji Y, Shimada T, Yoichi M, *et al.* Toward rational control of *Escherichia coli* O157:H7 by a phage cocktail. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, **64**(2): 270–274.
- [45] Sheng H, Knecht HJ, Kudva IT, *et al.* Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(8): 5359–5366.
- [46] Kudva IT, Jelacic S, Tarr PI, *et al.* Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**(9): 3767–3773.
- [47] Atterbury RJ, Van Bergen MAP, Ortiz F, *et al.* Bacteriophage therapy to reduce salmonella colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(14): 4543–4549.
- [48] Capparelli R, Parlato M, Borriello G, *et al.* Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, **51**(8): 2765–2773.
- [49] Watanabe R, Matsumoto T, Sano G, *et al.* Efficacy of bacteriophage therapy against gut-derived sepsis caused by *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, **51**(2): 446–452.
- [50] McVay CS, Velasquez M, Fralick JA. Phage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a mouse burn wound model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, **51**(6): 1934.
- [51] Wang J, Hu B, Xu M, *et al.* Use of bacteriophage in the treatment of experimental animal bacteremia from imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Med*, 2006, **17**(2): 309–317.
- [52] Wang J, Hu B, Xu M, *et al.* Therapeutic effectiveness of bacteriophages in the rescue of mice with extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia. *Int J Mol Med*, 2006, **17**(2): 347–355.
- [53] Biswas B, Adhya S, Washart P, *et al.* Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun*, 2002, **70**(1): 204–210.
- [54] Carlton RM, Noordman WH, Biswas B, *et al.* Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2005, **43**(3): 301–312.
- [55] Miedzybrodzki R, Switala-Jelen K, Fortuna W, *et al.* Bacteriophage preparation inhibition of reactive oxygen species generation by endotoxin-stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Virus Res*, 2008, **131**(2): 233–242.
- [56] Przerwa A, Zimecki M, Świtata-Jeleń K, *et al.* Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions. *Med Microbiol Immunol*, 2006, **195**(3): 143–150.
- [57] Gorczyca WA, Mitkiewicz M, Siednienko J, *et al.* Bacteriophage decrease activity of NF-kappa B induced in human mononuclear cells by human herpesvirus-1. In: Kalil J, Cunha-Neto E, Rizzo LV, eds. ImmunoRio 2007. Proceedings of the 13th International Congress of Immunology, 2007, pp.73–77.
- [58] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Górski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2006, **231**(4): 366–377.
- [59] Eyer L, Pantucek R, Zdrahal Z, *et al.* Structural protein analysis of the polyvalent staphylococcal bacteriophage 812. *Proteomics*, 2006, **7**(1): 64–72.