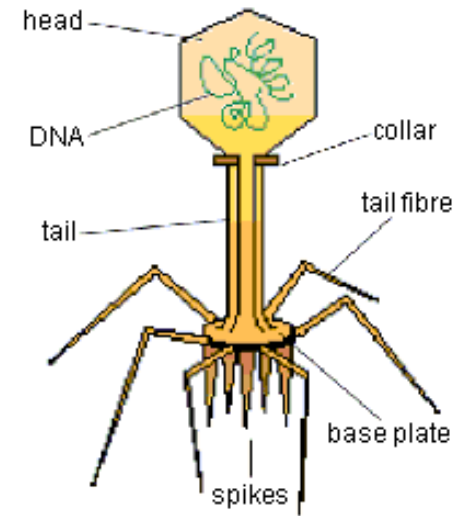


# Batteriofago

Termine usato per indicare qualunque tipo di virus che infetta i batteri.

Lo studio dei batteriofagi, o fagi, ha avuto importanti ripercussioni sulla medicina e sulla genetica, in quanto ha contribuito a chiarire il ruolo degli acidi nucleici come molecole responsabili della trasmissione dei caratteri ereditari, e ha permesso la comprensione di alcuni meccanismi delle modalità di infezione dei virus e della resistenza agli antibiotici nei batteri.



Lo studio dei batteriofagi ha anche avuto un ruolo importante nella nascita della biologia molecolare.



I batteriofagi furono scoperti nel **1915** dal ricercatore britannico Frederick W. Twort, e, indipendentemente, nel **1917** dallo scienziato franco-canadese Félix H. d'Hérelle.

Nel **1952** i biologi americani Norton Zinder e Joshua Lederberg scoprirono che i batteriofagi possono fungere da trasportatori, da un batterio a un altro, di porzioni del materiale genetico batterico.

Altri ricercatori scoprirono, inoltre, che i batteriofagi possono integrare il proprio materiale genetico nel cromosoma del batterio ospite, trasmettendo così i geni virali alle nuove generazioni di batteri.



Nel **1969** il biologo tedesco Max Delbrück, il genetista statunitense Alfred Hershey e il medico e biologo statunitense Salvatore Luria ricevettero **il premio Nobel** per la fisiologia o la medicina, in riconoscimento delle loro ricerche pionieristiche che avevano utilizzato come organismi modello alcuni ceppi di batteriofagi.

Nel **1980** il biochimico britannico Frederick Sanger scoprì che i batteriofagi possono essere impiegati in alcune tecniche di sequenziamento del DNA (Biologia molecolare).



Inoltre per le loro caratteristiche chimico-fisiche e biologiche simili a quelle dei virus animali, sono stati utilizzati come modello di studi sulle **interazioni virus-cellula ospite**.

I batteriofagi strutturalmente sono costituiti da una molecola di acido nucleico protetta da un involucro proteico.

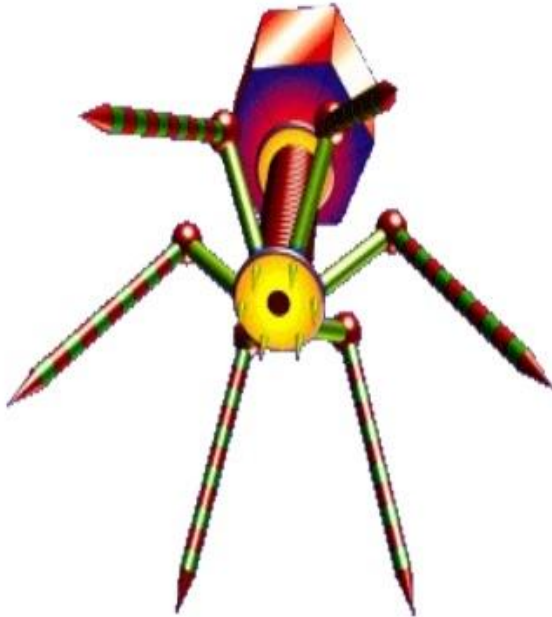


Possono moltiplicarsi esclusivamente all'interno della cellula ospite, metabolicamente attiva e competente.

**Il Comitato Internazionale di tassonomia dei virus** li ha classificati, in base alla loro morfologia, in **13 famiglie**, andando da una morfologia estremamente semplice (*Leviviridae*) con capside icosaedrico con una sola proteina ed una RNA-polimerasi associata all'RNA;

ad una molto complicata (*Myoviridae*) con capside icosaedrico legato, tramite un anello, ad una coda contrattile.

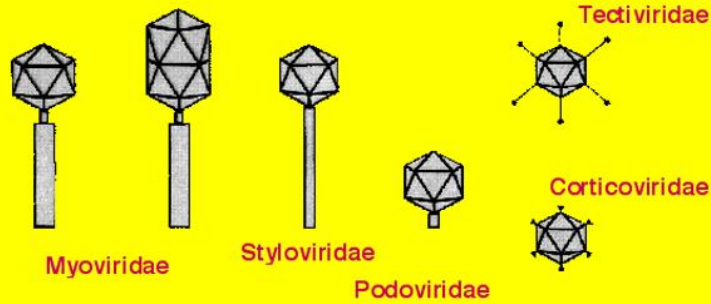
# Bacteriophages: Classification



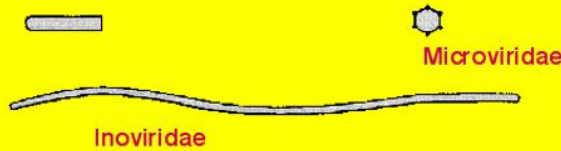
- At present, over 5000 bacteriophages have been studied by electron microscopy and can be divided into 13 virus families.

# Virus batterici

DNA df



DNA sf



RNA sf

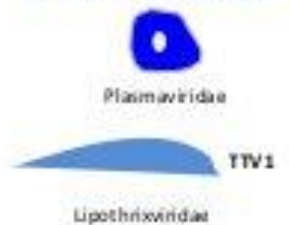


## 13 Bacteriophage families

Double stranded DNA, Non-enveloped



Double stranded DNA, Enveloped



Single-stranded DNA

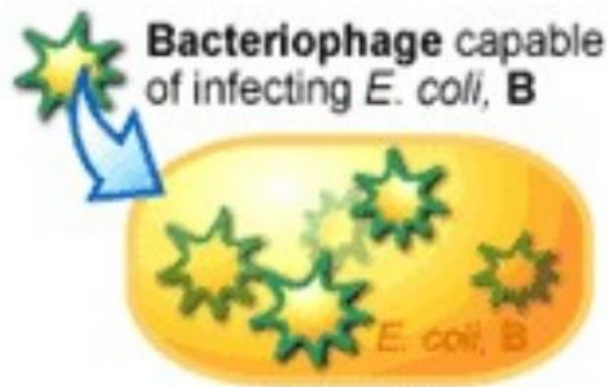


Single stranded RNA



Double stranded RNA



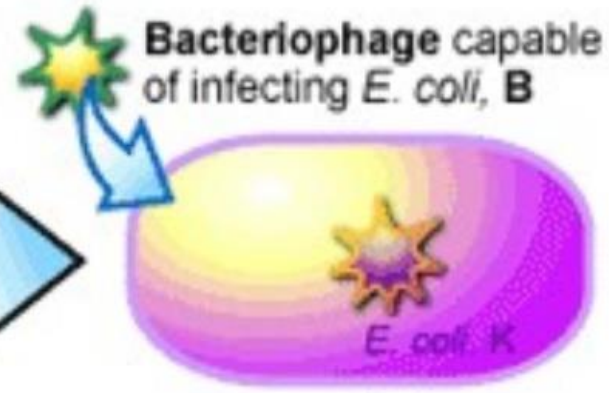
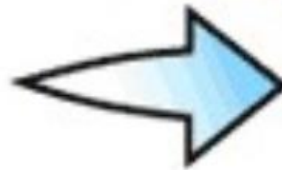


**Bacteriophage** capable of infecting *E. coli*, **B**

Bacteriophage is reproduced by *E. coli*, **B**.



Bacteriophage from *E. coli*, **K** (originally *E. coli*, **B**), incubated with *E. coli*, **B**, is poorly reproduced.



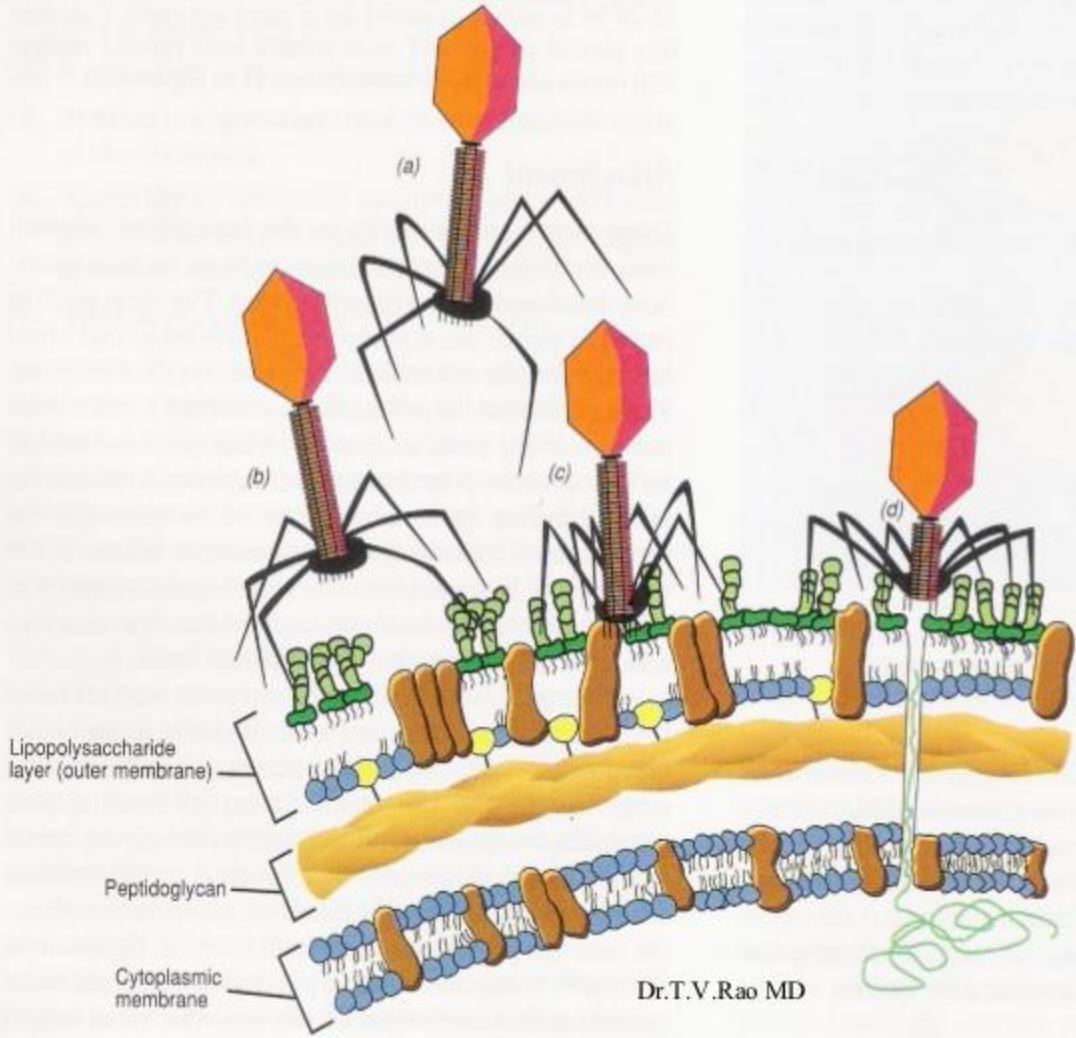
**Bacteriophage** capable of infecting *E. coli*, **B**

Bacteriophage from *E. coli*, **B** is poorly reproduced in *E. coli*, **K**.



After multiple passages, the bacteriophage is readily reproduced by *E. coli*, **K**.

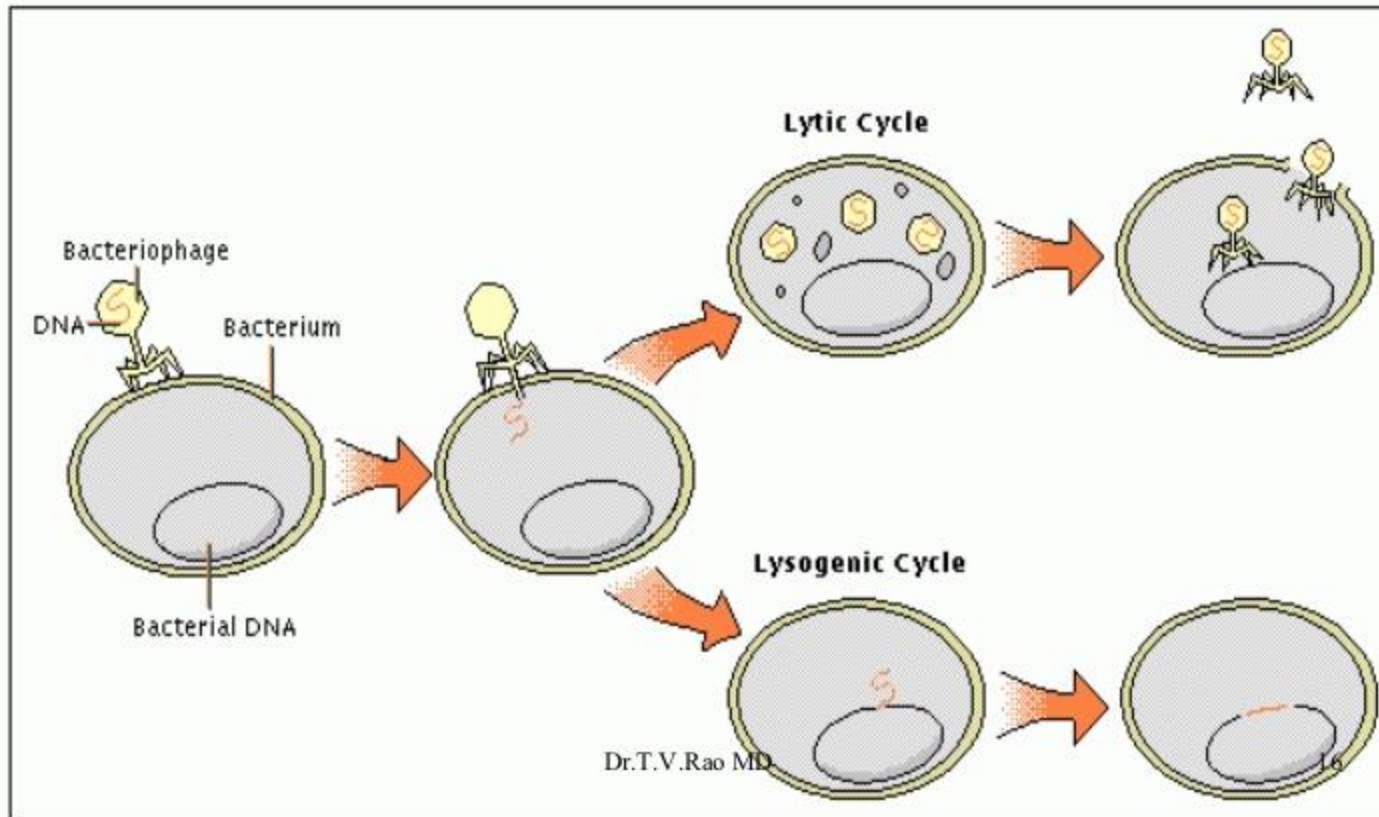




Dr.T.V.Rao MD

**Figure 8.10** Attachment of T4 bacteriophage particle to the cell wall of *Escherichia coli* and injection of DNA: (a) Unattached particle. (b) Attachment to the wall by the long tail fibers interacting with core polysaccharide. (c) Contact of cell wall by the tail pins. (d) Contraction of the tail sheath and injection of the DNA. For a detailed description of the gram-negative cell wall see Section 3.6.

# Lytic and Lysogenic cycle



# Bacteriophages:

## Virulence Factors Carried On Phage

- Temperate phage can go through one of two life cycles upon entering a host cell.

### 1) Lytic:

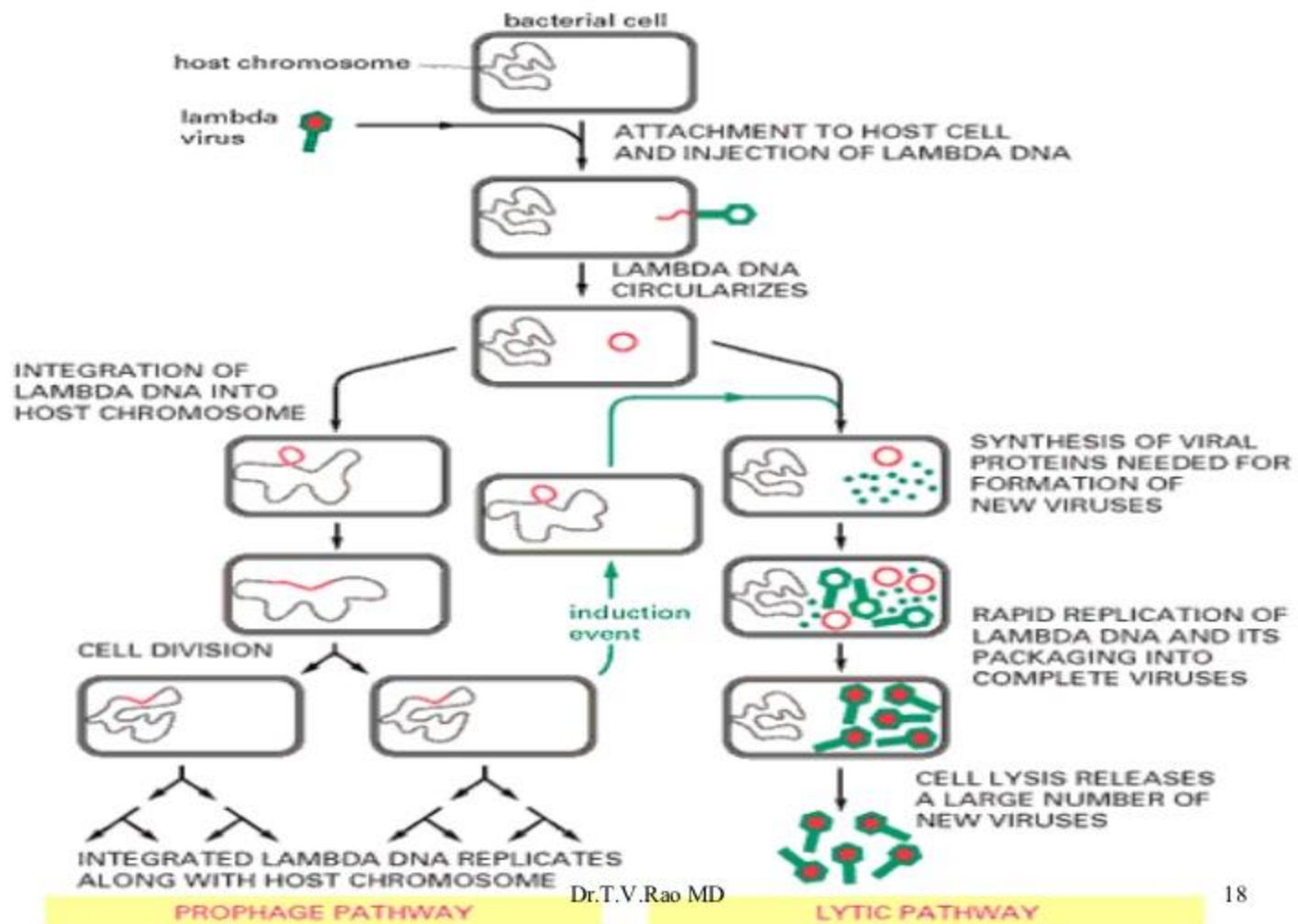
Is when growth results in lysis of the host and release of progeny phage.

### 3) Lysogenic:

Is when growth results in integration of the phage DNA into the host chromosome or stable replication as a plasmid.

Most of the gene products of the lysogenic phage remains dormant until it is induced to enter the lytic cycle.





## Examples: of Lysogenic conversion

\* **Corynebacterium diphtheria** produces the toxin of diphtheria only when it is infected by the phage  $\beta$ . In this case, the gene that codes for the toxin is carried by the phage, not the bacteria.

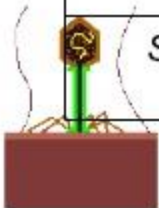
\* Vibrio cholera is a non-toxic strain that can become toxic, producing cholera toxin, when it is infected with the phage CTX $\phi$ .

- \* **Clostridium botulinum causes botulism.**
- \* **Streptococcus pyogenes causes scarlet fever.**
- \* **Shiga toxin**
- \* **Tetanus**

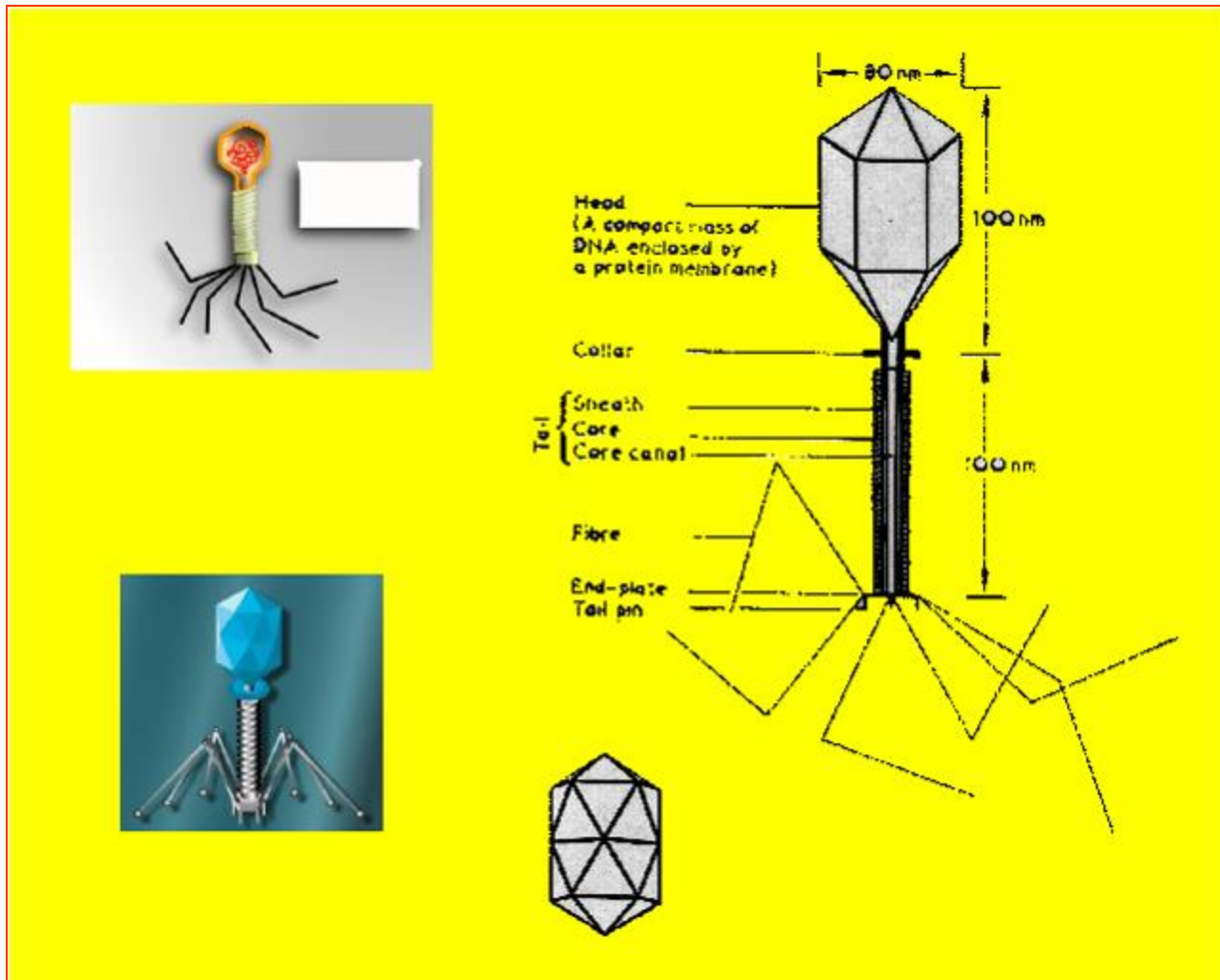
# Bacteriophages: Lysogenic Conversion

Examples of Virulence Factors Carried by Phage

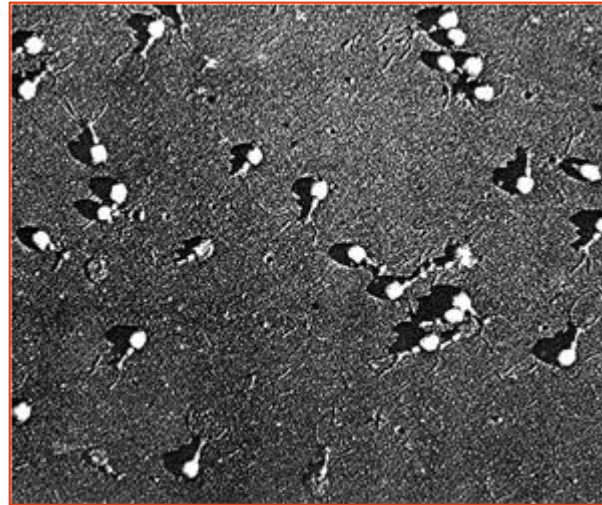
Bacterium	Phage	Gene Product	Phenotype
<i>Vibrio cholerae</i>	CTX phage	cholerae toxin	cholera
<i>Escherichia coli</i>	lambda phage	shigalike toxin	hemorrhagic diarrhea
<i>Clostridium botulinum</i>	clostridial phages	botulinum toxin	botulism (food poisoning)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	corynephage beta	diphtheria toxin	diphtheria
<i>Streptococcus pyogenes</i>	T12	erythrogenic toxins	scarlet fever



**Nei colifagi della serie T pari, come anche in altri fagi muniti di coda, ricorrono strutture caratteristiche**



Queste strutture sono spesso ben visibili al microscopio elettronico



Il numero di particelle fagiche prodotte per ogni particella infettante ("burst size") è caratteristico di ciascun batteriofago.

**Esso può giungere a 10.000.**

La loro "genome size" può variare da 1,8 a 200 Md.

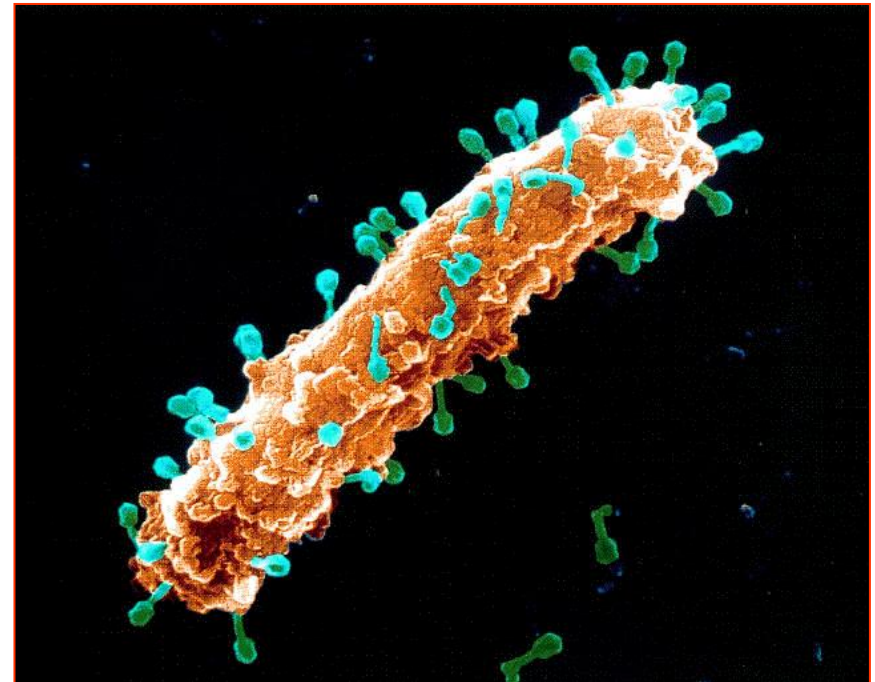
Il materiale genetico è costituito, in più del 90 per cento dei casi, da DNA a doppia elica.

La diversità morfologica è piuttosto limitata.

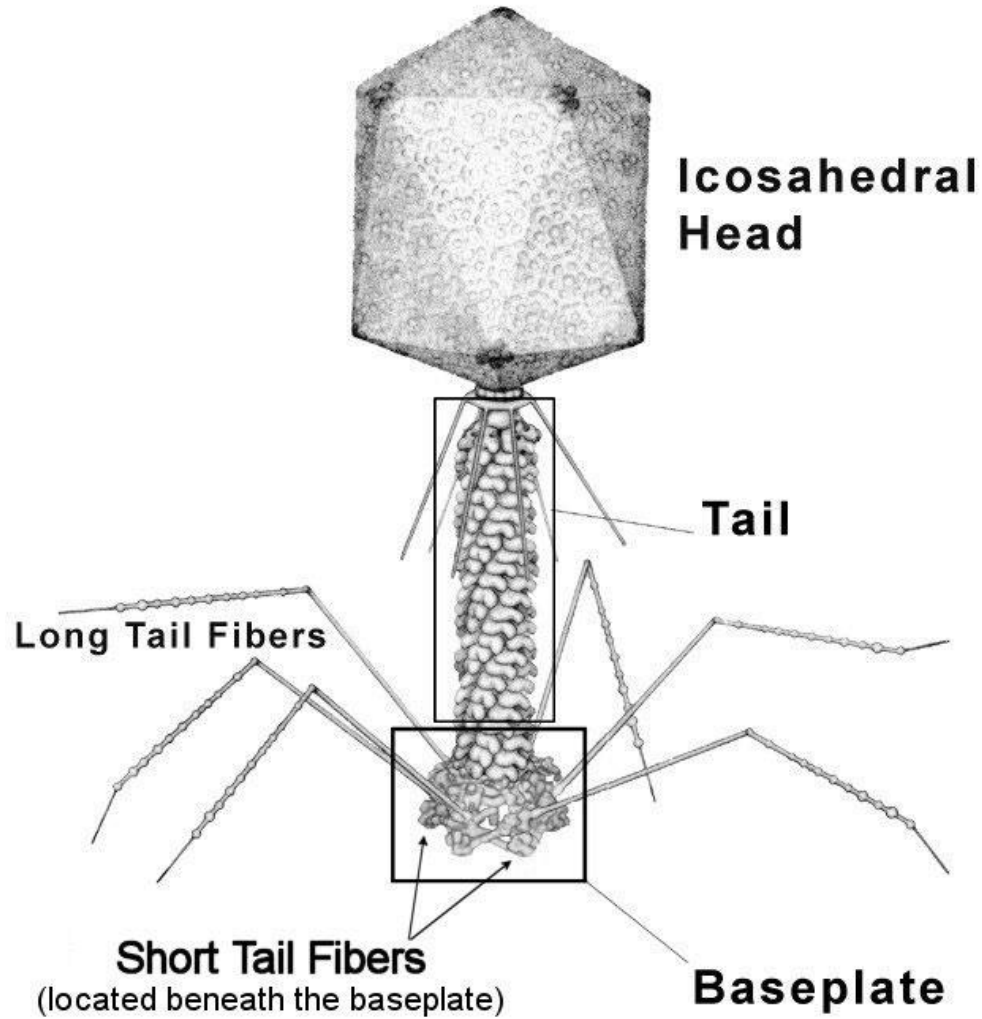
immagine del colifago T4, il più conosciuto di tutti,  
alle prese col riconoscimento del sito recettore dell'ospite.



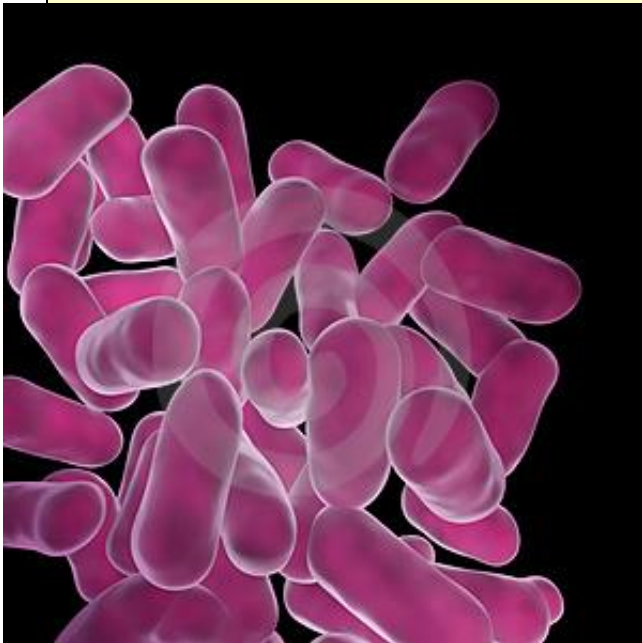
immagine relativa a particelle di  
T4 adsorbite  
su una cellula di *Escherichia coli*.



## Schematic of T4 Bacteriophage

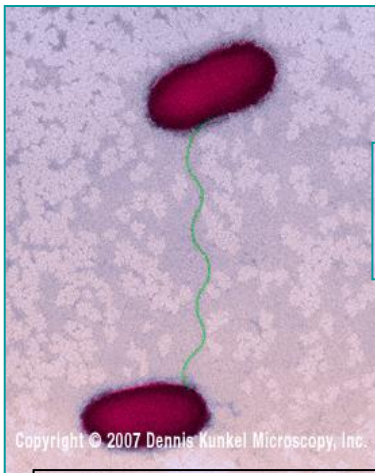


La loro distribuzione nell'ambiente non ha ancora fornito dati ben precisi ma la loro presenza è stata individuata in tutti i mezzi ove è presente una forma di vita batterica.



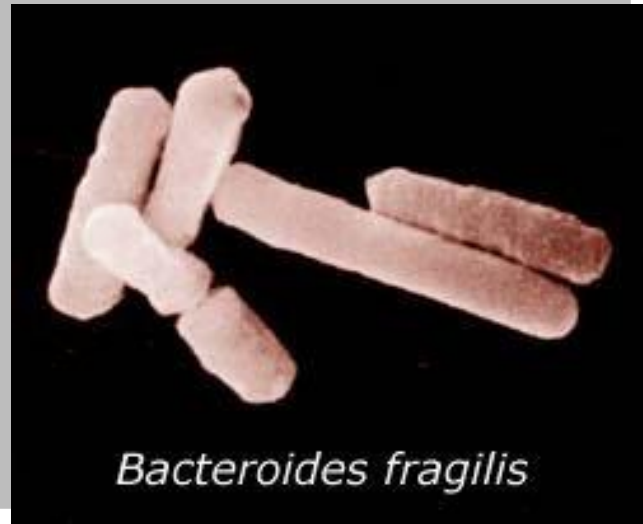
Ogni "habitat" presenta una popolazione fagica di batteri autoctoni ed una popolazione fagica proveniente da altri ambienti.

Negli ambienti acquatici i fagi infettanti i batteri del genere *E. coli* (colifagi ed F-specifici) sono i più rappresentati e, dato l'interesse che essi ricoprono in qualità di indicatori potenziali di una contaminazione virale di origine fecale, sono stati i più studiati e ricercati.



**I colifagi F-specifici** possono infettare soltanto le cellule di *E. coli* che hanno sintetizzato il loro sex-pilus.

La loro distribuzione nel tratto digerente dell'uomo e degli animali è stata più volte studiata ed è stato dimostrato che il 23,5% di campioni di feci umane contiene fagi di *E. coli* con una concentrazione pari a  $10^5$  UFP per grammo di feci.

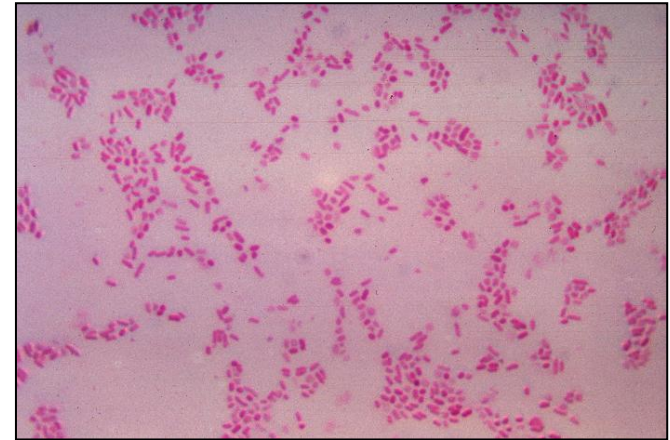


Un altro batteriofago presente in grande quantità nel tratto intestinale è il fago specifico del *Bacteroides fragilis*, batterio anaerobio.

Secondo i risultati di uno studio della **Johns Hopkins University** di Baltimore (Stati Uniti), pubblicato sulla rivista [Nature Medicine](#), il batterio *Bacteroides fragilis*, comune causa della diarrea, potrebbe causare infiammazioni che si sviluppano poi in cancro al colon.

**"*Bacteroides fragilis* è un batterio molto comune, che si può trovare nel 35% di adulti e bambini", ha spiegato Cynthia Sears, specialista in malattie infettive del Johns Hopkins. "La sua infezione causa delle infiammazioni nel colon persistenti nel tempo, che poi degenerano in crescite cellulari incontrollabili e quindi in tumori. Siamo fiduciosi che la nostra scoperta potrà aiutare a sviluppare un vaccino per combattere questa diffusa forma di cancro".**

**(Agosto 2009)**



***Annemarie Boleij et al.*, The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. Clin Infect Dis. 2015; 60(2): 208-215.**

***Rachel V. Purcell et al.*, Colonization with enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* is associated with early-stage colorectal neoplasia. PLOS ONE February 2017.**

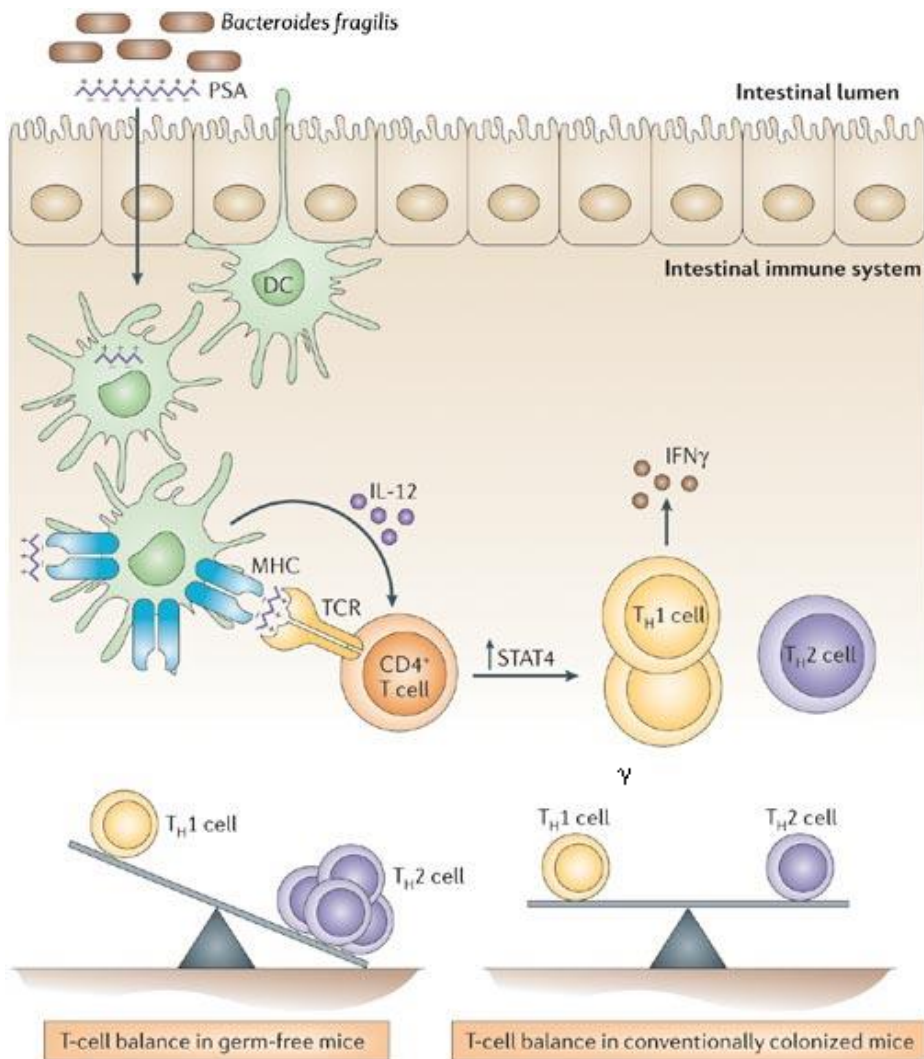
Il batterio produce una molecola di zucchero, polisaccaride A (PSA), che stimola il rilascio di citochine anti-infiammatorie dell'intestino dell'ospite. E sopprime anche il rilascio di sostanze pro-infiammatorie dell'intestino.

To check whether PSA really was protecting, the researchers purified PSA and fed it directly to the animals. What followed was a bit of a eureka moment. "If you give them pure PSA, they don't get colitis," beams Dr Kasper. This is huge because it pinpoints exactly how the bacteria interact with a host's immune system.

The idea of beneficial bacteria isn't new, but until now, the mechanism wasn't clear: "In Europe they sell probiotics by the gallon, and it's never been shown scientifically how it's supposed to work," Dr Kasper says.

Imbalances in the gut microcosmos might also help explain other diseases, including food allergies and asthma.

To date, we know very little about the microbes that dwell in our intestines: "There are trillions of bacteria in the human gut, and we can't even grow most of them.



*Bacteroides fragilis*, an abundant member of the colonic microflora of all mammals, produces the immunomodulatory polysaccharide PSA (polysaccharide A). PSA seems to be sampled by dendritic cells (DCs) of the gut-associated lymphoid tissue, and these DCs then migrate to the mesenteric lymph nodes and initiate T-cell responses. PSA is processed in the DCs and is presented to the T-cell receptor (TCR) of CD4<sup>+</sup> T cells in the context of MHC molecules.

The immune system of germ-free mice is highly skewed towards a T helper 2 (T<sub>H</sub>2)-cell phenotype, and colonization with PSA-producing *B. fragilis* corrects this immune defect.

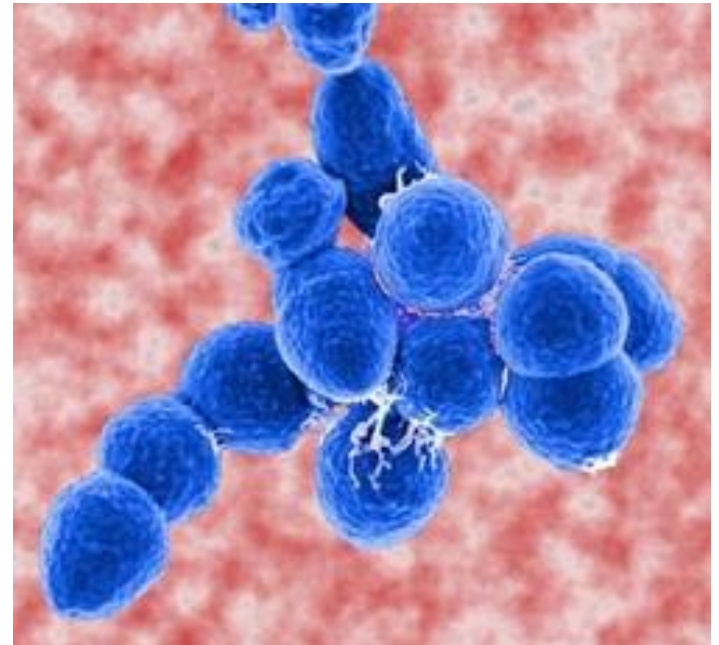
This correction is achieved through the PSA-induced secretion of interleukin-12 (IL-12) by DCs, leading to activation of the TH1-cell differentiation factor STAT4 (signal transducer and activator of transcription 4) in CD4<sup>+</sup> T cells. In response to IL-12 and STAT4, TH1 cells are generated and produce interferon- (IFN ), and this process corrects the cytokine imbalance that is found in the absence of bacterial colonization.

## SHORT SHARP SCIENCE 13 July 2017

A type of bacteria might speed up the growth of colon cancer

Most colon cancers may be caused by infections with bacteria that are normally found in cows. For decades we have known that *Streptococcus gallolyticus gallolyticus* (SGG) (formerly *S. bovis* biotype 1) is sometimes found in colon tumours, but now the microbes have been found to directly cause tumour growth in mice.  
(colonic cancer and endocarditis)

Cancer arises when cells have mutations in their DNA that allow them to start quickly proliferating. Sometimes a particular cause is strongly suspected - such as cigarette smoke in the case of lung cancer, or human papillomavirus for cervical cancer. But often there is no clear cause, and tumour-causing mutations can happen randomly.



La capacità di sopravvivenza e di moltiplicazione dei fagi nell'ambiente è un aspetto importante; esso è in relazione alla presenza, in un determinato "habitat", del batterio ospite, dell'età fisiologica del batterio stesso e della densità rispettivamente del batterio ospite e del suo fago.

Nel corso dell'ultimo decennio i batteriofagi sono stati proposti come indicatori di contaminazione virale dei mezzi idrici e anche come indicatori di efficacia dei processi di depurazione e disinfezione delle acque.

Alcuni Autori, in seguito a recenti studi, hanno proposto l'uso del fago specifico del *Bacteroides fragilis* come indicatore di contaminazione fecale in quanto specifico del tratto digerente umano.

Vi sono alcuni Batteriofagi che, pur avendo capacità litiche nei confronti della cellula ospite, non sempre ne causano la disgregazione, per questa ragione sono definiti **temperati**. Le cellule ospiti che subiscono tale invasione sono definite lisogene, mentre il processo si definisce lisogena o ciclo lisogeno.

**I genomi dei virus temperati possono seguire due destini:**

- integrarsi nel genoma cellulare e quindi divenire profagi: in questo caso il genoma virale si replica insieme a quello batterico,
- rimanere nel citoplasma e costituire un plasmide autonomo.

Il DNA può rimanere silente per molto tempo, solo occasionalmente va incontro al processo di sintesi proteica che instaura il ciclo litico.

Il ciclo litico può essere indotto dalla luce UV e da agenti alchilanti il DNA cellulare.

Il meccanismo di scelta non è noto, ma è stato osservato che nei Batteri cresciuti su terreni poveri o limitanti si instaura il ciclo lisogeno.

Il Batteriofago temperato più conosciuto è il Virus lambda (A) che infetta l'*Escherichia coli*.

Esso è un Virus a testa icosaedrica con coda a una sola fibra, provvisto di DNA a df che circolarizza quando penetra nell'ospite. Può effettuare cicli litici o lisogeni, in questo caso si comporta da profago in forza di una proteina dimerica (repressore) che si lega al DNA virale e **che conferisce all'ospite l'immunità verso altri Virus lambda.**

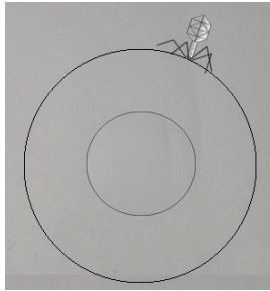
Nel ciclo litico si attiva il **gene cro**, nel ciclo lisogeno si attiva il **gene cI**. Il fago lambda, in una forma mutante difettiva per la lisogenia, è utilizzato nell'ingegneria genetica che usa la tecnica del DNA ricombinante.

La capacità di svolgere il ciclo litico e il ciclo lisogenico è differente nelle diverse specie di batteriofagi.

I fagi detti "**temperati**" sono in grado di compiere, a seconda delle diverse condizioni, il ciclo litico o il ciclo lisogenico. Sono di questo tipo, ad esempio, il fago  $\lambda$  e il fago  $\phi 80$ .

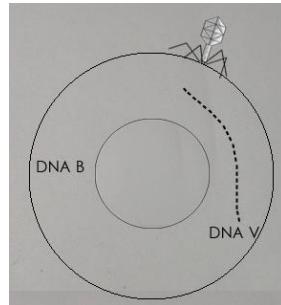
I fagi indicati come "**virulenti**" possono solo compiere il ciclo litico e, quindi, risultano immediatamente patogeni. A tale gruppo appartiene il fago T4, che utilizza come ospite il batterio *Escherichia coli*.

## CICLO LITICO PRIMA FASE

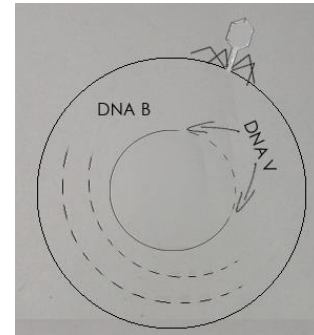


Il Batteriofago si aggancia con le fibre della coda alla membrana batterica (cellulare) e aderisce con il corpo successivamente particolari enzimi virali dissolvono la porzione di membrana a contatto con il virus.

## CICLO LITICO SECONDA FASE

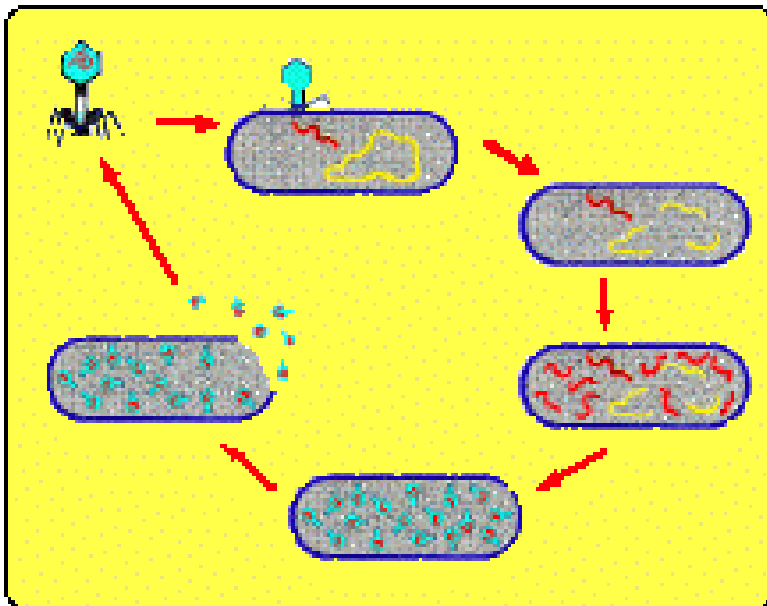


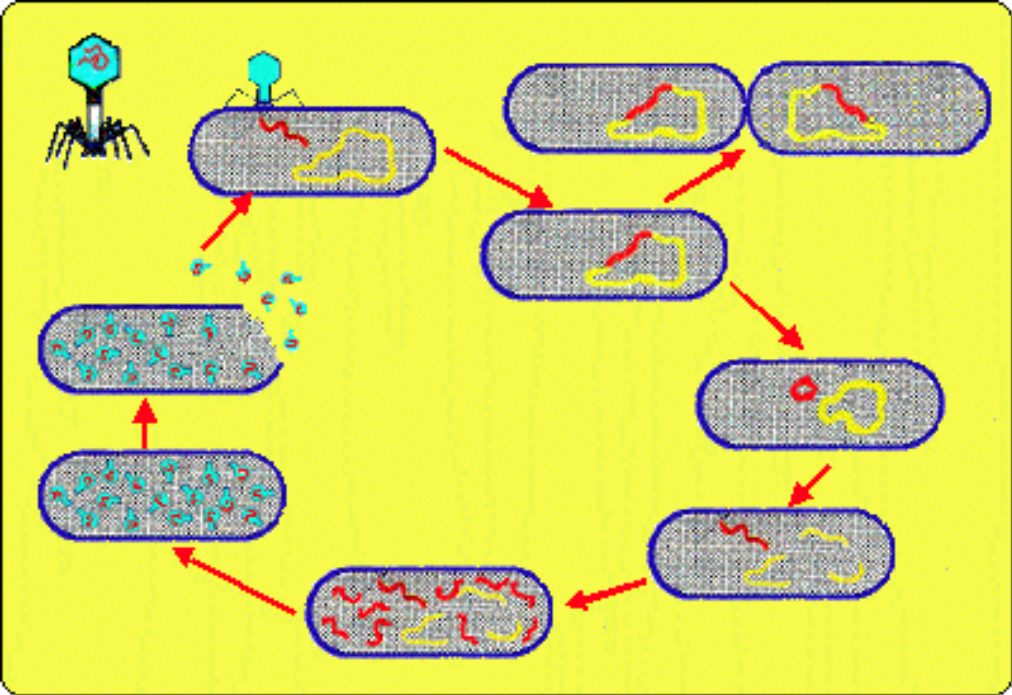
Il DNA Batterico (DNA B) rimane al centro della cellula mentre il DNA virale (DNA V) viene infettato all'interno del batterio.

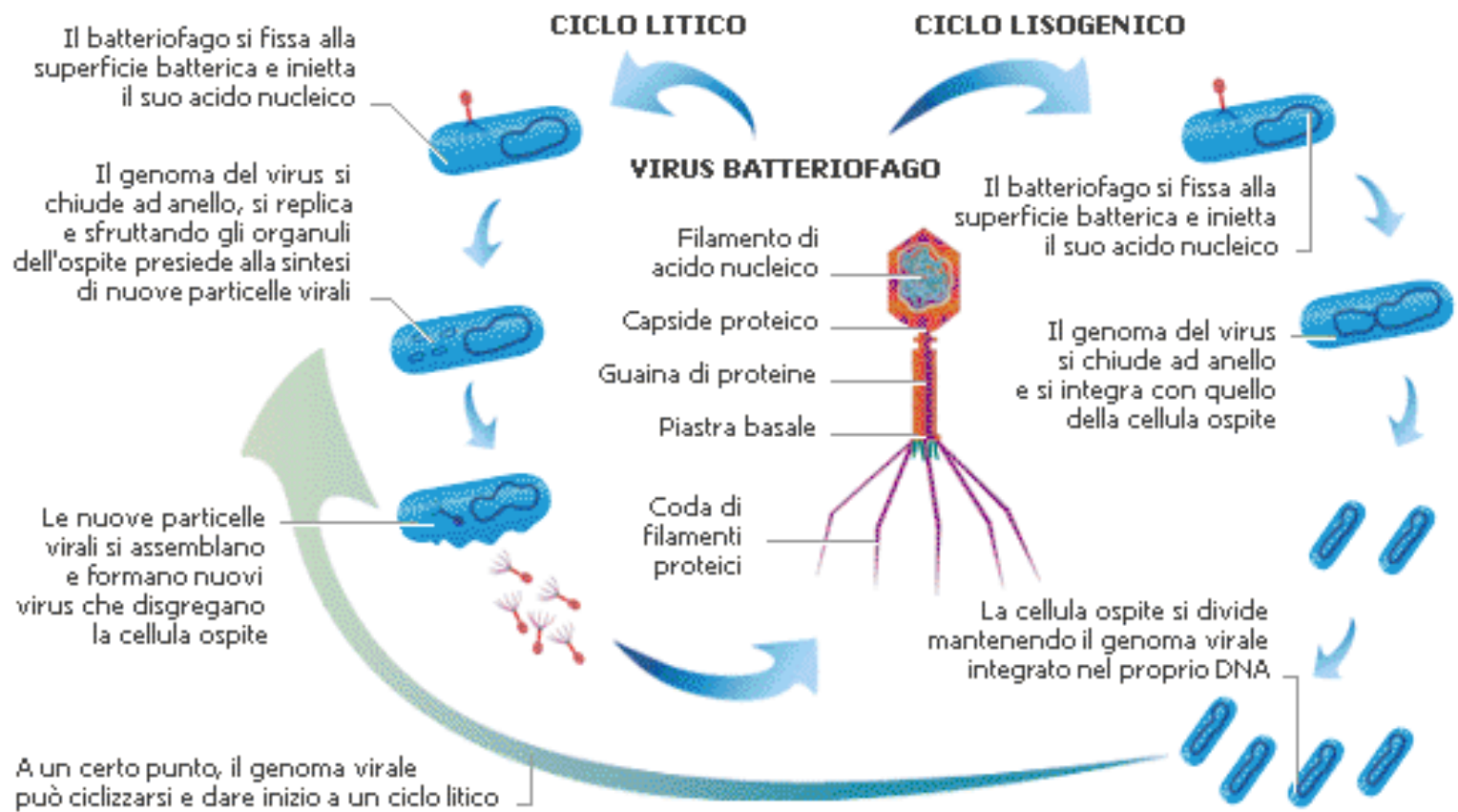


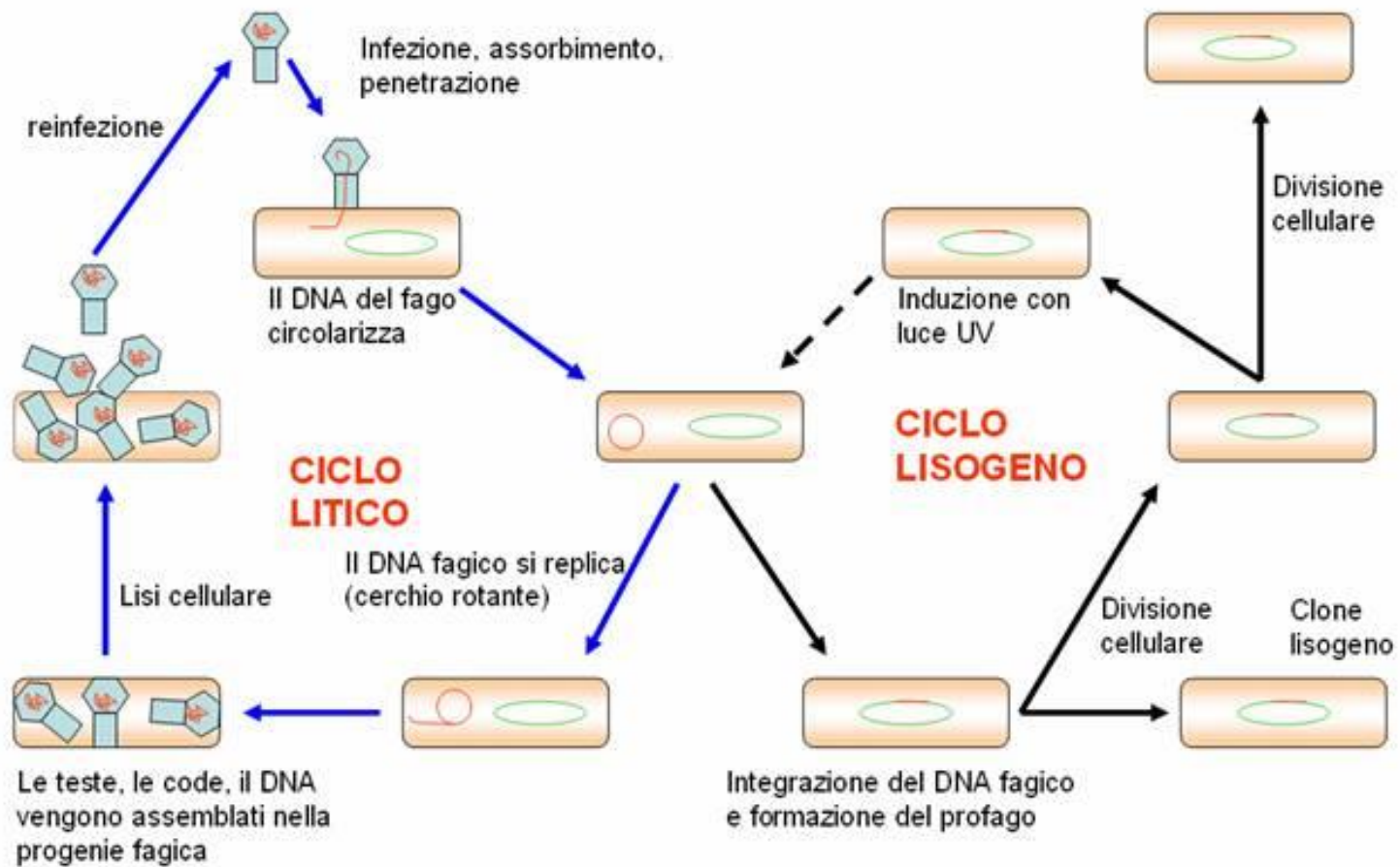
## CICLO LITICO TERZA FASE

Il DNA V si inserisce all'interno del DNA B; quando la cellula B si deve duplicare gli enzimi iniziano a leggere il DNA finchè incontrano quello virale; a questo punto gli enzimi iniziano a costruire un virus. L'ultima sequenza di basi azotate dà informazione agli enzimi di ricominciare a leggere dall'inizio il DNA V a ogni lettura del DNA V si costruisce un virus, alla fine il batterio sarà completamente pieno di virus e si avrà la lisi della membrana cellulare.









I batteriofagi possono risultare estremamente efficaci per eliminare specifici agenti patogeni dagli alimenti.

Tuttavia, sulla base dei dati attualmente disponibili nella letteratura scientifica non si è potuto stabilire se, in caso di ricontaminazione degli alimenti, i batteriofagi siano o meno capaci di proteggere da agenti patogeni di origine batterica.

L'efficacia dei batteriofagi in tal caso varia infatti a seconda delle caratteristiche dell'alimento, del tipo di batteriofago, della modalità di impiego e dei fattori ambientali.

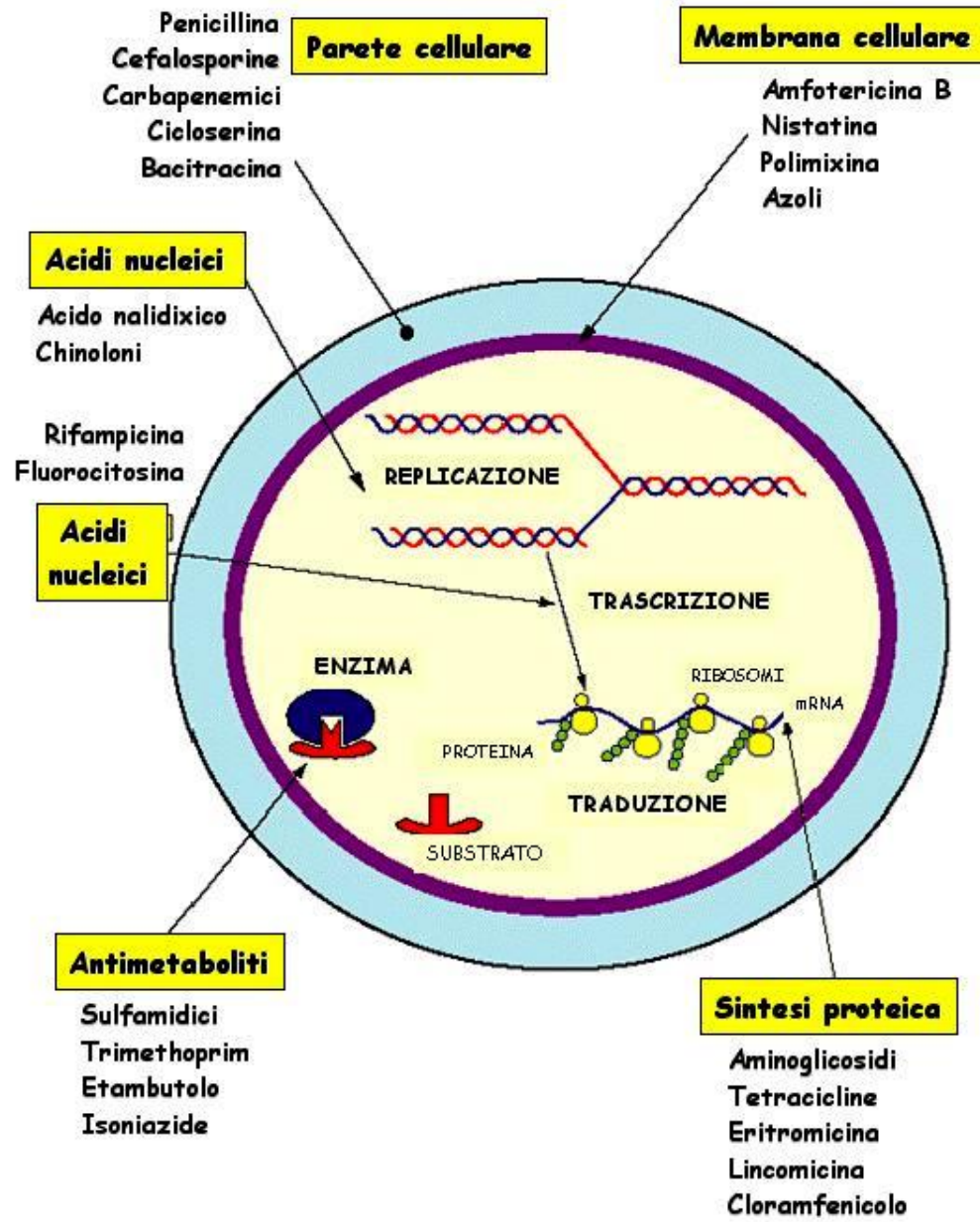


# Batteriofagi per stroncare le resistenze

Per combattere le infezioni batteriche, sempre più spesso caratterizzate da resistenza agli antibiotici, la via più efficiente è quella di sfruttare i batteriofagi, dopo averli ingegnerizzati in modo opportuno.

Secondo i dati dei Centers for Disease Control di Atlanta lo *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente, il più importante dei batteri a resistenza multipla, causa nei soli Stati Uniti 94.000 infezioni all'anno, 19.000 delle quali con esito letale. Nonostante gli sforzi della ricerca, negli ultimi anno sono stati sviluppati pochissimi nuovi antibiotici in grado di contrastare questi nuovi "super-batteri".

L' utilizzazione dei comuni batteriofagi, virus che infettano cioè i batteri, è importante poiché essi sono del tutto innocui per l'uomo.

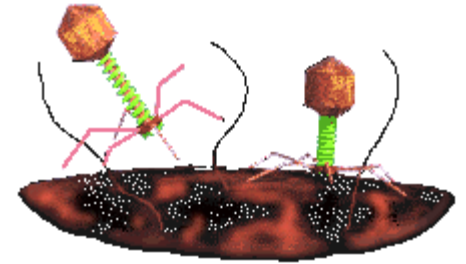


I virus ingegnerizzati descritti nell'articolo attaccano il sistema SOS di riparazione del DNA batterico che entra in funzione quando essi si trovano esposti a un antibiotico che danneggia il DNA. Utilizzati congiuntamente con gli antibiotici tradizionali, questi virus minano le capacità di difesa dei batteri e permettono di prevenire lo sviluppo di resistenze.

ricercatori hanno testato con successo i loro batteriofagi in relazione a tre importanti classi di antibiotici (beta-lattamici, aminoglicosidi e chinoloni).  
I topi infettati con batteri trattati con associazione di batteriofagi e antibiotici il tasso di sopravvivenza è stato dell'**80** per cento, contro il **50** per cento di quelli trattati con batteriofagi naturali e antibiotici;  
il 20 per cento di quelli trattati con soli antibiotici e  
il 10 per cento di quelli non trattati.

Questo lavoro getta le basi per lo sviluppo di una libreria di batteriofagi, ciascuno progettato per aggredire diversi obiettivi batterici

(03 marzo 2009)



dosaggi degli antibiotici potrebbero venire ridotti di 50 volte ricorrendo a questa nuova strategia terapeutica che fa ricorso ai batteriofagi.

Alcuni ceppi di batteriofagi hanno infatti dimostrato di potenziare notevolmente l'efficacia degli antibiotici gentamicina e tetraciclina grazie alla loro capacità di penetrare attraverso la membrana del microrganismo patogeno.



Esperimenti su topi hanno mostrato che il 75% degli esemplari a cui viene iniettata una dose letale di *Pseudomonas* sopravvive se la gentamicina viene somministrata in presenza dei batteriofagi, mentre in assenza del virus l'esito dell'esperimento è letale.

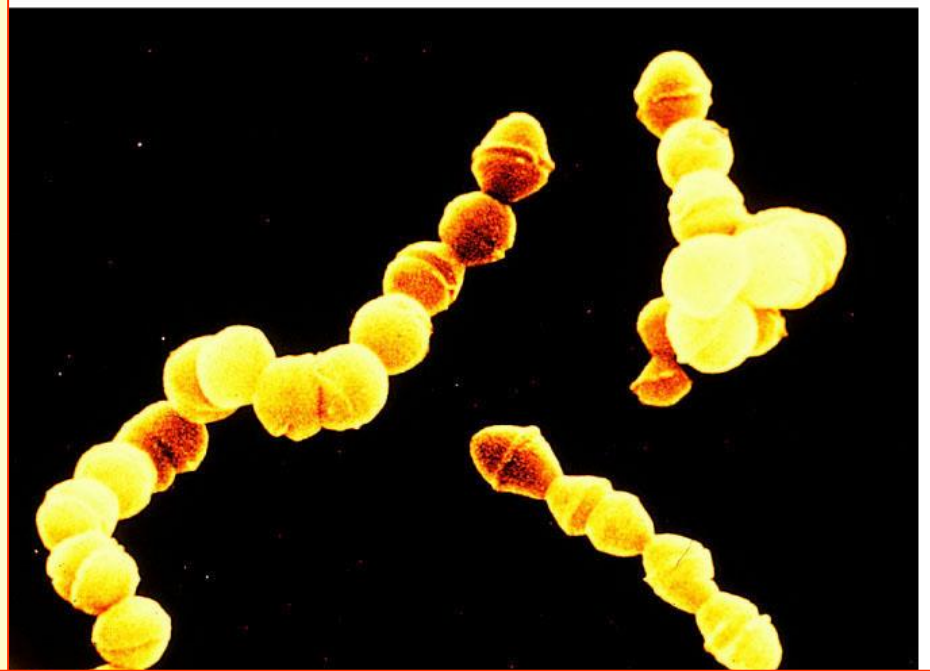


L'approccio che ricorre ai batteriofagi si rivela particolarmente utile nel caso di infezioni intestinali e alimentari, in quanto i dosaggi molto bassi di antibiotico a questo punto necessari, non sono tali da interferire significativamente con la sopravvivenza della flora intestinale naturale.

**L'adozione di questo protocollo porterebbe a una significativa riduzione del rischio di insorgenza di resistenze nei ceppi batterici**

I comuni batteri **streptococchi** possono diventare potenti killer, se si procurano una giusta serie di geni, ma come e questo avvenga non è mai stato compreso a fondo.

In un nuovo studio, alcuni ricercatori hanno mostrato che sono i virus i colpevoli dell'insorgenza di nuovi ceppi batterici particolarmente virulenti.



Batteriofagi, infettano in modo specifico i batteri, catturano alcuni dei loro geni e li trasferiscono da un batterio all'altro. Trasferendo geni tra batteri, i batteriofagi possono creare nuovi ceppi, con proprietà potenzialmente mortali.

**Gli streptococchi del gruppo A (GAS)** sono microbi comuni che causano numerose malattie. James Musser e coll. (USA), ha cercato a lungo di capire come mai alcuni ceppi di GAS causano infezioni pericolose, mentre altri portano a malattie più leggere. Il problema è stato affrontato studiando il genoma di vari GAS e confrontando ceppi batterici isolati da persone con infezioni diverse. Per questo sono stati analizzati i geni del ceppo M3, che causa infezioni gravi e spesso mortali, isolato da un paziente affetto da shock tossico. Il suo genoma contiene più di 1,9 milioni di coppie di basi, di cui circa 1,7 sono in comune con altri ceppi GAS meno pericolosi. Analizzando grazie a marcatori genetici quel 10% del genoma caratteristico del ceppo M3, è stato possibile concludere che numerosi geni sono stati portati da **batteriofagi**.

Un gruppo della [Rockefeller University](#) ha messo a punto un metodo per uccidere al solo contatto gli streptococchi.

La tecnica, descritta in un articolo pubblicato sui «Proceedings of the National Academy of Sciences», ha enormi vantaggi rispetto a quelle tradizionali, a base di antibiotici. **Il sistema utilizza enzimi normalmente prodotti da virus batteriofagi, che infettano i batteri, producono copie di se stessi e poi escono per andare a infettare nuovi batteri.**

Questi enzimi provocano un vero e proprio dissolvimento della parete cellulare dei batteri, per permettere al virus di sfuggire una volta sfruttata la cellula.

**Vincent Fischetti ha pensato allora di provare a utilizzare l'enzima separatamente dal virus.**

Non solo infatti l'enzima uccide i batteri molto efficacemente, ma lo fa anche in un tempo molto breve. **In coltura, una piccolissima quantità dell'enzima è in grado di sterminare completamente i batteri in soli cinque secondi, meglio di qualsiasi altra sostanza nota.**

L'utilizzo degli enzimi promette anche di essere estremamente specifico, poiché ogni batterio ha il proprio virus che lo attacca.

Questo è un grande vantaggio rispetto agli antibiotici, che invece tendono anche a uccidere la flora batterica che contribuisce alla nostra salute.

Al momento, i ricercatori hanno usato l'enzima estratto da una colonia di batteri infettata dal virus, ma in futuro non sarà difficile sintetizzarlo artificialmente a un prezzo molto basso.

In one recently published animal study, a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain was used to induce a fatal bacteraemia (within 48 hours) in mice.

Treatment with a single intraperitoneal injection of phage 45 minutes after the bacterial challenge was sufficient to rescue 100% of the animals, and even when treatment was delayed until the animals were moribund, phage administration was able to rescue 50% of the mice.

Similar results have been obtained using phage to treat animals infected with methicillin-resistant *S. aureus*.

In addition, phage have been used to treat *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* and animals with local and systemic disease caused by *Vibrio vulnificus*.

Phages have also been effective in the treatment of non-systemic infections, such as gastrointestinal infections caused by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* in calves, pigs and lambs and ileocectitis caused by *Clostridium difficile* in hamsters.

Phages have also been shown to be effective in preventing the destruction of skin grafts by *P. aeruginosa*.

Terrestrial animals are not the only candidates for phage therapy, as recent studies have shown that phage can be used to treat bacterial diseases of fish in aquiculture, bacterial blight of geranium and bacterial spot on tomatoes.

## Phage growth: *in vitro* versus *in vivo*

Bacteria possess feedback mechanisms that can alter their gene expression in response to changing environmental conditions.

Such variations in gene expression can affect phage susceptibility.

For example, Karakawa noted that *S. aureus* rarely expresses the capsular polysaccharides found in clinical isolates when the bacteria are grown in the laboratory.

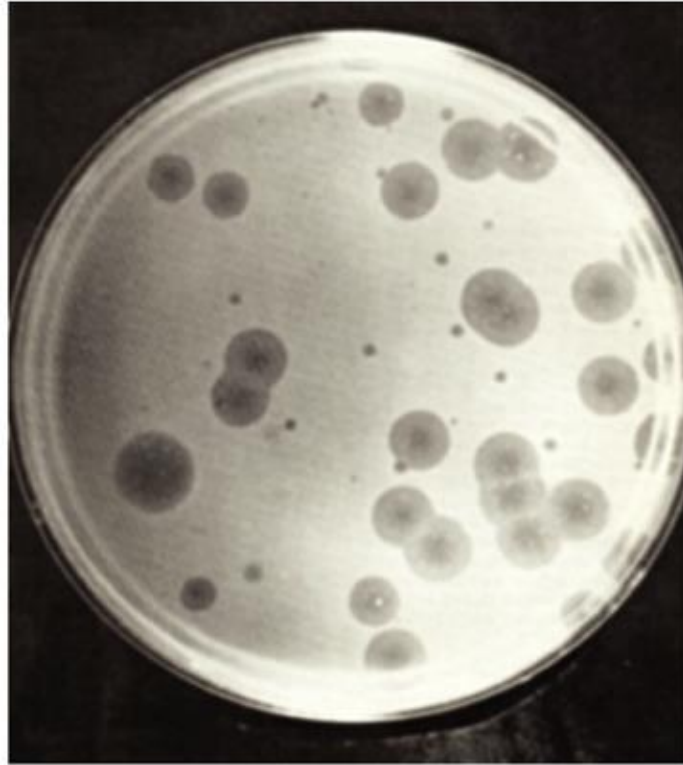
Given the possibility for such changes in the bacterial capsule, phage discovered using bacteria grown *in vitro* might not be able to multiply in an infected animal.

In addition, different *in vitro* and *in vivo* bacterial densities can be important.

Variations in phage physiology also are important, as some phage infections cause the host bacteria to release lysins that result in the destruction of bacteria not directly infected by the phage ([Box 1](#) and Fig. 4).

In the early phage literature, there are reports of body fluids (for example, serum, pus, ascites fluids, cerebrospinal fluid, urine and bile) that inhibit the infectivity of phage that were active *in vitro* against typhoid, colon bacilli and staphylococci.

Some of these effects might have resulted from alterations of bacterial physiology.



The PHAGE PLAQUES illustrated on this plate display a mixture of morphologies, which reflect the different phage strains applied to this bacterial plate. Some of the phage produce small clear plaques, whereas other phage strains that produce lysins have a clear centre zone surrounded by a spreading zone of killing.

Some lysogenic phage encode toxins or factors that enhance bacterial pathogenesis.

Phage can also contribute, through transduction, to the transmission of antibiotic-resistance genes.

It is essential that phage considered for therapeutic applications be screened for toxin genes, either biochemically or by sequencing their DNA.

The presence of toxin, antibiotic resistance genes, and genes that increase bacterial pathenogenicity, can be checked by searching phage genomes against GenBank online using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) and other similar programs.

Success cannot be assumed as we are still in the discovery stage of such detrimental genes.

The usefulness of bioinformatic analysis will increase as knowledge of these potential deleterious genes accumulates.

Table 1 | **Phages that carry toxin genes and their gene products**<sup>83</sup>

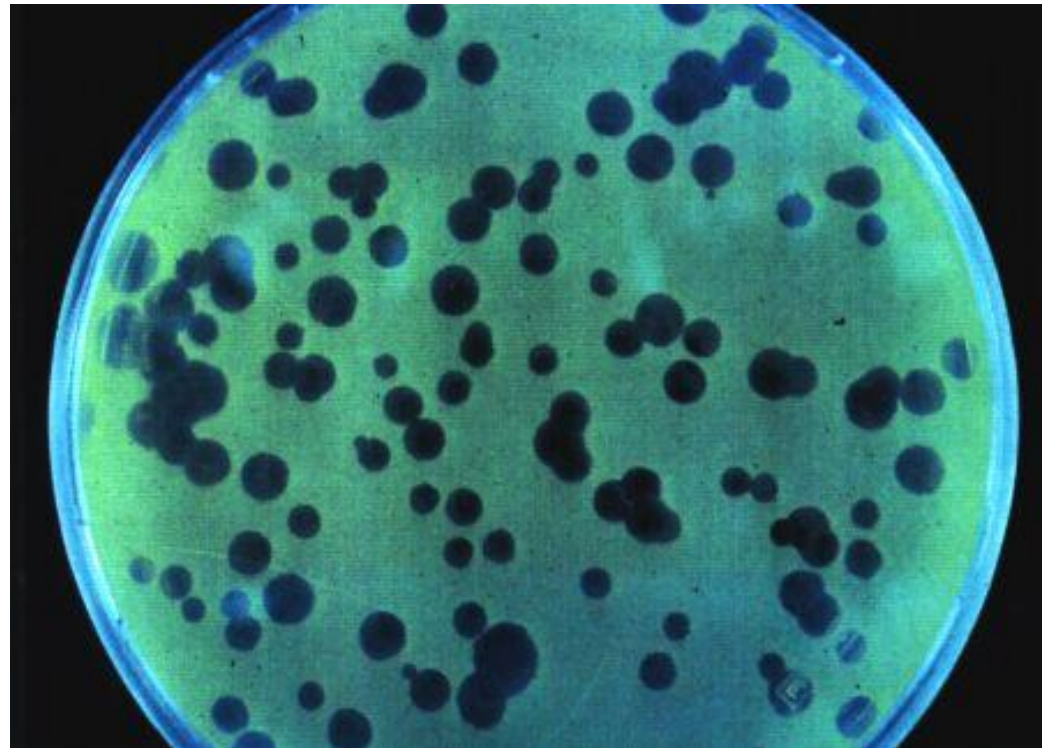
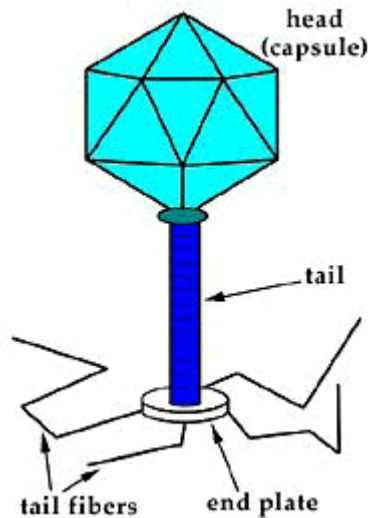
Phage	Gene	Gene product/phenotype	Bacterial host
933,H-19B	<i>stx</i>	Shiga toxins	<i>Escherichia coli</i>
ΦFC3208	<i>hly2</i>	Enterohaemolysin	O157:H7
λ	<i>lom</i>	Serum resistance	
λ	<i>bor</i>	Host-cell envelope protein	
Sfi6	<i>oac</i>	O-antigen acetylase	<i>Shigella flexneri</i>
sfII,sfV,sfX	<i>gtrII</i>	Glucosyl transferase	
SopEΦ	<i>sopE</i>	Type III effector	<i>Salmonella enterica</i>
Gifsy-2	<i>sodC-1</i>	Superoxide dismutase	
Gifsy-2	<i>nanH</i>	Neuraminidase	
Gifsy-1	<i>gipA</i>	Insertion element	
ε <sup>34</sup>	<i>rfb</i>	Glucosylation	
CTXΦ	<i>ctxAB</i>	Cholera toxin	<i>Vibrio cholera</i>
K139	<i>glo</i>	G-protein like	
VPIΦ	<i>tcp</i>	Toxin co-regulated pilus	
ΦCTX	<i>ctx</i>	Cytotoxin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C1	<i>C1</i>	Neurotoxin	<i>Clostridium botulinum</i>
NA	<i>see,sel</i>	Enterotoxin	<i>Staphylococcus aureus</i>
Φ13	<i>entA,sak</i>	Enterotoxin A, staphylokinase	
TSST-1	<i>tst</i>	Toxic shock syndrome-1	
T12	<i>speA</i>	Erythrogenic toxin	<i>Streptococcus pyogenes</i>
β-phage	<i>tox</i>	Diphtheria toxin	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>

# Future prospects

Although results from animal experiments are encouraging, continuing research will be needed to develop phage therapy for the treatment of human infectious diseases.

These efforts should include studies of phage genomics, pharmacokinetics and efficacy in animal models of infectious diseases.

**T4 virulento:** è un ceppo litico, ovvero dopo aver effettuato l'infezione, obbliga il batterio ospite a produrre i suoi geni tardivi, questo quindi duplicherà il suo materiale genetico e produrrà i capsidi e tutto ciò che è contenuto nel genoma del virus. Dopo il packing del virus si ha la lisi batterica e la formazione della tipica placca fagica di lisi nella piastra batterica.



Esempio di placche di lisi.

Già nel 2012 uno studio sulla terapia dei fagi pubblicato su **Frontiers in Microbiology** sottolineava che «dal punto di vista terapeutico la terapia dei fagi può eliminare l'infezione di un paziente senza compromettere la comunità dei batteri benefici del corpo.

Sotto questa luce, la terapia dei fagi rappresenta una sorta di "bomba intelligente" biomedica, che colpisce solo un target specifico, riducendo al minimo i danni collaterali.

La terapia con i batteriofagi è quindi una terapia biologica: i fagi si moltiplicano all'interno del batterio che attaccano e lo distruggono; quando i batteri (che stanno aggredendo l'organismo umano) vengono eradicati anche i fagi spariscono.

I russi ricordano che «Uno dei più importanti vantaggi della terapia dei fagi è che mentre gli antibiotici funzionano in modo indiscriminato, uccidendo sia i batteri sani che quelli infettivi, ogni tipo di fago si dirige precisamente su un tipo molto specifico di batteri».

## Ma in quali casi è possibile ricorrere a questa terapia?

«Le esperienze dei Paesi dell'Europa Orientale sono le più ampie, in particolare quelle dell'Istituto Eliava di Tbilisi, in Georgia - spiega Scheres -

La terapia con i fagi è stata impiegata nelle più svariate infezioni: dalla foruncolosi all'otite purulenta, dalla meningite purulenta al trattamento del piede diabetico e ancora, nelle osteomieliti, nelle grandi ferite infette e in quelle postoperatorie, nelle infezioni gastrointestinali.

In Polonia hanno poi una larga esperienza nella cura delle infezioni genitourinarie, inclusa la prostatite cronica, in quelle ortopediche e respiratorie».

Nei centri dell'Est Europa vi sono delle banche di fagi che vengono continuamente aggiornate.

Per es., l'Istituto Eliava produce due cocktail di fagi disponibili in fiale,

il primo attivo contro batteri come stafilococchi, streptococchi e pseudomonas aeruginosa,

il secondo efficace sui batteri responsabili di infezioni intestinali.

Ogni 6 mesi questi cocktail vengono testati su un ampio gruppo di ceppi batterici problematici e, se necessario, vengono aggiornati con l'aggiunta di nuovi fagi.

Nuova arma contro i batteri  
antibiotico-resistenti

*Il nemico del mio nemico è mio amico*

*Nuovi orizzonti:*  
**Trattamenti combinati  
fago-antibiotico**

