

Bedenimizdeki Sağlıkçılar: Yaşayan Terapötikler

Zeynep Nur Çıray^Y, Elif Nur Özcan^E

Yaşayan terapötik, insan hastalıklarını önleme, tedavi etme ya da mevcut durumu iyileştirme için tasarlanmış ve geliştirilmiş canlı organizmalara verilen isimdir¹. Bir yaşayan terapötik, diğer terapötikleri *in situ* (yerinde) olarak üretmek ve sunmak için de tasarlanabilmektedir².

Yaşayan terapötiklerin tasarımında, yapımında ve geliştirilmesinde büyük katkıya sahip olan **sentetik biyoloji**; canlılarda var olan yapıları belirli bir işlev için yeniden tasarlamayı ya da belirlenen işlev için yeni biyolojik parçalar üretmeyi amaçlayan bir bilim dalıdır³. Sentetik biyoloji, değerli kimyasalların üretimi, biyoyakıt eldesi için biyo-fabrikaların yapımı, insan sağlığı ve doğayı iyileştirme gibi çok çeşitli amaçlar için programlanmış yapay biyolojik sistemlerin mühendislik bakış açısından tasarlanıp inşa edilmesinde rol almaktadır (Şekil 1)⁴. Bu derlemede mikroorganizma temelli biyomedikal uygulamalar için kullanılan disiplinlerarası yaklaşımlardan ve yöntemlerden bahsedilecektir.

Sentetik Biyoloji ile Yaşayan Terapötiklerin İlişkisi

Mikrobiyal genomlara karşı savaşmak ve bu genomları susturmak için gerekli ve verimli DNA teknolojilerinin geliştirilmesine paralel olarak hastalıkların moleküler boyuttaki

temellerine dair artan literatür bilgileri, insan hastalıklarının tedavisi için özel olarak tasarlanmış yaşayan terapötiklerin mühendisliğine olanak sağlamaktadır⁵.

Sentetik biyoloji alanında gerçekleşen ilerlemeler ile bilim insanlarının sentetik gen devreleri ile donatılmış hücreleri geliştirmesi ve kullanması, küçük moleküller veya biyolojik ajanlara göre daha iyi bir alternatif olarak ele alınmıştır⁶. Bu yönelimin en büyük nedenlerinden biri, insanlık tarihi boyunca mikroorganizma kaynaklı büyük salgınların yaşanmasıdır⁷. Bulaşıcı hastalıkların ortaya çıkışı ile ihtiyaç duyulan sağlık stratejilerinin oluşturulmasındaki en büyük sorun, tanı ve tedavi geliştirme hızının hastalık yayılma hızına yetişememesidir⁸. Bu noktada sentetik biyoloji, bulaşıcı hastalıkların kontrolünde hız ve etkinlik açısından öne çıkmaktadır⁷⁻⁹. Örneğin; mikroorganizmaların sentetik biyoloji tabanlı yaşayan terapötikler olarak tasarlanması enfeksiyon hastalıklarından kanser gibi kompleks hastalıklara kadar pek çok sağlık sorununun teşhis ve tedavisi için etkin bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Ek olarak, biyogüvenlik alanında da bu mikroorganizmaların belirli özelliklerinin kullanımı mümkün olabilmektedir¹⁰.



Şekil 1. Sentetik bakterilerin hangi terapötik amaçlarla uygulanabildiğini açıklayan şema⁴.

Bakterilerle İnsanların İlişkisi

Yetişkin bir insan vücudunun yüzeylerinde kolonileşmiş toplam mikroorganizma sayısının, hücrelerimizin toplam sayısından 10 kat daha fazla olduğu düşünülmektedir¹¹. Özellikle bağırsak gibi vücut bölgelerinde lokalize mikroorganizmalar insan sağlığının sürekliliği için fayda sağlamaktadır; bununla birlikte **probiyotikler** olarak sağlık uygulamalarında da kullanılmaktadır⁵. Probiyotikler, uygun ve yeterli miktarda kullanıldığında konakçıya sağlık çerçevesinde yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır¹². Zaman içerisinde bakterilerin insan biyolojisinde değişiklikler yapabilme ve insan biyolojisini manipüle etme yeteneğinin ortaya çıkmasıyla, bakterilerin hastalıklarla savaşmak için probiyotikler olarak kullanılabilecekleri; bir diğer deyişle uygun mühendislik işlemleri ardından sentetik biyoloji sayesinde yaşayan terapötikler olabilecekleri fikri de ortaya çıkmıştır¹³⁻¹⁵.

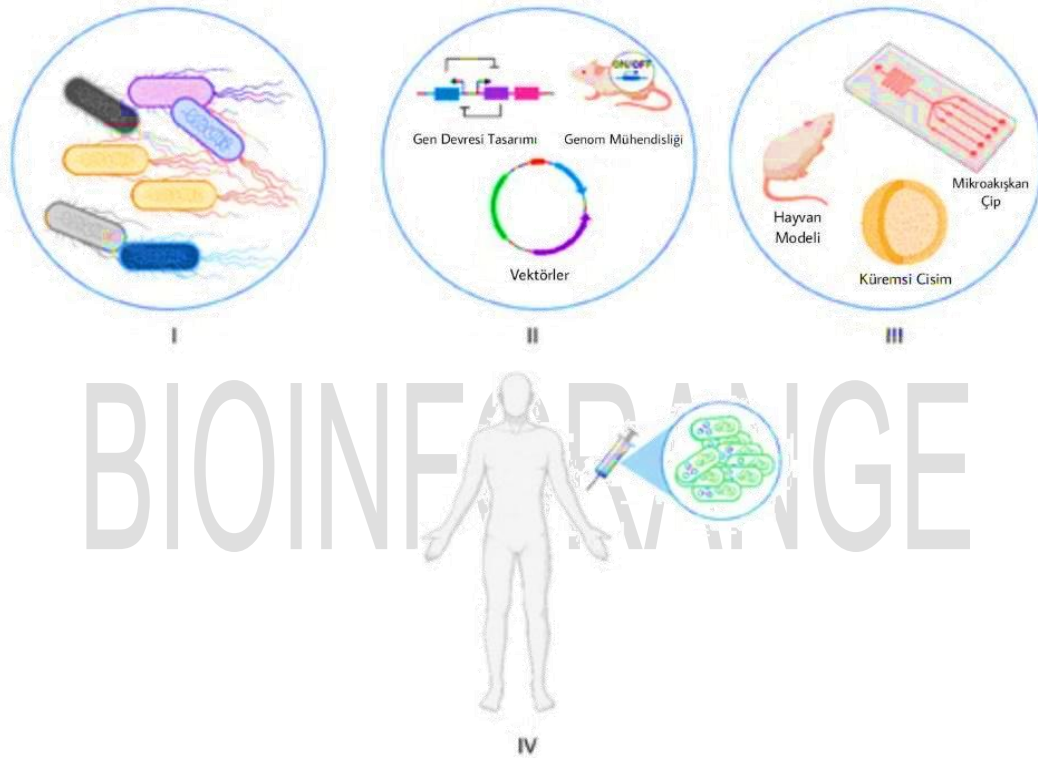
Bulaşıcı Hastalıkların Tespiti ve Tedavisi İçin Gerekli Aşamalar

İlk aşama, mühendisliği yapılacak olan uygun bakterinin seçimidir. Konak organizma ile bakterilerin arasında gerçekleşen düzensiz etkileşimlerin obezite, kanser, inflamatuvar bağırsak sendromu (IBD) gibi hastalıklarla korele (ilişkili) olduğu kanıtlanmış olduğundan; kommensal (ortak) ya da ortak olmayan fakat; zayıflatılmış bakteri türlerinin seçilmesi, vücutta herhangi bir bağışıklık tepkisinin tetiklenmemesi açısından fazlasıyla önemlidir^{16,17}.

İkinci adım, seçilen bakteriyi uygun amaca göre terapötikleştirecek, aracı genetik devrenin tasarlanmasıdır. Bu araç *in situ* olarak uygulanmalıdır³. Terapötik ajan olarak, enfeksiyöz ajanın büyümesini durdurabilecek veya onu tamamen ortadan kaldırabilecek farklı toksinler, peptitler veya proteinler seçilebilmektedir¹⁸.

Üçüncü ve **son aşama** ise uygulamadır. Bakterilerin, terapötik amaçla vücuda verildikten sonraki kontrolleri kritik önem taşımaktadır. Hedefe ulaşıldığında bakteriler vücutta yok edilmelidir. Bunlar için iki yöntem mevcuttur: Birinci yöntemde, bakteriler tasarlanma aşamalarında antibiyotiğe dirençsiz olacak şekilde tasarlanırlarsa, terapinin sonunda antibiyotik uygulanarak

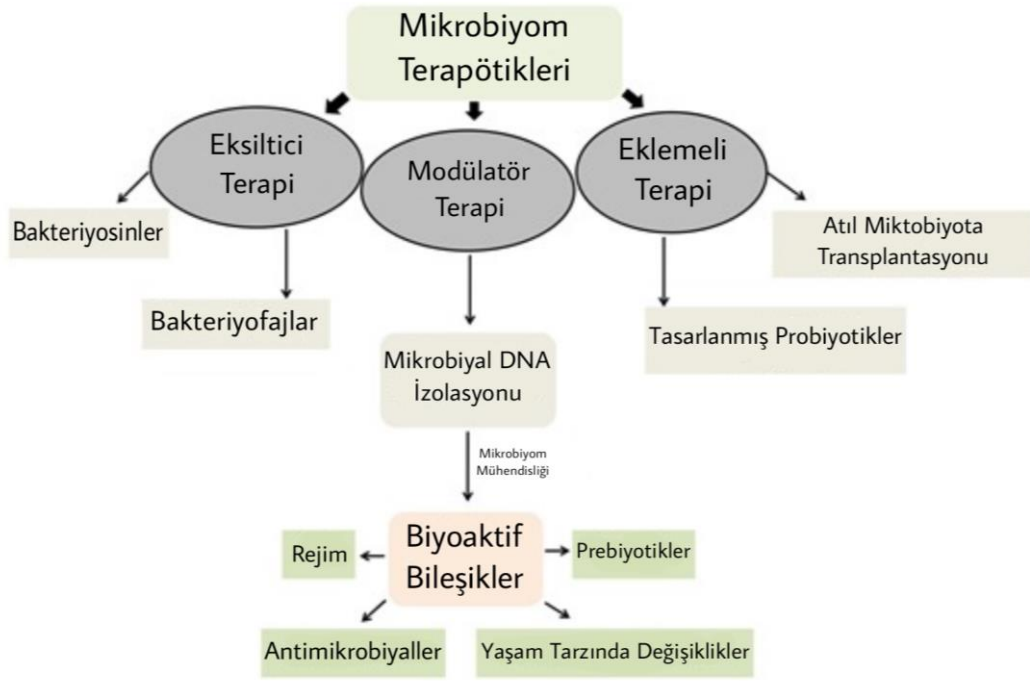
bakterilerin vücutta yok edilmesi sağlanabilmektedir. İkinci yöntemde ise bakteriler tasarlanma aşamasındayken genomlarına senkronize bir lizis devresinin entegre edilmesi ile kritik popülasyon yoğunluğuna ulaşıldığında bakteri popülasyonunun parçalanması sağlanabilmektedir. Tüm bu aşamalar Şekil 2’de şematik olarak gösterilmiştir³.



Şekil 2. Bakteri bazlı canlı terapötiklerde iş akışının şematik gösterimi³. (I) Kullanılacak organizmanın seçilmesi. (II) Mühendislik ile uygun amaç için terapötikleştirilmiş organizma. (Optimize edilmiş ve verimli genetik devrelere sahip genom mühendisliği ve/veya plazmit uygulanabilir.) (III) Sistemlerin memeli hücre kültürü, mikroakışkan çipler veya sferoidler (küresel cisimler) yoluyla *in vitro* veya model organizmalar kullanılarak *in vivo* test edilmesi. (IV) İnsan denemesi.

Terapi yönteminde mikrobiyom terapötikleri ile bilinen **üç yaygın** strateji vardır (Şekil 3)¹⁹: **Eklemleri terapi**; mikrobiyal suşların eklenmesiyle gerçekleşmektedir. **Eksiltici terapi**; hastalık yapıcı belirli, bilinen ve ölümcül patojenleri ortadan kaldırmayı

amaçlamaktadır. **Modülatör terapi** ise bilinen cansız ajanlar kullanarak belirli işlevler için konakçı ile mikrobiyom arasındaki etkileşimi değiştirmek veya manipüle etmek için uygulanmaktadır¹⁹⁻²¹.



Şekil 3. Mikrobiyom terapötikleri olarak kullanılan stratejilere genel bakış¹⁹.

Mikrobiyota Terapötiklerine Örnekler

İnsan bağırsak mikrobiyotasının bağışıklık kaynaklı ve patojenlere bağlı hastalıkların yanı sıra metabolizma hastalıklarına karşı da insan sağlığı koşulları için önemli bir faktör olduğu bilinmektedir²². Sağlıklı bir insan mikrobiyomunun hastalıkla mücadelede büyük rol oynamasının yanı sıra disbiyoz durumunun gerçekleşmesi, pek çok hastalığa neden olabilmektedir¹⁹. İnsan mikrobiyotasında bulunan *Christensenella* türünün depresyon, anksiyete gibi psikolojik rahatsızlıklara bağlı davranış bozukluklarında iyileşmeye neden olmaktadır¹⁹. *Akkermansia muciniphila*, metabolik bozukluklarda, kanser tedavisinde metformin ile birlikte ve ateroskleroza (damar sertliği) karşı korumada kullanımı olan bir mikroorganizmadır^{3,24}. *Lactobacillus johnsonii* ise kansere karşı koruyucu etkisiyle öne çıkmaktadır²⁵.

Laktik Asit Bakterileri Tabanlı Yaşayan Terapötikler

İnsan mikrobiyotası, insan vücudunda yaşayan mikroorganizmaların ekosistemini ifade etmektedir²⁶. Mikrobiyota, konakçı ve dış ortam arasında geniş ve çok etkileşimli, iyi toleransa sahip bir tampon bölge olarak görev almaktadır²⁶. Yeni nesil dizilemenin (NGS) geliştirilmesinin ardından insan vücudundaki mikrobiyomlar üzerinde yapılan çalışmalarla, insanların konakçı olmanın yanı sıra **“bir topluluk işleyişinin üyeleri olduğu”** ortaya çıkmıştır²⁷. İnsan sağlığı ve gelişimi, mikrobiyota ile doğrudan bağlantılıdır²⁷⁻²⁹. Gün geçtikçe artan araştırmalar sonucunda, **sağlık ve hastalık düzenleyicisi** kavramı mikrobiyota tanımına eklenmiştir²⁶. Yapılan çalışmalar sonucunda, “bağırsak mikrobiyotası; atopik dermatit, kardiyovasküler hastalıklar, nöropsikiyatrik bozukluklar, yaşlılık, çocuk hastalıkları, astım ve kanser ile ilişkilendirilmiştir”^{1,27-30}.

Bu hastalıkların tedavisine yönelik probiyotik ve prebiyotik olarak adlandırılan besinlerin veya maddelerin tüketilmesi suretiyle, organizma düzeyinde homeostazın tekrar sağlanması ile mikrobiyota-konak ilişkisini güçlendirmeye yönelik araştırmalar yapılmıştır^{27,29,31}. Bu araştırmaların merkezine ise zamanla *Lactobacillales* takımından olan, gıda ve tarımsal işlemede kullanılan **laktik asit bakterileri (LAB)** geçmiştir²⁶. Adjuvan (destek tedavi) yaklaşımı da antibiyotikle beraber kullanılan prebiyotik/probiyotik takviyesinin *Helicobakter pilori* veya *Clostridium difficile* enfeksiyonlarını yok etmede, yalnızca antibiyotik kullanımına kıyasla daha etkili olduğu gözlemlenmiştir^{27,31}.

Hastalıkların oluşmasında eksiklikleri kritik önem taşımakta olan ve hastalıkların tedavisinde kullanılma amacıyla biyosentetik işlemler uygulanabilen LAB'lar, aynı zamanda cilt sağlığıyla doğrudan etkileşim halinde bulunmaktadır. Son zamanlarda pek çok araştırmacı LAB'lar ile cilt sağlığı arasındaki korelasyonu incelemiştir³². Farklı çalışmaların sonucunda, probiyotiklerin cilt sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu düşünülmüştür^{32,33}. Bir çalışmada probiyotikler kullanılarak oral yolla yapılan bakteriyoterapinin, belirli cilt hastalıklarının tedavisinde yararlı etkiler meydana getirebileceği öne sürülmüştür^{32,33}. Probiyotikler sadece hastalıklara karşı değil, güneş ışınlarına (ultraviyole, UV) karşı da koruma sağlayarak cilt homeostazını korumaya yardımcı olmaktadır³².

Geleneksel Tedaviler ve Yaşayan Terapötikler

Enfeksiyöz hastalıklarda ve kanserde uygulanan geleneksel tedavilerin sırasıyla patojen direnci, kemoterapi direnci veya ilaçlara yetersiz yanıt verme gibi kısıtlamaları bulunmasına karşılık yaşayan terapötikler, karmaşık görevler için programlanabildiğinden mevcut tedavi yaklaşımlarında karşılaşılan zorlukların giderilmesinde ve tedavi başarısının artırılmasında kilit rol oynayabilecek bir potansiyele sahiptir. Yaşayan terapötiklerin geleneksel terapilere kıyasla daha hızlı, etkili, esnek, hassas, özelleştirilmiş, uygun maliyetli, farklı sensör ve aktüatörler ile tekrar programlanabilirliği; hem zamandan tasarruf sağlamaktadır hem de insan nüfusunun sağlığı için daha pozitif bir durumu meydana getirmektedir^{3,4,19}.

Hastanın vücudundan elde edilen veriler gerçek zamanlı olduğundan, var olan herhangi bir bozukluğu direkt olarak hastanın fizyolojisi ile ilişkilendirebilmek mümkündür⁴. Bulaşıcı olan ve özellikle viral olan hastalıklarla mücadelede geleneksel yöntemlerin yarattığı bir diğer sorun, test yöntemlerinin önemli miktarda zamandan ve doğruluktan yoksun olma eğiliminde olmasıdır^{3,34,35}.

Geleneksel Yöntemlerden Süregelen Bir Tedavi Yöntemi: Antibiyotikler

1910 yılında ilk antibiyotik olan Salvarsan ve İngiliz hekim Sir Alexander Fleming tarafından 1928 yılında keşfedilen penisilinden bu yana ise antibiyotikler, pek çok bakteriyel enfeksiyonun tedavisi için öne çıkan seçenek

olmuştur. Penisilinin keşfedilmesi, diğer tür ve doğal antibiyotiklerin geliştirilmesi bakımından altın çağın başlangıcı olmuştur; ancak bu çağ, araştırmaların azaldığı ve zayıf kaldığı 1950'lerin ortasına kadar devam etmiştir³⁶⁻³⁸. Keşfinden günümüze antibiyotikler, modern tıbbi büyük ölçüde değiştirmekle kalmayıp bakteriyel enfeksiyonların neden olduğu ölümlerin sayısını, 100 yıl içinde insan ömrünü ortalama 23 yıl uzatacak kadar önemli ölçüde azaltmıştır^{3,39}. Ek olarak, probiyotiklerin fonksiyonel skalasını geliştirmek, antibiyotiğe dirençli patojenlerin yükselişine ve yeni antibiyotiklerin yavaş gelişimine karşılık, umut

verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir⁴⁰.

Günümüzle aynı amaç için farklı ve daha ilkel yöntemlerle yüzyıllar öncesinden kullanılmaya başlanan yaşayan terapötikler; geçmişten günümüze kadar teknolojiye, biyolojide, mühendislikte ve diğer pek çok alanda meydana gelen yeniliklerin etkisiyle gelişme kaydeden ve bu gelişimini güncel olarak devam ettiren bir alan olmasının yanı sıra hastalıkların tanı ve tedavisi adına gelecek için, günümüze kıyasla daha fazla ümit veren disiplinlerarası bir bilim dalı olarak biyolojik ilerlemelere yön vermektedir.

BIOINFORANGE

Referanslar

- Charbonneau, M. R., Isabella, V. M., Li, N., & Kurtz, C. B. (2020). Developing a new class of engineered live bacterial therapeutics to treat human diseases. *Nature communications*, 11(1), 1738. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15508-1>
- Pedrolli, D. B., Ribeiro, N. V., Squizzato, P. N., de Jesus, V. N., Cozetto, D. A., & Team AQA Unesp at iGEM 2017 (2019). Engineering Microbial Living Therapeutics: The Synthetic Biology Toolbox. *Trends in biotechnology*, 37(1), 100–115. <https://doi.org/10.1016/j.tibttech.2018.09.00>
- Khan, A., Ostaku, J., Aras, E., & Safak Seker, U. O. (2022). Combating Infectious Diseases with Synthetic Biology. *ACS synthetic biology*, 11(2), 528–537. <https://doi.org/10.1021/acs.synbio.1c00576>
- Vo, P., Lee, H. M., & Na, D. (2019). Synthetic Bacteria for Therapeutics. *Journal of microbiology and biotechnology*, 29(6), 845–855. <https://doi.org/10.4014/jmb.1904.04016>
- Riglar, D. T., & Silver, P. A. (2018). Engineering bacteria for diagnostic and therapeutic applications. *Nature reviews. Microbiology*, 16(4), 214–225. <https://doi.org/10.1038/nrmiicro.2017.172>
- Cubillos-Ruiz, A., Guo, T., Sokolovska, A., Miller, P. F., Collins, J. J., Lu, T. K., & Lora, J. M. (2021). Engineering living therapeutics with synthetic biology. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(12), 941–960. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00285-3>
- Piret, J., & Boivin, G. (2021). Pandemics Throughout History. *Frontiers in microbiology*, 11, 631736. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.631736>
- Vickers, C. E., & Freemont, P. S. (2022). Pandemic preparedness: synthetic biology and publicly funded biofoundries can rapidly accelerate response time. *Nature communications*, 13(1), 453. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28103-3>
- Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2019). Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00066-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>
- Kelly, V. W., Liang, B. K., & Sirk, S. J. (2020). Living Therapeutics: The Next Frontier of Precision Medicine. *ACS synthetic biology*, 9(12), 3184–3201. <https://doi.org/10.1021/acs.synbio.0c00444>
- Xu, J., Mahowald, M. A., Ley, R. E., Lozupone, C. A., Hamady, M., Martens, E. C., Henrissat, B., Coutinho, P. M., Minx, P., Latreille, P., Cordum, H., Van Brunt, A., Kim, K., Fulton, R. S., Fulton, L. A., Clifton, S. W., Wilson, R. K., Knight, R. D., & Gordon, J. I. (2007). Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine. *PLoS biology*, 5(7), e156. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050156>
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., & Axelsson, L. (2012). In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 153(1-2), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.020>
- Dou, J., & Bennett, M. R. (2018). Synthetic Biology and the Gut Microbiome. *Biotechnology journal*, 13(5), e1700159. <https://doi.org/10.1002/biot.201700159>
- Cruz, K., Enekegho, L. O., & Stuart, D. T. (2022). Bioengineered Probiotics: Synthetic Biology Can Provide Live Cell Therapeutics for the Treatment of Foodborne Diseases. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 890479. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.890479>
- Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in Medicine: A Long Debate. *Frontiers in immunology*, 11, 2192. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192>
- van der Lelie, D., Oka, A., Taghavi, S., Umeno, J., Fan, T. J., Merrell, K. E., Watson, S. D., Ouellette, L., Liu, B., Awoniyi, M., Lai, Y., Chi, L., Lu, K., Henry, C. S., & Sartor, R. B. (2021). Rationally designed bacterial consortia to treat chronic immune-mediated colitis and restore intestinal homeostasis. *Nature communications*, 12(1), 3105. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23460-x>
- Tan, Y., Shen, J., Si, T., Ho, C. L., Li, Y., & Dai, L. (2020). Engineered Live Biotherapeutics: Progress and Challenges.

- Biotechnology journal*, 15(10), e2000155. <https://doi.org/10.1002/biot.202000155>
18. Omer, R., Mohsin, M. Z., Mohsin, A., Mushtaq, B. S., Huang, X., Guo, M., Zhuang, Y., & Huang, J. (2022). Engineered Bacteria-Based Living Materials for Biotherapeutic Applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 870675. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.870675>
19. Yadav, M., & Chauhan, N. S. (2021). Microbiome therapeutics: exploring the present scenario and challenges. *Gastroenterology report*, 10, goab046. <https://doi.org/10.1093/gastro/goab046>
20. Singhvi, G., Girdhar, V., Patil, S., Gupta, G., Hansbro, P. M., & Dua, K. (2018). Microbiome as therapeutics in vesicular delivery. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 104, 738–741. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.099>
21. Mimee, M., Citorik, R. J., & Lu, T. K. (2016). Microbiome therapeutics - Advances and challenges. *Advanced drug delivery reviews*, 105(Pt A), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.032>
22. Waters, J. L., & Ley, R. E. (2019). The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health. *BMC biology*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0699-4>
23. De la Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N. T., Corrales-Agudelo, V., Velásquez-Mejía, E. P., Carmona, J. A., Abad, J. M., & Escobar, J. S. (2017). Metformin Is Associated With Higher Relative Abundance of Mucin-Degrading Akkermansia muciniphila and Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in the Gut. *Diabetes care*, 40(1), 54–62. <https://doi.org/10.2337/dc16-1324>
24. Li, J., Lin, S., Vanhoutte, P. M., Woo, C. W., & Xu, A. (2016). Akkermansia Muciniphila Protects Against Atherosclerosis by Preventing Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in Apoe^{-/-} Mice. *Circulation*, 133(24), 2434–2446. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019645>
25. Cheema, A. K., Maier, I., Dowdy, T., Wang, Y., Singh, R., Ruegger, P. M., Borneman, J., Fornace, A. J., Jr, & Schiestl, R. H. (2016). Chemopreventive Metabolites Are Correlated with a Change in Intestinal Microbiota Measured in A-T Mice and Decreased Carcinogenesis. *PloS one*, 11(4), e0151190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151190>
26. Ozdemir, T., Fedorec, A., Danino, T., & Barnes, C. P. (2018). Synthetic Biology and Engineered Live Biotherapeutics: Toward Increasing System Complexity. *Cell systems*, 7(1), 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.06.008>
27. Mays, Z. J., & Nair, N. U. (2018). Synthetic biology in probiotic lactic acid bacteria: At the frontier of living therapeutics. *Current opinion in biotechnology*, 53, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.01.028>
28. Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E., & Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ (Clinical research ed.)*, 361, k2179. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>
29. Ogunrinola, G. A., Oyewale, J. O., Oshamika, O. O., & Olasehinde, G. I. (2020). The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *International journal of microbiology*, 2020, 8045646. <https://doi.org/10.1155/2020/8045646>
30. Altveş, S., Yildiz, H. K., & Vural, H. C. (2020). Interaction of the microbiota with the human body in health and diseases. *Bioscience of microbiota, food and health*, 39(2), 23–32. <https://doi.org/10.12938/bmfh.19-023>
31. Del Rio, B., Redruello, B., Fernandez, M., Martin, MC, Ladero, V., & Alvarez, MA (2019). Lactic Acid Bacteria as a Live Delivery System for the in situ Production of Nanobodies in the Human Gastrointestinal Tract *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.03179
32. Jeong, J. H., Lee, C. Y., & Chung, D. K. (2016). Probiotic Lactic Acid Bacteria and Skin Health. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(14), 2331–2337. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.834874>
33. Wang, L., Yu, T., Zhu, Y., Luo, Y., Dong, F., Lin, X., Zhao, W., He, Z., Hu, S., &

- Dong, Z. (2022). Amplicon-based sequencing and co-occurrence network analysis reveals notable differences of microbial community structure in healthy and dandruff scalps. *BMC genomics*, 23(1), 312. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08534-4>
34. Tsao, Y. T., Tsai, Y. H., Liao, W. T., Shen, C. J., Shen, C. F., & Cheng, C. M. (2020). Differential Markers of Bacterial and Viral Infections in Children for Point-of-Care Testing. *Trends in molecular medicine*, 26(12), 1118–1132. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.09.004>
 35. Tribolet, L., Kerr, E., Cowled, C., Bean, A., Stewart, C. R., Dearnley, M., & Farr, R. J. (2020). MicroRNA Biomarkers for Infectious Diseases: From Basic Research to Biosensing. *Frontiers in microbiology*, 11, 1197. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01197>
 36. Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.10.008>
 37. Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khushro, A., Zidan, B., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, M., Gajdacs, M., Sahibzada, M., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*, 14(12), 1750–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
 38. Ribeiro da Cunha, B., Fonseca, L. P., & Calado, C. (2019). Antibiotic Discovery: Where Have We Come from, Where Do We Go?. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 8(2), 45. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020045>
 39. Durand, G. A., Raoult, D., & Dubourg, G. (2019). Antibiotic discovery: history, methods and perspectives. *International journal of antimicrobial agents*, 53(4), 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.11.010>
 40. Singh, B., Mal, G., & Marotta, F. (2017). Designer Probiotics: Paving the Way to Living Therapeutics. *Trends in biotechnology*, 35(8), 679–682. <https://doi.org/10.1016/j.tibttech.2017.04.001>