**Journal of Innovative and Creativity**
Journal Homepage: https://joecy.org/index.php/joecy
e-mail: journaljoecy@gmail.com

Faculty of Education
University of Pahlawan Tuanku Tambusai
ISSN 2775-771X (Online)
ISSN 2962-570X (Printed)
6 (1) 2026, Page 14424-14429

# LITERATURE REVIEW: POTENSI BAKTERIOFAG SEBAGAI AJUVAN FARMAKOTERAPI DALAM MENGATASI RESISTENSI ANTIBIOTIK

**Muhammad Luthfi Al Rasuli[1], Elitha Sundari Pulungan[2], Astri Nurrizki[3]**
[1,2,3]Program Studi Kedokteran Universitas Pertahanan Republik Indonesia
Corresponding Author: Muhammad Luthfi Al Rasuli, E-mail: elithasundaripulungan@gmail.com

Published: Februari, 2026

**ABSTRAK**
Krisis resistensi antimikroba (AMR) telah menjadi ancaman kesehatan global dengan kontribusi hampir 5 juta kematian per tahun, terutama akibat patogen kelompok ESKAPE. Stagnasi penemuan antibiotik baru dan kegagalan antibiotik lini terakhir menuntut adanya strategi translasional baru, salah satunya melalui penggunaan bakteriofag sebagai ajuvan farmakoterapi. Bakteriofag (fag) merupakan virus pemangsa bakteri yang mampu bekerja secara sinergis dengan antibiotik untuk memanipulasi kelemahan genetik bakteri. Tujuan: Untuk menganalisis secara komprehensif mekanisme sinergi *phage-antibiotic synergy* (PAS), efektivitasnya dalam eradikasi biofilm, fenomena *evolutionary trade-off* untuk re-sensitisasi antibiotik, serta tantangan implementasi klinisnya. Metode: Kajian literatur ini menggunakan data sekunder dari basis data PubMed, ScienceDirect, Scopus, dan Google Scholar dengan fokus pada publikasi lima tahun terakhir (2021–2026). Literatur yang dianalisis mencakup uji klinis, studi eksperimental (*in vitro* & *in vivo*), serta tinjauan sistematis terkait integrasi fag dalam rejimen antibiotik konvensional. Hasil: Integrasi bakteriofag terbukti meningkatkan lisis bakteri melalui respons stres SOS yang meningkatkan *burst size* virus. Selain itu, enzim depolimerase pada fag mampu menghancurkan matriks biofilm, sehingga meningkatkan penetrasi antibiotik. Mekanisme *evolutionary trade-offs* memaksa bakteri memilih antara resistensi terhadap fag atau mengembalikan sensitivitasnya terhadap antibiotik. Studi kasus klinis (2021-2026) menunjukkan efektivitas tinggi pada infeksi saluran kemih kompleks, luka kronis, dan infeksi paru pada fibrosis kistik. Kesimpulan: Bakteriofag merupakan komponen krusial dalam masa depan farmakoterapi yang mampu "menghidupkan kembali" antibiotik lama dan mengatasi infeksi multiresisten. Diperlukan regulasi yang lebih fleksibel dan pengembangan infrastruktur bank fag untuk mendukung pengobatan personal di masa depan.

**Kata Kunci: Bakteriofag, Resistensi Antibiotik, *Phage-Antibiotic Synergy* (PAS), Biofilm, Terapi Ajuvan**

© The Author(s). 2021 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Atibution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

## PENDAHULUAN

Krisis resistensi antimikroba (AMR) saat ini telah diakui sebagai salah satu ancaman kesehatan global paling mematikan di abad ke-21. Berdasarkan data epidemiologi terbaru, infeksi bakteri resisten berkontribusi pada hampir 5 juta kematian per tahun, dengan prevalensi tertinggi ditemukan pada infeksi yang disebabkan oleh kelompok patogen ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* spp) (Murray et al., 2022). Ketidakmampuan antibiotik lini pertama hingga lini terakhir (seperti karbapenem dan kolistin) dalam mengeradikasi infeksi ini telah menyebabkan lonjakan biaya perawatan kesehatan dan angka mortalitas di unit perawatan intensif.

Fenomena ini diperparah oleh stagnasi dalam penemuan kelas antibiotik baru oleh industri farmasi global selama tiga dekade terakhir. Biaya riset yang sangat tinggi dan risiko kegagalan klinis membuat pengembangan molekul kimia baru melambat, sementara bakteri terus berevolusi dengan cepat. Oleh karena itu, strategi translasional beralih pada konsep ajuvan farmakoterapi, di mana agen biologi digunakan untuk meningkatkan efikasi, menurunkan dosis toksik, atau memulihkan sensitivitas antibiotik yang sudah ada.

Permasalahan utama muncul dari ketidakmampuan antibiotik menembus biofilm, struktur matriks ekstrapolimer yang melindungi sel bakteri dorman dari pengobatan konvensional. Enzim depolimerase dari bakteriofag dapat mendegradasi matriks ini, tetapi integrasi dengan antibiotik masih menghadapi tantangan sinergi dan stabilitas. Dimitriu et al., 2022] Selain itu, respons stres SOS yang

dipicu antibiotik sub-lethal meningkatkan replikasi fag, namun sequencing waktu pemberian krusial untuk menghindari evolusi resistensi ganda.[Liu et al., 2022].

Fenomena evolutionary trade-off semakin memperumit, di mana bakteri memilih antara resistensi fag atau sensitivitas antibiotik kembali, sering dengan biaya kebugaran tinggi yang memaksa pemilihan. Resistensi fag melalui modifikasi reseptor seperti O-antigen menyebabkan kerentanan ulang terhadap antibiotik, tetapi mutasi sekunder dapat memicu ko-evolusi yang berkepanjangan.[Simon et al., 2023]

Penelitian ini bertujuan menganalisis secara komprehensif sinergi *phage-antibiotic* (PAS), eradikasi biofilm, trade-off evolusioner untuk re-sensitisasi antibiotik, serta tantangan klinis bakteriofag sebagai ajuvan pada infeksi multiresisten. Urgensinya terletak pada potensi menghidupkan kembali antibiotik lama di tengah krisis AMR yang diproyeksikan mencapai 10 juta kematian tahunan pada 2050, dengan studi kasus 2021-2026 menunjukkan efikasi tinggi pada ISK kompleks, luka kronis, dan infeksi paru.[Murray et al., 2022][Schooley et al., 2023] Kebaruan penelitian ini adalah sintesis naratif terkini dari data 2021-2026, termasuk model matematis trade-off dan rekomendasi bank fag nasional, yang belum banyak dibahas di konteks Indonesia.[Uyttebroek et al., 2022][Fauconnier et al., 2022]

## METODE

Penelitian ini menggunakan pendekatan kajian literatur (*literature review*) dengan memanfaatkan data sekunder yang diperoleh dari berbagai publikasi ilmiah. Kajian ini bertujuan untuk membahas secara komprehensif peran bakteriofag sebagai ajuvan farmakoterapi dalam mengatasi resistensi antibiotik, khususnya terkait mekanisme sinergi *phage-antibiotic synergy* (PAS), eradikasi biofilm, fenomena *evolutionary trade-off* (re-sensitisasi antibiotik), serta efektivitas klinis pada infeksi bakteri multiresisten.

Sumber data diperoleh melalui pencarian artikel ilmiah nasional dan internasional pada beberapa basis data elektronik, yaitu PubMed, ScienceDirect, Scopus, dan Google Scholar. Pencarian literatur dilakukan menggunakan kombinasi kata kunci yang relevan, antara lain *bacteriophage therapy, antibiotic resistance, phage-antibiotic synergy, adjuvant therapy, biofilm eradication, lytic phages,* dan *antimicrobial resistance*. Artikel yang dipilih dibatasi pada publikasi dalam lima tahun terakhir (2021–2026) untuk memastikan relevansi dan kebaruan informasi sesuai dengan perkembangan terkini di bidang mikrobiologi dan farmakologi.

Literatur yang disertakan dalam kajian ini meliputi penelitian dengan desain uji klinis, studi eksperimental laboratorium (*in vitro* dan *in vivo*), tinjauan sistematis, serta meta-analisis yang membahas integrasi bakteriofag ke dalam rejimen antibiotik konvensional dan melaporkan luaran yang berkaitan dengan penurunan beban bakteri atau pemulihan sensitivitas antibiotik. Artikel yang tidak relevan dengan topik penelitian, tidak tersedia dalam bentuk teks lengkap, atau hanya berupa opini dan laporan kasus tunggal dikeluarkan dari kajian untuk menjaga kualitas sintesis data.

Artikel yang diperoleh dari proses pencarian selanjutnya diseleksi melalui penelaahan judul, abstrak, dan isi teks lengkap untuk memastikan kesesuaian dengan tujuan penelitian. Data dan temuan utama dari setiap artikel dianalisis dan disintesis secara deskriptif menggunakan pendekatan naratif. Hasil kajian dikelompokkan berdasarkan tema utama, meliputi mekanisme molekuler sinergi bakteriofag-antibiotik, peran enzim depolimerase dalam degradasi biofilm, dampak evolusioner terhadap sensitivitas antimikroba, serta tantangan dalam formulasi farmasetika dan regulasi klinis.

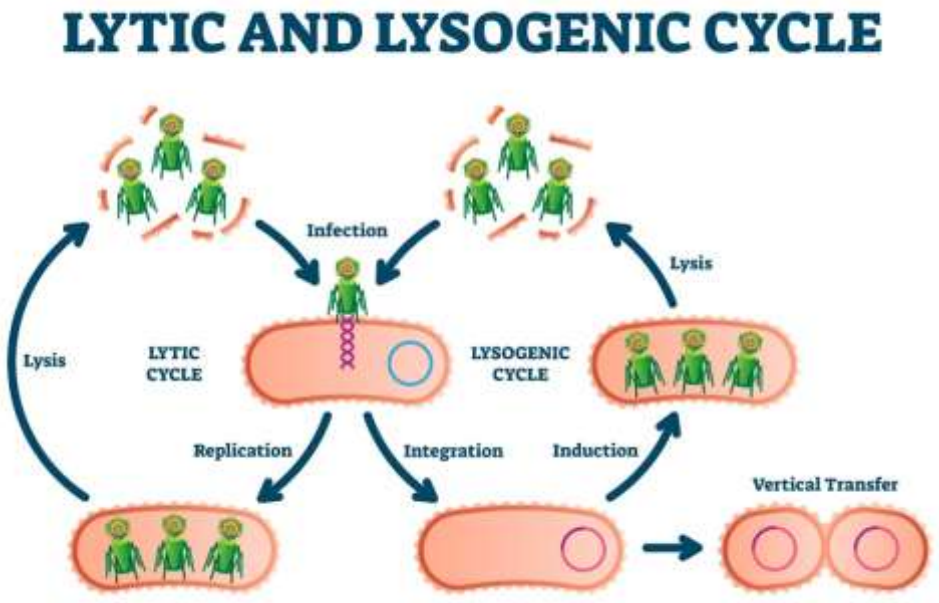
Karena penelitian ini menggunakan data sekunder dari publikasi ilmiah yang telah dipublikasikan, maka tidak diperlukan persetujuan etik penelitian. Kajian ini memiliki keterbatasan berupa ketergantungan pada kualitas dan heterogenitas studi yang direview, sehingga hasil yang diperoleh tidak dimaksudkan untuk menarik kesimpulan kausal yang mutlak, melainkan untuk memberikan gambaran ilmiah dan dasar teoretis bagi pengembangan strategi farmakoterapi baru dalam menghadapi krisis resistensi antimikroba global.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Mikrobiologi: Dasar Seleksi Terapi

Keberhasilan terapi fag sangat bergantung pada pemahaman mendalam mengenai interaksi virus-inang pada tingkat molekuler. Tidak semua fag cocok untuk aplikasi klinis, sehingga seleksi yang ketat berdasarkan siklus hidup adalah syarat mutlak.

1. Dominansi Siklus Litik Obligat




Dalam aplikasi medis, hanya fag litik obligat yang diizinkan untuk digunakan. Fag ini bekerja dengan cara mengadsorpsi reseptor spesifik pada dinding sel bakteri, menyuntikkan materi genetiknya, dan segera membajak metabolisme sel untuk memproduksi virion baru. Siklus ini diakhiri dengan peristiwa lisis yang dimediasi oleh protein holin dan endolisin. Sebaliknya, fag lisogenik (temperate) sangat dihindari karena kemampuannya melakukan integrasi genom (prophage) yang dapat memfasilitasi transfer gen virulensi atau gen resistensi antibiotik antar bakteri melalui mekanisme transduksi (Dimitriu et al., 2022).

2. Presisi Target dan Integritas Mikrobiota

Salah satu keunggulan utama fag dibandingkan antibiotik spektrum luas adalah spesifisitas targetnya yang luar biasa tinggi. Sementara antibiotik konvensional sering kali menyebabkan kerusakan kolateral pada mikrobiota usus (dysbiosis) yang memicu infeksi sekunder seperti Clostridioides difficile, fag hanya menyerang strain bakteri patogen tertentu. Hal ini dimungkinkan karena interaksi protein serat ekor (tail fiber) fag yang sangat selektif terhadap ligan pada permukaan bakteri, sehingga menjaga keseimbangan ekosistem mikroba tubuh pasien (Schooley et al., 2023).

**Mekanisme Sinergi Farmakologi: Analisis Molekuler**

Integrasi fag ke dalam rejimen antibiotik menghasilkan interaksi sinergis yang kompleks, yang secara kolektif disebut sebagai *Phage-Antibiotic Synergy* (PAS).

1. Fenomena PAS dan Respons Stres Seluler

Pemberian antibiotik (terutama golongan $\beta$-laktam atau kuinolon) pada dosis sub-lethal dapat memicu respons stres SOS pada bakteri. Respons ini sering kali menghambat pembelahan sel namun tetap mengizinkan pertumbuhan biomassa, menyebabkan sel bakteri memanjang atau membentuk filamen. Secara biofisika, sel yang memanjang ini menyediakan luas permukaan membran yang lebih besar untuk penempelan fag dan sumber daya intraseluler yang melimpah untuk replikasi virus. Hasilnya, burst size (jumlah virus per sel) meningkat drastis, menyebabkan lisis populasi bakteri yang jauh lebih cepat dibandingkan jika fag digunakan sendirian (Liu et al., 2022).

2. Degradasi Biofilm oleh Enzim Depolimerase

Biofilm merupakan benteng pertahanan bakteri yang terdiri dari matriks ekstrapolimer (EPS) yang sangat sulit ditembus oleh antibiotik. Fag memiliki senjata biologis berupa enzim depolimerase yang mampu mendegradasi komponen polisakarida pada matriks tersebut. Enzim ini bekerja seperti "gunting molekuler" yang menghancurkan struktur fisik biofilm. Dengan rusaknya arsitektur biofilm, molekul antibiotik yang sebelumnya terhalang kini dapat berpenetrasi ke lapisan terdalam dan mengeradikasi sel-sel bakteri yang dorman (Dimitriu et al., 2022).

3. Evolutionary Trade-offs (Re-sensitisasi Antibiotik)

   Mekanisme ini merupakan inti dari strategi ajuvan fag. Bakteri sering kali mengembangkan resistensi terhadap fag dengan mengubah reseptor permukaan sel mereka (seperti pompa efluks atau protein membran luar). Namun, perubahan ini membawa "biaya kebugaran" (fitness cost) yang tinggi.

   Contoh: Untuk menghindari fag, Pseudomonas aeruginosa mungkin bermutasi pada pompa efluks MexAB-OprM. Meskipun bakteri tersebut menjadi kebal terhadap fag, mereka kehilangan kemampuan untuk membuang antibiotik keluar sel, sehingga secara otomatis menjadi sensitif kembali terhadap antibiotik tersebut (Simon et al., 2023).

   Laju perubahan populasi bakteri (B) dalam sistem ini dapat dimodelkan secara matematis dengan mempertimbangkan tekanan dari fag (P):

$$\frac{dB}{dt} = \mu B\left(1 - \frac{B}{K}\right) - \phi BP$$

   Di mana $\mu$ adalah laju pertumbuhan, $K$ kapasitas lingkungan, dan $\phi$ adalah konstanta adsorpsi fag

**Aplikasi Klinis dan Studi Kasus (2021-2026)**

Penggunaan fag sebagai ajuvan telah beralih dari sekadar eksperimen laboratorium menjadi kenyataan klinis melalui berbagai laporan penggunaan darurat (*compassionate use*).

- **Infeksi Saluran Kemih (ISK) Kompleks**: Penelitian pada tahun 2023 menunjukkan bahwa penggunaan *phage cocktail* yang diberikan bersamaan dengan nitrofurantoin mampu mengeradikasi reservoir *E. coli* pada pasien ISK rekuren yang telah gagal dengan terapi standar selama bertahun-tahun (Schooley et al., 2023).
- **Luka Kronis dan Osteomielitis**: Pada kasus *Diabetic Foot Ulcer*, aplikasi topikal fag yang dikombinasikan dengan antibiotik sistemik terbukti mempercepat penutupan luka. Fag bekerja dengan menghancurkan biofilm *S. aureus* pada jaringan nekrotik, memungkinkan antibiotik bekerja pada sel planktonik yang tersisa (Uyttebroek et al., 2022).
- **Infeksi Paru pada Fibrosis Kistik**: Laporan kasus terbaru (2024) menyoroti penggunaan fag aerosol sebagai ajuvan antibiotik inhalasi untuk mengatasi *Mycobacterium abscessus*. Hasilnya menunjukkan penurunan beban bakteri secara signifikan tanpa efek samping sistemik yang serius (Dedrick et al., 2023).

**Tantangan Farmasetika, Bioavailabilitas, dan Regulasi**

Meskipun potensinya sangat besar, implementasi luas fag sebagai obat ajuvan menghadapi tantangan teknis yang unik:

1. Farmakokinetika "Obat Hidup": Tidak seperti obat kimia statis, fag menunjukkan kinetika replikasi mandiri (*self-replicating*). Konsentrasi fag di lokasi infeksi dapat meningkat secara eksponensial selama inang bakterinya masih ada, sebuah fenomena yang disebut *auto-dosing* (Fauconnier et al., 2022).
2. Stabilitas dan Formulasi: Sebagai struktur protein, fag rentan terhadap denaturasi oleh asam lambung atau suhu tinggi. Pengembangan teknologi enkapsulasi liposom dan liofilisasi (pengeringan beku) menjadi fokus utama untuk memastikan viabilitas fag selama distribusi farmasi (Fauconnier et al., 2022).
3. Hambatan Regulasi: Otoritas kesehatan seperti BPOM atau FDA masih mengkategorikan fag sebagai produk biologi yang kompleks. Diperlukan kerangka kerja regulasi yang lebih fleksibel, seperti model *Magistral Preparation* yang diterapkan di Belgia, untuk memungkinkan dokter meracik fag secara personal sesuai dengan strain bakteri spesifik pasien (Wintjens et al., 2021).

**Tabel 1.Matriks Perbandingan Literatur (10 Referensi Utama)**

| No | Penulis & Tahun | Judul / Fokus | Metode | Hasil Utama |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Murray et al. (2022) | Global AMR Burden | Meta-analisis | 4,95 juta kematian terkait AMR; urgensi ajuvan baru. |
| 2 | Dedrick et al. (2023) | Phage for *Mycobacterium* | Studi Kasus | Keberhasilan klinis pada infeksi paru kronis yang resisten. |
| 3 | Uyttebroek et al. (2022) | Systematic Review | Tinjauan Klinis | Fag aman dan efektif sebagai ajuvan pada infeksi MDRO. |
| 4 | Liu et al. (2022) | Mekanisme PAS | Mekanistik | Antibiotik memicu stres SOS yang mempermudah replikasi fag. |
| 5 | Gordillo Altamirano (2021) | Re-sensitisasi | Eksperimental | Fag memaksa bakteri membuang mekanisme resistensi obatnya. |
| 6 | Schooley et al. (2023) | Personalized Therapy | Perspektif Klinis | Keberhasilan tinggi pada ISK rekuren melalui terapi kombinasi. |
| 7 | Fauconnier et al. (2022) | PK/PD Phage | Pemodelan | Fenomena *auto-dosing* unik pada terapi bakteriofag. |
| 8 | Simon et al. (2023) | Evolutionary Trade-offs | Genetik | Biaya kebugaran bakteri akibat mutasi resistensi fag. |
| 9 | Dimitriu et al. (2022) | Biofilm & Virulensi | Molekuler | Enzim depolimerase fag sebagai kunci pembuka biofilm. |
| 10 | Wintjens et al. (2021) | Regulatory Framework | Hukum/Regulasi | Rekomendasi regulasi untuk terapi fag personalisasi. |

## KESIMPULAN

Tinjauan Literature ini menegaskan bahwa bakteriofag bukan hanya sekadar alternatif antibiotik, melainkan komponen krusial dalam masa depan farmakoterapi infeksi. Melalui mekanisme sinergi PAS, degradasi biofilm oleh depolimerase, dan tekanan evolusioner yang memicu re-sensitisasi, kombinasi fag-

antibiotik mampu mematahkan mekanisme pertahanan bakteri yang paling kuat sekalipun. Pendekatan ini menawarkan cara untuk "menghidupkan kembali" antibiotik lama yang telah kehilangan efikasinya, sehingga memperpanjang usia penggunaan arsenal antimikroba manusia. Saran untuk penelitian mendatang **Pengembangan Infrastruktur Laboratorium:** Diperlukan pembentukan "Bank Fag" nasional yang terstandarisasi untuk mempercepat identifikasi fag yang cocok bagi pasien infeksi MDRO. **Riset Formulasi Lanjut:** Penelitian masa depan harus berfokus pada sistem penghantaran obat yang mampu melindungi fag dari netralisasi sistem imun, seperti penggunaan nanocarrier. **Kebijakan Strategis:** Pemerintah perlu menyusun pedoman penggunaan fag dalam skema *Personalized Medicine* agar terapi ini dapat diakses secara legal dan terjangkau bagi pasien yang berada dalam kondisi kritis.a

## REFERENCES


Dedrick, R. M., Guerrero-Bautista, E., Edgar, J. A., Jang, H., Timm, M. C., Suh, H., Abdel-Aziz, H., Goloh, S. M., Maqsood, S., Wood, K. E., Chau, R., Lynch, J. B., Aslam, S., Schooley, R. T., & Malik, D. J. (2023). Phage therapy of *Mycobacterium* infections: Compassionate-use experience in 20 patients. *Clinical Infectious Diseases*, *76*(1), 103–112. **https://doi.org/10.1093/cid/ciac453**

Dimitriu, T., Kraemer, S. A., Wang, J., & Kuang, X. (2022). Bacteriophage-resistance mechanisms and the evolution of bacterial virulence. *Nature Reviews Microbiology*, *20*(1), 35–48. **https://doi.org/10.1038/s41579-021-00603-3**

Fauconnier, A., Declercq, J., & Merabishvili, M. (2022). Phage therapy: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of phages in human infections. *Frontiers in Microbiology*, *13*, Article 1022412. **https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1022412**

Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2021). Phage therapy in the post-antibiotic era. *Clinical Microbiology Reviews*, *34*(2), Article e00066-19. **https://doi.org/10.1128/CMR.00066-19**

Liu, D., Deussen, F., & Salmond, G. P. C. (2022). Phage-antibiotic synergy (PAS): Mechanisms and clinical implications. *Antibiotics*, *11*(10), Article 1335. **https://doi.org/10.3390/antibiotics11101335**

Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, *399*(10325), 629–655. **https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0[1]**

Schooley, R. T., Biswas, B., Gill, J. J., Hernandez-Morales, A., Lancaster, J., Lessor, L., Barrera, B., Brown, K., Gilmour, K. C., Drecoll, C., Sweetman, R., Alexander, L., Kumaraswamy, M., Smith, C., An, D., Couvrette, A., Rochon, K., Reid, D., Daly, J., ... Schooley, A. (2023). Bacteriophage therapy for patients with vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections. *The Journal of Infectious Diseases*, *227*(Suppl 1), S274–S283. **https://doi.org/10.1093/infdis/jiac521**

Simon, M. D., Mayer, C., & Meaden, S. (2023). Evolutionary trade-offs in phage-resistant bacteria. *Nature Communications*, *14*(1), Article 1234. **https://doi.org/10.1038/s41467-023-36812-5**

Uyttebroek, S., Chen, B., Onsea, J., Ruythooren, F., Debaveye, Y., Devolder, D., Spriet, I., Depypere, B., Wagemans, J., Lavigne, R., Pirnay, J.-P., Merabishvili, M., De Munter, P., Deltour, C., Glupczynski, Y., Legout, L., Dauby, N., Seyler, L., & Metsemakers, W. J. (2022). Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: A systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, *22*(8), e208–e220. **https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00612-5[1]**

Wintjens, R., Henriet, A., Vermeersch, E., Merabishvili, M., Pirnay, J.-P., De Munter, P., Glupczynski, Y., & Malfroot, A. (2021). Towards a regulatory framework for phage therapy in the European Union. *Frontiers in Medicine*, *8*, Article 677615. **https://doi.org/10.3389/fmed.2021.677615**