

Statusartikel

Ugeskr Læger 2020;182: V01200041

Bakteriofagterapi

Frederik Cold^{1, 2, 3}, Nikoline S. Olsen⁴, Amaru Indigo Miranda S. M. Djurhuus¹ & Lars Hestbjerg Hansen¹

1) Sektion for Mikrobiel Økologi og Bioteknologi, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet, 2) Medicinsk Sektion, Gastroenheden, Hvidovre Hospital, 3) Center for Mave og tarmsygdomme, Aleris-Hamlet Hospitaler København, 4) Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet, Roskilde

Ugeskr Læger 2020;182:V01200041

HOVEDBUDSKABER

- Bakteriofager er virus, der er specifikt rettet mod bakterier.
- Bakteriofagterapi kan anvendes til målrettet bakteriedrab og har stort potentiale i behandlingen af bl.a. multiresistente bakterielle infektioner.
- Udvikling af danske produktionsfaciliteter mangler, før behandlingen kan blive alment tilgængelig.

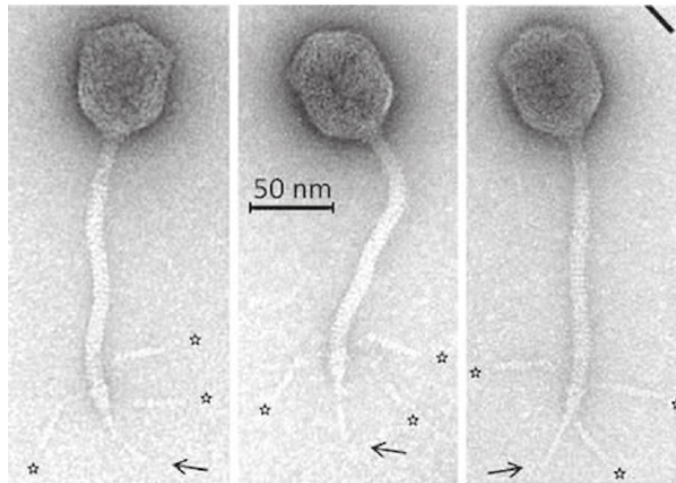
Det menneskelige virom er betegnelsen for det samlede genetiske materiale i alle de forskellige virus, der befinder sig i og på et menneske. Dette består, ud over de virus, der angriber og lever i humane celler, af virus, som udelukkende inficerer bakterier, såkaldte bakteriofager.

På **Figur 1** ses et typisk eksempel på en bakteriofags udseende. I de fleste naturlige bakterielle miljøer forekommer der ca. ti bakteriofager pr. bakterie, et forhold, der snarere er omvendt i det humane tarmsystem [1].

Bakteriofager genkender deres værtsbakterier via specifikke overfladestrukturer på bakterierne. Derfor har de fleste bakteriofager en afgrænset række potentielle bakterielle værter, begrænset til specifikke arter eller endda stammer.

Bakteriofagers »livscyklus« er enten lytisk eller lysogen. Lytiske bakteriofager inficerer værtsbakterier og igangsætter straks produktionen af nye bakteriofagkapsler og kopiering af egne genomer. Når de nye bakteriofagkapsler er samlet og pakket med ét genom, lyseres værtsbakterien for at frigive dem – og bakterien dræbes derved, som vist i **Figur 2**. Temperate bakteriofager har derimod en lysogen livscyklus, hvor de indsætter deres eget genom i værtsgenomet. Dermed kan de blive reproduceret og videregivet enten ved celledeling, eller ved at bakterien lyseres på et respons fra miljøet [2].

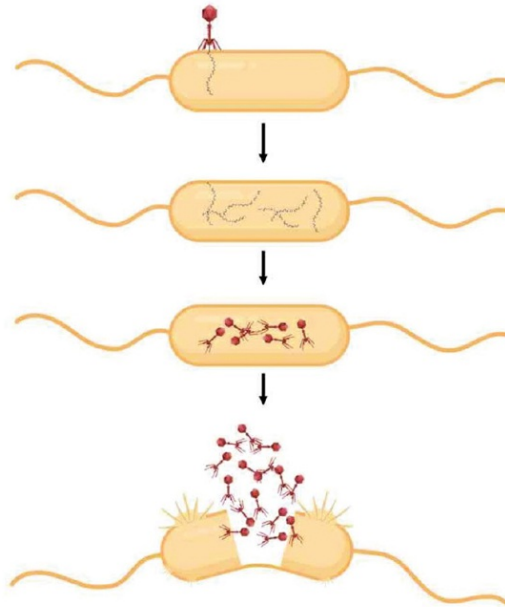
FIGUR 1 / Transmission elektronmikroskopisk-billede af en bakteriofag, CAjan. Der ses hovedet, halen, den bevægelige udløber på halen (pile) og de tre fleksible og bøjelige halefibre (stjerner). Reprinted by permission from Springer Nature, Archives of Virology. Carstens AB, Kot W, Lametsch R et al. Characterisation of a novel enterobacteria phage, CAjan, isolated from rat faeces. Arch Virol 2016;161:2219-26.



Lytiske bakteriofagers evne til at dræbe bakterier, tilmed med høj specificitet, blev anerkendt allerede i 1920'erne for sit potentiale til behandling af bakterielle infektioner (bakteriofagterapi) [3]. Opdagelsen og udbredelsen af antibiotika gjorde dog, at bakteriofagterapi gik i glemmebogen, særligt i Vesten. I flere forhenværende østeuropæiske lande som Georgien, Rusland og Polen fortsattes behandling med bakteriofagterapi, og den anvendes stadig i dag [4].

Det massive forbrug af antibiotika i landbrug og sundhedsvæsen både i Danmark og på verdensplan har medført stigende forekomst af antibiotikaresistens [5]. Bakterier tilegner sig fortløbende resistens og kan dermed udvikle både multiresistens (resistens mod tre typer af antibiotika) og panresistens (resistens mod alle typer af antibiotika) [6]. Dette har medført et voksende behov for alternative behandlingsmetoder såsom bakteriofagterapi.

FIGUR 2 / En lytisk bakteriofag inficerer en bakterie, replicerer sig selv og lyserer derefter bakterien, hvorefter et nyt hold lytiske bakteriofager går på jagt efter nye værtsbakterier.
Created with BioRender.com



BAKTERIOFAGERS BETYDNING FOR SUNDHED OG VED SYGDOM

Et sundt, varieret og nogenlunde stabilt mikrobiom i tarmen har vist sig at være afgørende for helbredet, tydeliggjort ved sammenhængen mellem en lang række sygdomme og et ændret tarmmikrobiom [7, 8]. Det er velkendt, at bakteriofager har en regulerende funktion i bakterielle miljøer i naturen [9], og meget tyder på, at bakteriofager på samme måde påvirker bakterielle samfund i tarmen. Det antages at rovdyr-/byttedyrlignende dynamikker mellem bakterier og bakteriofager genererer og vedligeholder mikrobiel stabilitet og variation [10]. De foreløbigt få publicerede studier herom indikerer en – om end kompleks – sammenhæng mellem tarmviomer og helbred [11].

ERFARINGEN MED BAKTERIOFAGTERAPI I FORSØG MED MENNESKER

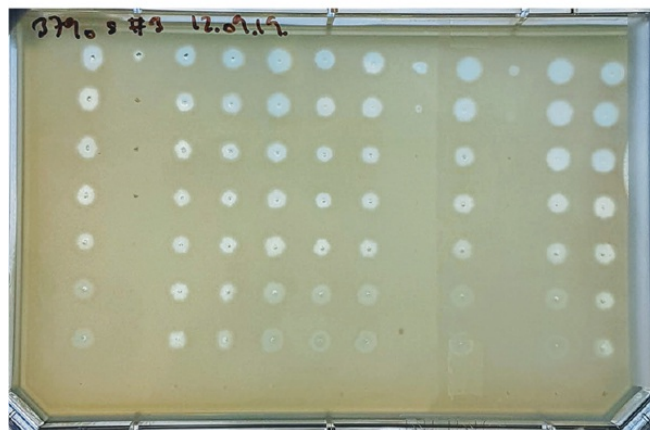
Til bakteriofagterapi anvendes udelukkende lytiske bakteriofager. Dette skyldes risiko for overførsel af potentielle virulens gener imellem bakterier via temperate bakteriofager, der f.eks. menes at have betydning ved udvikling af antibiotikaresistens [12]. Behandlingen med bakteriofager kan gives såvel lokalt, peroralt, intravenøst som via forstøver.

Der er overordnet set to forskellige måder at udføre bakteriofagterapi på. Ved den første metode anvendes bakteriofager fra et allerede eksisterende bakteriofagbibliotek, hvor stammer mod kendte virulente bakterier er fremdyrket og opbevaret. Disse vil hurtigt kunne anvendes til

behandling [13]. Ofte anvendes de i en såkaldt bakteriofagcocktail, som består af flere typer bakteriofager med kendt effekt mod virulente bakteriestammer såsom ved infektioner med multiresistente bakterier.

Den anden metode er fremstilling af bakteriofager, der er virksomme mod en specifik sygdomsfremkaldende bakterie ud fra et klinisk isolat, hvilket der kan ses et eksempel på i **Figur 3**. Dette kan gøres ved at tilsætte den sygdomsfremkaldende bakterie til f.eks. spildevandsprøver, hvorfra bakteriofager med aktivitet mod den specifikke bakterie kan fremdyrkes og oprenses [14]. Dette tager 2-3 uger.

FIGUR 3 / Screening af bakteriofagbibliotek mod klinisk isolat fra et syvårigt barn med behandlingsrefraktær osteomyelitis fra Australien udløst af multiresistent *Pseudomonas aeruginosa*. Forskere fra forfattergruppen fra Københavns Universitet (LHH) og Aarhus Universitet (NO) har været en del af en international gruppe, der producerede og tilsendte virksomme bakteriofager, der indtil videre har afholdt patienten fra planlagt amputation (data endnu ikke publiceret). De lyse områder indikerer lysering af bakteriekultur. Hver kolonne er en individuel bakteriofag i tifoldsfortynding nedad.



Specifikke bakteriofager, som er målrettet patienternes bakteriestammer er for nylig anvendt flere steder i behandlingen af infektioner med multiresistente bakterier, hvor andre behandlingsmuligheder har vist sig at være utilstrækkelige [15, 16]. F.eks. er multiresistente bakterielle lungeinfektioner med *Pseudomonas aeruginosa* og *Burkholderia dolosa* hos tre lungetransplanterede patienter blevet behandlet med bakteriofagterapi som supplement til antibiotika, og der har været god effekt i form af klinisk fremgang, bakteriedrab og aftagende antibiotikaresistens hos de tilbageværende bakterier [17].

Bakterier kan løbende udvikle resistens mod bakteriofagprodukter akkurat som mod antibiotika. En konsekvens af bakteriel resistens mod bakteriofager kan være aftagende resistens mod antibiotika, hvilket har vist sig som en gavnlig sideeffekt. Da bakteriofagterapi til patienter med alvorlige bakterielle infektioner af oplagte etiske årsager oftest vil gives sammen med antibiotika, kan der altså i en del tilfælde håbes på en synergetisk effekt [18].

Der er kun publiceret resultater fra meget få placebokontrollerede studier med anvendelse af bakteriofagterapi. I disse studier har man udelukkende anvendt prækksisterende bakteriofagprodukter og har primært fokuseret på sikkerhed. I de få studier, der er publiceret kliniske data fra, har behandlingen overvejende haft sparsom effekt. Dette er af forfatterne bl.a. tolket som værende udløst af manglende forundersøgelse af effekten af de anvendte bakteriofager på patienternes specifikke sygdomsfremkaldende bakterier in vitro inden behandling og for lav dosering [4, 19]. Der er ikke observeret bivirkninger ved behandlingerne [13], hvilket også stemmer overens med resultater fra dyreforsøg. Her har bakteriofagterapi mod både multiresistente og virulente bakterier vist lovende resultater i form af øget overlevelse og infektionskontrol uden tegn på bivirkninger [20].

BAKTERIOFAGERS BETYDNING VED ANDRE BEHANDLINGER

Fækal mikrobiotatransplantation (FMT) er etableret som en meget effektiv behandling af *Clostridium difficile*-infektion (CDI) [21]. Ved FMT overføres ud over bakterier og andre mikroorganismer det fækale virom. Patienter med CDI har færre forskellige bakteriofager end raske personer. Ved FMT ses dette at ændres hos patienter, hvor behandlingen har gavnlig effekt [22]. Ved at filtrere for større mikroorganismer såsom bakterier har en tysk forskergruppe vist, at overførsel af det tilbageværende sterile fækale filtrat også er effektivt til behandling af CDI-infektion [23], hvilket tyder på, at effekten er udløst af bakteriofager. Dyreforsøg med overførsel af hele fækale viromer fra raske donorer har vist sig at kunne påvirke modtageren med gavnlig klinisk effekt på bl.a. glukosemetabolismen [24].

HJÆLP TIL BEHANDLING I DANMARK

Der foreligger ingen internationale retningslinjer for, hvordan bakteriofagterapi skal anvendes og reguleres på nuværende tidspunkt [25]. Der er dog konsensus om, at bakteriofagprodukter er defineret som lægemidler. I USA har Food and Drug Administration tilladt, at der kan søges om tilladelse til behandling i hvert enkelt tilfælde ved ansøgning som emergency investigational new drug [17]. Derudover er det også tilladt at anvende præfabrikerede registrerede bakteriofagprodukter til kliniske forsøg. Der er for nuværende ikke europæiske regler for bakteriofagterapi og produktion specifikt målrettet denne, men det europæiske medicinalagentur, EMA, har i en hensigtserklæring fra 2015 anbefalet, at der ud fra den gældende europæiske lægemiddellovgivning laves yderligere forskning [26].

I Belgien, som er et af de lande, der er førende inden for bakteriofagterapi, er behandlingen reguleret således, at en kliniker kan ansøge om udskrivning af magistrelt fremstillede bakteriofager specifikt fremstillet mod en sygdomsfremkaldende bakteriestamme, og bakteriofagerne produceres efterfølgende i laboratorier, som er godkendt til dette formål [27]. På nuværende tidspunkt findes der i Danmark ikke laboratorier, som er godkendt til hele processen

med produktion af bakteriofager til behandling. Den eneste mulighed, danske klinikere i øjeblikket har for at tilbyde danske patienter bakteriofagterapi, er derfor at få et godkendt laboratorium i udlandet til at producere bakteriofager ud fra et specifikt tilsendt isolat. Det kræves, at Lægemiddelstyrelsen godkender behandlingen, og at patienten er blevet undersøgt eller behandlet på en sygehusafdeling, der har den højeste specialkundskab inden for den konkrete sygdom [28].

DISKUSSION

Bakteriofagterapi vurderes at have potentiale til at kunne blive en vigtig del af behandlingen af multiresistente bakterielle infektioner [4]. Den store fordel ved denne terapi er den løbende mutation af bakteriofager, hvorfor der vil kunne fremstilles bakteriofager mod en given resistent bakteriestamme [14]. Også andre sygdomme end infektionssygdomme, der er forårsaget af bestemte bakteriestammer, vil potentielt kunne behandles med bakteriofagterapi. I et nyligt publiceret studie i *Nature* gennemgås bl.a., hvordan endolysinproducerende *Enterococcus faecalis* er forbundet med meget forringet prognose hos patienter med alkoholisk hepatitis, og hvordan bakteriofagterapi potentielt vil kunne bruges i behandlingen af disse patienter [29].

På trods af lovende resultater mangler der dog meget, før effekten af bakteriofagterapi kan fastslås med sikkerhed. Især er der behov for en langt bedre forståelse af dosis, behandlingsvarighed, sikkerhed og behandlingsrespons [30]. Især må resultater fra randomiserede kliniske forsøg afventes, på trods af at disse kan være vanskelige at udføre ved en så kompleks behandlingsform, som personaliseret bakteriofagterapi, hvor behandlingen bør være forudgået af in vitro-test af bakteriofagernes effekt. Den fremtidige anvendelse af bakteriofagterapi kommer også i høj grad til at afhænge af, hvordan terapien reguleres. Præfabrikerede bakteriofagprodukter må forventes at miste effekt pga. udvikling af resistens, hvorfor det er vanskeligt at se en forretningsmodel for medicinalvirksomheder.

Bakteriofager fremstillet specifikt mod enkelte patienters sygdomsfremkaldende bakterier har stort potentiale i kampen mod multiresistente bakterier. Dog er det meget vanskeligt at se en forretningsmodel også for denne terapi. Muligheden for at tilbyde patienterne denne behandling afhænger derfor af, hvordan bakteriofagproduktion og -behandling reguleres [25]. Hvis denne proces gøres for kompleks og omkostningstung, er der en risiko for, at patienterne ikke vil kunne tilbydes denne potentielt livreddende behandling. Der forestår derfor de danske og europæiske sundhedsmyndigheder en stor opgave med at adressere denne problemstilling i samarbejde med klinikere. Den belgiske model, hvor bakteriofager produceres som magistrelt produkt mod en kompensation til det fremstillende laboratorium, vurderes at være en mulig løsning på en del af disse problemstillinger [27]. Hvis der på et tidspunkt er et dansk laboratorium, der kan producere og er godkendt til at fremstille bakteriespecifikke bakteriofagprodukter, vil disse forventeligt kunne udskrives som magistrelt fremstillede lægemidler ligesom i Belgien.

KONKLUSION

Bakteriofagterapi kan potentielt blive en vigtig del af behandlingen af multiresistente bakterielle infektioner. Der er inden for de seneste år publiceret lovende resultater af bakteriofagterapi i behandlingen af kritisk syge patienter. Der mangler dog både forskning og udvikling af danske produktionsfaciliteter, før behandlingen kan blive tilgængelig i større skala i Danmark. Derudover vil regulering og honorering af behandling også være afgørende for, hvor udbredt behandlingen vil blive. Det er meget vanskeligt at se en rentabel økonomisk model for denne komplekse behandlingsform.

KORRESPONDANCE: *Lars Hestbjerg Hansen*. E-mail: lhha@plen.ku.dk

ANTAGET: 5. maj 2020

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 29. juni 2020

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

TAKSIGELSER: *Christian Emdal Graabech Sørensen* takkes for gennemlæsning af artiklen og faglig sparring. *Ulla Holm* takkes for kontrol af sprog og tegnsætning samt gennemlæsning ved en ikkefagperson. Lægemiddelstyrelsen og Sundhedsstyrelsen takkes for assistance i form af korrekt vejledning om lovgivning af bakteriofagterapi. *Søren Cold* takkes for gennemlæsning og faglig sparring

LITTERATUR: Findes i artiklen på Ugeskriftet.dk

SUMMARY

Bacteriophage therapy

Frederik Cold, Nikoline S. Olsen, Amaru Indigo Miranda S. M. Djurhuus & Lars Hestbjerg Hansen
Ugeskr Læger 2020;182:V01200041

Bacteriophages are viruses, which exclusively infect bacteria. Bacteriophage therapy has a great potential in the treatment of pan- or multidrug resistant bacterial infections as argued in this review, and promising results have been published within recent years. The effects of the treatment are, however, still not fully understood and remain to be clarified. Furthermore, the facilities to produce legally approved bacteriophage products for human treatment must be available before the treatment becomes available to Danish patients.

LITTERATUR

1. Sausset R, Petit MA, Gaboriau-Routhiau V et al. New insights into intestinal phages. *Mucosal Immunol* 2020;13:205-15.
2. Sutton TDS, Hill C. Gut bacteriophage: current understanding and challenges. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;10:784.

3. Myelnikov D. An alternative cure: the adoption and survival of bacteriophage therapy in the USSR, 1922-1955. *J Hist Med Allied Sci* 2018;73:385-411.
4. Kwiatek M, Parasion S, Nakonieczna A. Therapeutic bacteriophages as a rescue treatment for drug-resistant infections - an in vivo studies overview. *J Appl Microbiol* 2019;128:982-1002.
5. Watkins RR, Bonomo RA. Overview: global and local impact of antibiotic resistance. *Infect Dis Clin North Am* 2016;30:313-22.
6. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:268-81.
7. Cryan JF, O'Riordan KJ, Sandhu K et al. The gut microbiome in neurological disorders. *Lancet Neurol* 2020;19:179-94.
8. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 2020;145:16-27.
9. Breitbart M, Bonnain C, Malki K et al. Phage puppet masters of the marine microbial realm. *Nat Microbiol* 2018;3:754-66.
10. De Sordi L, Lourenco M, Debarbieux L. "I will survive": A tale of bacteriophage-bacteria coevolution in the gut. *Gut Microbes* 2019;10:92-9.
11. Fernandes MA, Verstraete SG, Phan TG et al. Enteric virome and bacterial microbiota in children with ulcerative colitis and crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019;68:30-6.
12. Torres-Barcelo C. The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria. *Emerg Microbes Infect* 2018;7:168.
13. Petrovic Fabijan A, Lin RCY, Ho J et al. Safety of bacteriophage therapy in severe *Staphylococcus aureus* infection. *Nat Microbiol* 2020;5:465-72.
14. Cui Z, Guo X, Feng T et al. Exploring the whole standard operating procedure for phage therapy in clinical practice. *J Transl Med* 2019;17:373.
15. Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med* 2019;25:730-3.
16. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61:e02221-18.
17. Aslam S, Courtwright AM, Koval C et al. Early clinical experience of bacteriophage therapy in 3 lung transplant recipients. *Am J Transplant* 2019;19:2631-9.
18. Kim M, Jo Y, Hwang YJ et al. Phage-antibiotic synergy via delayed lysis. *Appl Environ Microbiol* 2018;84:02085-18.
19. Jault P, Leclerc T, Jennes S et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 2019;19:35-45.
20. Caflisch KM, Suh GA, Patel R. Biological challenges of phage therapy and proposed solutions: a literature review. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2019;17:1011-41.
21. Hvas CL, Jorgensen SMD, Jorgensen SP et al. Fecal microbiota transplantation is superior to fidaxomicin for treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2019;156:1324-32.e3.
22. Zuo T, Wong SH, Lam K et al. Bacteriophage transfer during faecal microbiota transplantation in *Clostridium*

- difficile infection is associated with treatment outcome. *Gut* 2018;67:634-43.
23. Ott SJ, Waetzig GH, Rehman A et al. Efficacy of sterile fecal filtrate transfer for treating patients with *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2017;152:799-811.e7.
 24. Rasmussen TS, Mentzel CMJ, Kot W et al. Faecal virome transplantation decreases symptoms of type 2 diabetes and obesity in a murine model. *Gut* 12. mar 2020 (e-pub ahead of print).
 25. Fauconnier A. Phage therapy regulation: from night to dawn. *Viruses* 2019;11:E352.
 26. European Medicines Agency. Workshop on the therapeutic use of bacteriophages 2015. <https://www.ema.europa.eu/en/events/workshop-therapeutic-use-bacteriophages> (15. jan 2020).
 27. Pirnay JP, Verbeken G, Ceysens PJ et al. The magistral phage. *Viruses* 2018;10:E64.
 28. Sundhedsstyrelsen. Behandling i udlandet 2019. <https://www.sst.dk/da/opgaver/patientforloeb-og-kvalitet/rettigheder/behandling-i-udlandet> (15. jan 2020).
 29. Duan Y, Llorente C, Lang S et al. Bacteriophage targeting of gut bacterium attenuates alcoholic liver disease. *Nature* 2019;575:505-11.
 30. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. *Ups J Med Sci* 2019;124:218-27. Litteratur