

Fagterapi kan vara räddningen när antibiotika inte längre fungerar



GUNNAR O KLEIN, med dr, forskare, institutionen för mikrobiologi, tumör- och cellbiologi, Karolinska institutet, och

AT-läkare, Karolinska universitetssjukhuset, Solna
gunnar.klein@ki.se

Antibiotika har varit och är ett av våra viktigaste terapeutiska framsteg sedan tiden efter andra världskriget. De har kraftigt reducerat mortaliteten i många olika typer av infektioner och har sin största betydelse för de patienter som har olika faktorer som gör dem extra känsliga för bakterier som finns mycket vitt spridda, tex patienter med traumatiska skador eller behov av kirurgi av andra skäl och där allvarliga infektioner är en oundviklig risk. Men kanske ännu viktigare är alla de som med övrig intensiv terapi kan räddas till ett hyggligt liv men som har nedsatt immunförsvar, där tex barn med cancer eller vuxna som fått ett nytt liv med en transplantation i många fall blir chanslösa om vi inte kan behandla de allvarliga infektioner som relativt regelmässigt uppkommer.

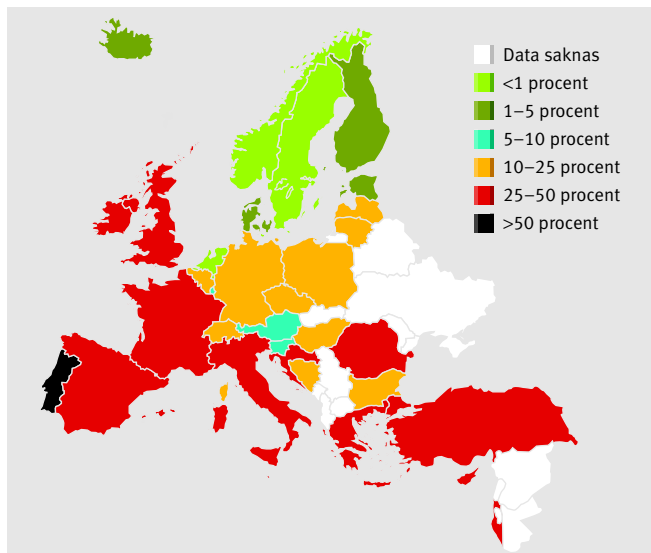
Situationen är hotfull

Tyvärr har utbredd antibiotikaanvändning globalt, också när det inte varit oundgängligt, bidragit till allt större problem med resistens. Det gäller inte bara mot ett visst antibiotikum, utan multiresistens är ett reellt hot. Vi har visserligen varit relativt skyddade i Sverige, men vi har också problem med tex vankomycinresistenta enterokocker (VRE) och meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) även om problemen än så länge är av betydligt lägre grad än i många andra länder. I en stor del av Europa är 25–50 procent av de så vanliga stafylokockinfektionerna orsakade av MRSA [1], som är okänsliga mot betalaktamantibiotika (Figur 1).

Det finns få nya antibiotikatyper att tas i bruk, och i en globaliserad värld är det sannolikt att de stora problemen med resistens snabbt sprider sig till länder som ännu är relativt förskonade. Samverkansorganet Strama gör visserligen mycket för att förhindra irrationell användning, och under Sveriges ordförandeskap i EU kommer frågan om antibiotikaresistens att uppmärksammas på olika sätt. Men det är sannolikt att det kommer att behövas helt nya grepp som alternativ eller i kombination med traditionella antibiotika.

Bakteriofager – en gammal upptäckt

Bakteriofager är i naturen vitt spridda virus som specialiserar sig på olika bakterier. De upptäcktes parallellt av Frederick



Figur 1. Andel MRSA i Europa 2008 enligt the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS).



Figur 2. Félix d'Hérelle.

Twort [2] 1915 och Félix d'Hérelle [3] 1917 (Figur 2). Det var framför allt den senare som kom att få stor betydelse. d'Hérelle fick redan 1919 idén att använda dessa virus för behandling av människor och gjorde de första försöken på dysenteri (orsakad av *Shigella*-bakterier). Han var verksam på Pasteurinstitutet i Paris och fann att bakteriefria filtrat från fecesprov kunde lysa bakteriekulturer in vitro och föreslog namnet bakteriofag, som stannat kvar. Fenomenet möttes dock med skepticism, bla från Nobelpristagaren Jules Bordet.

Det var först med elektronmikroskopet som man 1937 kunde visa hur dessa viruspartiklar som »äter« bakterier såg ut, och det är tack vare modern genetik som man förstår hur dessa fungerar (Figur 3).

Fagera är i allmänhet mycket artspecifika, ofta till och med stamspecifika, och i rutinsjukvården har de främst använts vid typning av olika bakterier på mikrobiologiska laboratorier. Terapiförsöken har i västerländsk medicin i stort sett

SAMMANFATTAT

Resistens mot antibiotika

Resistens mot antibiotika blir snabbt ett allt större problem även om vi hittills i Sverige varit relativt förskonade jämfört med många andra länder.

Det finns ett alternativ, alltför länge nästan bortglömt, som är värt mycket större uppmärksamhet och nya prövningar.

Det är att använda bakterio-

fager, virus som oftast mycket specifikt och effektivt kan lysa många av våra besvärligaste patogena bakterier.

Terapeutiska effekter har påvisats i ett antal olika situationer ända sedan metoden först lanserades av fransmannen Félix d'Hérelle 1920, långt före sulfan och penicilinet.

varit bortglömda till helt nyligen, medan fagera fått mycket stor uppmärksamhet sedan början av 1970-talet som en metod i modern genteknik, där man särskilt använt lambdafagen för att föra in främmande DNA i *E. coli*. Dessa fager tillhör den lilla minoritet av kanske 5 procent som har förmåga att förutom orsaka lys kunna integreras med värdbakteriens genom och låta det rekombinanta genom replikeras. De flesta fager dödar sin värdbakterie snabbt och effektivt inom någon timme men har dessförinnan fått denna att producera massvis med nya fagpartiklar som kan infektera andra bakterier. Det finns över 2000 olika kända fager med olika morfologi och nukleinsyra; de flesta är DNA-virus. För exempel på olika fagers morfologi i några olika värdar, se Figur 4.

Fager är mycket specifika

Bakteriofagera är mycket specifika för sin bakterievärd via två huvudmekanismer. Framför allt använder de speciella strukturer på bakteriens yta för att häfta fast innan de injicerar sitt innehåll av nukleinsyra. Men liksom är fallet när det gäller antikroppsmedierad immunitet kan dessa ytstrukturer variera. Eftersom fagera är levande, med mutationer och snabb replikation, kommer de ofta att kunna hänga med och skapa nya varianter som passar förändrade bakterier utan hjälp utifrån [4]. Men detta är förstås en källa till möjliga be- gränsningar i fagterapiens effektivitet.

Den andra mekanismen för specificiteten gäller de moleky- ler som fagens genom kodar för (förutom att göra en kopia av sig själv) och som orsakar specifik lys av bakterien. Dessa molekyler är generellt något mindre specifika och kan i vissa fall orsaka lys av flera besläktade arter. I vissa nya experiment har man renframställt sådana proteiner från fager, s k lysiner, och prövat dem som en sorts antibiotika utan att tillföra levande fager till den (eller de försöksdjur) som ska behandlas [5, 6].

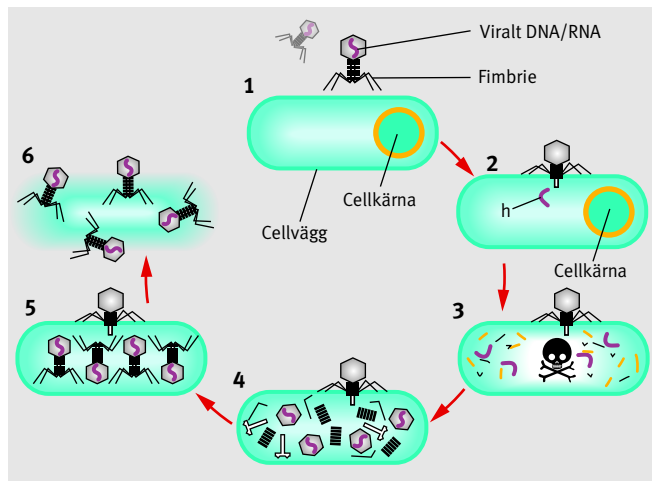
Denna brist på specificitet när det gäller lysiner, som ofta också verkar extracellulärt och angriper bakterierna från ut- sidan, gör att man kan tänka sig att i terapeutiskt syfte ge en fag som har ytstrukturer som är specifika för en naturligt förekommande bakterie, t ex i tarmens normalflora, där dessa fager kan replikera och producera lysin som också kan döda andra patogena arter.

I allmänhet är den stora specificiteten ett positivt fenomen, eftersom man undviker att påverka de många arter i normal- flora som man med traditionell antibiotikabehandling ska- dar. Inte minst gäller detta de potenta bredspektrumantibio- tika, som ofta används vid allvarligare infektioner och alltför ofta även vid trivialare sådana, då man i vissa fall ställer till större skada med denna rubning av normalfloran än vad den ursprungliga infektionen orsakade. Det gäller t ex när man får allvarliga koliter med *Clostridium difficile*.

En specifik behandling med en riktad fag kräver dock att man säkert vet vilken bakterie som orsakar infektionen. Det är ofta inte fallet initialt, men det finns också många kliniskt viktiga situationer då det finns en verifierad bakterieodling som kanske också visat utbredd resistens mot våra vanliga ke- miska antibakteriella medel. I vissa försök med fagterapi har man använt en cocktail av blandade fager som kan tänkas vara aktiva mot infektionen. Principen med flera olika fager används också när man mycket väl vet vilken art man vill be- handla, men då för att minska risken för resistensutveckling.

Fagterapi har prövats framför allt i Sovjetunionen

Félix d'Hérelle [7], som var den förste som publicerade försök med fagterapi med viss framgång, fann en vän och efterföljare i George Eliava [8], vilken efter studier i Paris var virolog i Tbi- lisi, Georgien, då en del av Sovjetunionen. Där grundade man



Figur 3. En bakteriofags livscykel. Fagen fäster på en specifik värd- bakterie (1), injicerar sitt DNA, eller i vissa fall RNA (2). Den skadar bakteriens eget maskineri (3), ställer om DNA- och proteinsyntes så att delar av nya fagpartiklar bildas (4). Nya fagpartiklar sätts samman, och ofta produceras specifika gifter för bakterien (5). Bakterien lyseras, och hundra nya kopior kommer ut och kan infektera andra bakterier (6). Grafiken efter R Henretta GangaGen, Bangalore, Indien.

ett institut 1923 med under 1930-talet 350 anställda som fors- kade och producerade fager för terapi. Stalin stödde detta ini- tiativ personligen och gav alla nödvändiga resurser så att man kunde anskaffa utrustning från Frankrike. Tyvärr föll Eliava redan 1937 offer för en intrig, där Beria, chefen för säkerhets- tjänsten NKVD, lät mörda honom, eftersom en kvinna han uppvaktade hade känslor för Eliava.

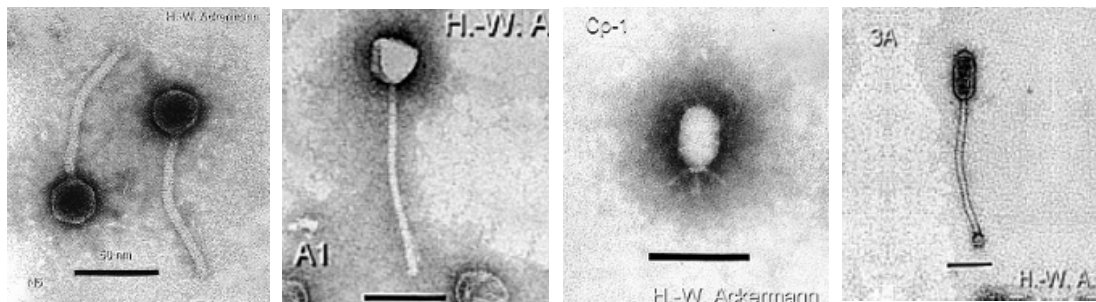
Skrämd och upprörd av detta for d'Hérelle hem till Frankri- ke men saknade resurser för att fortsätta forskningen. Vad han varit med om att starta i Georgien har dock fortsatt och överlevt till våra dagar, om än i blygsammare och försvagade former. I olika delar av Sovjetunionen och också i östeuropeis- ka länder som Polen [9] och Tjeckien har man alltså fortsatt att använda fager för en rad olika tillstånd. Dessa resultat har publicerats framför allt på olika östspråk och i stor utsträck- ning varit okända i väst, till relativt nyligen. En initierad över- siktsartikel tar upp erfarenheterna från Sovjetunionen [10].

Renässansen i väst för fagterapi, fortfarande mycket rudi- mentär, kom under 1980-talet med en rad veterinärmedicins- ka arbeten [11]. Under perioden från år 2000 har intresset återuppväckts inom västerländsk medicin med ett antal seri- ösa översiktsartiklar [12-14].

En rad olika bakterieinfektioner har testats

d'Hérelle började som sagt med shigellos. Senare har en rad andra tarmbakterier som *Vibrio cholerae*, *Salmonella*-species och *E. coli* behandlats hos människa. På senare år har stor uppmärksamhet riktats mot sådana patogener där traditio- nella antibiotika möter speciella problem. Det gäller t ex *Staph aureus*, inklusive resistenta MRSA, där man behandlat sårin- fektioner, också hos diabetiker, vid endokarditer och andra septikemier [15]. Man har även testat fager mot VRE och *Pseu- domonas*. En modern engelsk fas II-studie av fagterapi vid kroniska otiter med resistenta *Pseudomonas* har rapporte- rats.

Resistenta bakterier utgör ju stora terapeutiska problem re- dan nu, och ökad uppmärksamhet och utprövning synes väl motiverad. Även barn har behandlats, också med intravenös



Figur 4. Olika fagers morfologi i olika värdar. Från vänster: *Micrococcus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* och *Staphylococcus aureus*.

fagterapi, och polska läkare anser att denna behandlingsform bör utvidgas [16].

Olika metoder för fagterapi

I många studier har man givit fager oralt under perioder som kan sträcka sig över många veckor, t ex vid osteomyelit, vilket rapporterats nyligen från Polen [17]. Man får då inte glömma att samtidigt ge antacida för att neutralisera magsyran, som annars kan döda fager. Kanske kan moderna proteinpumpshämmare (PPI), som omeprazol, vara minst lika bra?

Det finns också studier med intravenös behandling, till och med när man haft relativt dåligt renade preparationer, där det funnits viss risk för reaktioner mot rester av döda bakterier som följt med. Det finns dock inga rapporter om någon allvarlig biverkan trots tusentals patienter som behandlats systemiskt. I vissa djurexperimentella studier har man givit injektioner intraperitonealt, där man också inokulerat patogener som annars givit 100 procents mortalitet och visat spektakulära resultat.

Slutligen har man prövat olika former av lokalbehandling med kompresser på infekterade sår och ibland sprutat fager djupt in i sår på infekterade fötter. Under andra världskriget var en del av Röda arméns förband utrustade med spray med fager mot stafylokokker, streptokocker och anaeroba bakterier, som användes mot krigsskador med gasangrän. I en studie med 767 fall av gasangrän behandlade med fager avled 18,8 procent mot 42,2 procent i kontrollgruppen. I en annan studie användes fager som profylax vid skador. Man fann att av 2 500 soldater behandlade med fager utvecklade endast 1,4 procent gasangrän mot 4,3 procent i en kontrollgrupp av 7 918 skadade [10].

Det finns flera nya forskargrupper som börjat arbeta med fagterapi lokalt. Ett av de mer intressanta områdena gäller behandling av brännskador, där både *Pseudomonas* och stafylokokker är alltför vanliga problem. En grupp med stöd från det belgiska försvaret har i samarbete med flera universitet i Belgien startat en modern produktion enligt god tillverkningsstandard (GMP), som möter europeiska krav, av en kombination av tre fager, som sedan 2007 prövas i brännskadevården [18].

Fager som desinfektion

Fager, t ex specifika för MRSA, har också använts som desinfektionsmedel både för handtvätt och för att dekontaminera patienthud och ytor [19]. Det finns åtminstone en fallbeskrivning från Prag, där en person som arbetade i vården och blev MRSA-bärare sägs ha blivit permanent befriad från sitt bärarskap efter behandling med fager.

Inom veterinärmedicinen har man behandlat relativt friska men smittbärande kycklingar med fager mot *Campylobacter*. Detta har skett i USA. I detta land med starka krav på säkerhet från Food and Drug Administration (FDA) har man även fått tillstånd att använda fager i slakterier för att reducera risken för *Listeria*-infektioner [20].

Enzymer från fager

Vincent Fischetti har beskrivit en strategi för att angripa kolonisering av friska individer med patogena bakterier som *Staph aureus*, *Streptococcus pyogenes* och *pneumoniae* för att minska risken för framtida infektionsproblem. Han har i en serie djurförsök visat hur man effektivt kan behandla dessa grampositiva bakterier med rekombinant framställda lytiska enzymer (lysiner) [6]. Dessa lysiner är förmodligen enklare att få registrerade som läkemedel än levande virus, men försök på människor har ännu inte startat, och nackdelen är att de kan vara svåradministrerade, som alla proteiner.

Diskussion

Fager i terapeutiskt syfte erbjuder teoretiskt många intressanta möjligheter, som vi nu bör allvarligt pröva när traditionella antibiotika hotar att svika i viktiga avseenden. Troligen av ganska godtyckliga skäl har vi i Västeuropa och USA alltför länge ignorerat att seriöst pröva denna princip, som nu firar 90 år. Samtidigt har man, inte minst utgående från Tblisi men också i andra östländer, under lång tid skaffat mycket intressanta erfarenheter av fagterapi. Det saknas i stort sett åtminstone engelskspråkiga rapporter om invändningsfria moderna studier om fagterapi. Det är därför av stor vikt att vi kan få i gång en seriös och långsiktig prövning av dessa principer, gärna i internationellt samarbete. Kanske kan aktiviteterna under andra halvan av 2009, när antibiotikaresistens kommer att uppmärksammas inom EU, vara en språngbräda.

Det är flera olika frågor som måste studeras, och det är viktigt att vi inte ger upp denna lovande princip även om några initiala studier inte skulle vara så lovande som man kanske kan hoppas. Det gäller att bli studera på vilka indikationer det finns anledning att pröva fagterapi. Det förefaller klokt att i första hand pröva dem där antibiotika fallerat, som för MRSA och VRE.

Lokalbehandling av olika typer av sårinfektioner är förmodligen en god start, där det är lättare att få provningstillstånd även om systemisk behandling är ett intressant alternativ vid en del allvarliga infektioner. Med modern biologi har vi helt andra möjligheter att förändra fager på ett intelligent sätt för att uppnå önskade syften än vad pionjärerna som arbetade med naturligt förekommande fager hade. Man kan också garantera säkerheten på ett betydligt bättre sätt. Kanske kan fager så småningom användas också för de mer triviala men mycket vanliga luftvägsinfektionerna i stället för antibiotika. Kanske kan de komma att få en plats vid tarminfektioner och urinvägsinfektioner?

Även om fagterapi framför allt presenterats som ett alternativ till antibiotika kan man naturligtvis också tänka sig situationer där man kombinerar dessa, inte minst vid infektioner med okända agens eller där man kan visa en synergi. Som med all annan behandling är det också viktigt att pröva ut optimal dos, administrationssätt och längd på behandlingen. Ett initi-

alt hinder är förstås att övertygande visa att det är en ofarlig behandling. Hittillsvarande rapporter antyder det, men det finns naturligtvis potentiella risker med detta som med annan terapi. En speciell faktor är att genetiskt modifierade organismer skulle komma ut i den allmänna miljön, vilket säkert skulle skrämna en del.

Men kan vi verkligen låta bli att ge fagera en ärlig chans?

REFERENSER

1. European Antibiotic Resistance Surveillance System [Cited 2009-04-20]. <http://www.rivm.nl/earsr/result/>
2. Twort FW. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet*. 1915;186:1241-3.
3. d'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *C R Acad Sci (Paris)*. 1917;165:373-5.
4. Montag D, Riede I, Eschbach ML, Degen M, Henning U. Receptor-recognizing proteins of T-even type bacteriophages. Constant and hypervariable regions and an unusual case of evolution. *J Mol Biol*. 1987;196:165-74.
5. Jado I, Lopez R, Garcia E, Fenoll A, Casal J, Garcia P. Phage lytic enzymes as therapy for antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* infection in a murine sepsis model. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:967-73.
6. Fischetti VA. Bacteriophage lysins as effective antibacterials. *Curr Opin Microbiol*. 2008;11:393-400.
7. Summers WC. Félix d'Herelle and the origins of molecular biology. New Haven: Yale University Press; 1999.
8. Chanishvili N. Biography of George Eliava and the history of the Eliava Institute [Cited 2009-04-20]. <http://samegrelo.geguchadze.com/G.Eliava.php>
9. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1987;35:569-83.
10. Chanishvili N, Chanishvili T, Tediashvili M, Barrow PA. Phages and their application against drug-resistant bacteria. *J Chem Technol Biotechnol*. 2001;76:689-99.
11. Smith HW, Huggins MB. Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. *J Gen Microbiol*. 1982;128:2-18.
12. Stone R. Stalin's forgotten cure. *Science*. 2002;282:728-31.
13. Kropinsky AM. Phage therapy - everything old is new again. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2006; 17(5): 297-306.
14. Deresinski S. Bacteriophage therapy: exploiting smaller fleas. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1096-101.
15. Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A. Bacteriophages as an efficient therapy for antibiotic-resistant septicemia in man. *Transplant Proc*. 2003;35:1385-6.
16. Fortuna W, Miedzybrodzki R, Weber-Dabrowska B, Górski A. Bacteriophage therapy in children: facts and prospects. *Med Sci Monit*. 2008;14(8):RA126-32.
17. Weber-Dabrowska B, Mulczyk M, Gorski A. Bacteriophage therapy of bacterial infections: An update of our institute's experience. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2000; 48:547-51.
18. Merabishvili M, Pimay JP, Verbeken G, Chanishvili N, Tediashvili M, Lashkhi N, et al. Quality-controlled small scale production of a well defined bacteriophage culture for use in human clinical trials. *PLoS One*. 2009;4(3):e4944:1-16.
19. O'Flaherty S, Ross RP, Meaney W, Fitzgerald GF, Elbreki MF, Coffey A. Potential of the polyvalent anti-*Staphylococcus* bacteriophage K for control of antibiotic-resistant *Staphylococci* from hospitals. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(4): 1836-42.
20. Leverenz B, Conway WS, Camp MJ, Janisiewicz WJ, Abduladze T, Yang M, et al. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69: 4519-26.

Kanske kan denna behandlingsprincip komma att revolutionera infektionsbehandlingen.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

Kommentera denna artikel på lakartidningen.se