

# Faagiterapia ratkaisuna antibioottiresistenssin ongelmaan

Ida Kögäs

LuK-tutkielma  
Biologian tutkinto-ohjelma  
Oulun yliopisto  
Helmikuu 2022

# Sisällysluettelo

<b>Tiivistelmä .....</b>	<b>2</b>
<b>1. Johdanto .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Antibioottiresistenssi .....</b>	<b>4</b>
2.1. Antibioottien toiminta, resistenssin syntymekanismi ja leviäminen .....	4
2.2. Resistenssi ongelmana .....	6
2.3. Esitetyt ratkaisuvaihtoehdot .....	7
<b>3. Mitä on faagiterapia ja miten se vaikuttaa bakteereihin .....</b>	<b>8</b>
3.1. Faagit ja niiden toiminta .....	8
<b>4. Faagiterapia .....</b>	<b>11</b>
4.1. Faagiterapian ongelmat, mahdollisuudet, tavoitteet .....	11
<b>5. Johtopäätökset ja pohdinta.....</b>	<b>16</b>
<b>6. Viitteet.....</b>	<b>17</b>

## Tiivistelmä

Antibiootit ovat lääketieteen mullistaneita yhdisteitä, joita on käytetty toisesta maailmansodasta lähtien erilaisten tulehdussairauksien hoitoon, ja ne ovat mahdollistaneet muun muassa elinsiirrot ja syöpähoidot. Bakteerit kuitenkin nopean evoluutionsa johdosta kehittävät valintapaineen alla näille arvokkaille yhdisteille resistenssiä. Antibioottiresistenssi on suuri uhka terveydenhuollolle, ja infektioiden hoitamiseen on keksittävä uusia ratkaisuja antibioottien menettäessä tehoaan. Yksi ehdotettu ratkaisu on faagiterapia. Siinä hyödynnetään bakteerien luonnollisia vihollisia, bakteriofageja. Ne tunnistavat taudinaiheuttajan ja valjastavat niiden aineenvaihdunnan omaa lisääntymistään varten samalla tuhoten bakteerisolut. Tutkielman tarkoitus on selvittää faagiterapian käytännön mahdollisuuksia ja haasteita sekä vastata nykytiedon perusteella, kuinka realistinen vaihtoehto antibioterapian korvaaminen faagiterapialla on.

Kliininen tutkimustieto on vielä puutteellista, mutta faagiterapiaa on testattu sekä in vitro- että in vivo- olosuhteissa ja sellaisissa yksittäistapauksissa, joissa potilasta ei ole saatu hoidettua muilla keinoilla. Osassa testeistä ei ole havaittu tehoa, toisissa on raportoitu tehokas vaste. Vielä on tutkittava, mitkä tekijät estävät faagien käytön tietyissä tapauksissa. Näyttää on esimerkiksi elimistön oman immuunipuolustuksen reaktiosta terapiassa käytettäviä vieraita faageja kohtaan sekä niiden kulkeutumisesta väärään osaan elimistöä. On myös mahdollista, että ristiriitaiset tulokset johtuvat osittain siitä, että käytetty faagi ei ole tunnistanut kyseistä taudinaiheuttajaa. Oleellinen ongelma on bakteerien kehittyminen resistentiksi myös faageja vastaan.

Toisin kuin antibiootti, faagit ovat organismeja, jotka siksi kykenevät evolutiiviseen kilpajuoksuun bakteereja vastaan. Tiedetään myös, että faagiresistenteiksi kehittyvät bakteerit voivat samalla muuttua herkemmiksi antibiooteille. Siksi resistenssin kehittyminen faageja vastaan ei ole samalla tavalla peruuttamatonta. Teoriassa faagien pitäisi olla niiden spesifisyyden ansiosta harvinaisia elimistön kudoksille ja mikrobiomille. Silti on saatava lisätietoa niiden mahdollisista immunologisista haittavaikutuksista. Faagiterapian ongelmiin on esitetty ratkaisuksi geenimuuntelua, jolla voidaan muokata faagien ominaisuuksia sopiviksi käyttötarkoitusta varten, esimerkiksi laajentaa sen isäntäkirjoa. Muunneltujen faagien käyttöä on jo pienessä mittakaavassa harjoitettu onnistuneesti. Positiiviset testitulokset viittaavat faagiterapian olevan vakavasti otettava ratkaisumahdollisuus antibioottiresistenssiin. Onnistuneet tapaukset, joissa infektio on saatu kokonaan parannettua, näyttävät faagien todella

toimivan infektion hoidossa. Faagiterapian kehittäminen tehokkaaksi kliiniseksi menetelmäksi vaatii faagien toiminnan yksityiskohtaista ymmärtämistä.

## 1. Johdanto

Antibiootit ovat yksi suurimmista lääketieteen läpimurroista, sillä ne ovat mahdollistaneet tehokkaan infektioiden hoidon ja siten modernin kirurgian ja kemoterapian, ja ne ovat nostaneet elinajanodotetta (Hutchings ym., 2019). Laaja antibioottien käyttö uhkaa kuitenkin tulla tiensä päähän, sillä ne ovat menettämässä tehoaan patogeenisia bakteereja vastaan (Bush ym., 2011).

Antibiootit ovat joko synteettisiä kemikaaleja tai luonnosta eristettyjä yhdisteitä, jotka tappavat bakteereja tai estävät niiden kasvua. Suurin osa terveydenhuollossa merkittävistä antibiooteista ovat luonnollisten yhdisteiden johdannaisia (Hutchings ym., 2019). Nykyään käytetään yleistermiä antimikrobiaalinen yhdiste, joka voidaan jakaa esimerkiksi antibakteriaaliin, antifungaaliin, ja antiviraaliin yhdisteisiin. Gram-positiivisista bakteereista *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* ja *Streptococcus pneumoniae* ovat lajeja, joissa resistenssi on yleistä. Gram-negatiivisista bakteereista resistenttejä kantoja havaitaan usein lajien *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Acinetobacter baumannii* kohdalla (Vivas ym., 2019).

Bakteriofagit ovat runsain sekä monimuotoisin elämänmuoto maapallolla (Labrie ym., 2010). Niitä esiintyy runsaasti siellä, missä on myös paljon bakteereja, kuten maaperässä ja ihmisen elimistössä (Duan ym., 2021). Antibioottiresistenssin ongelmaan on ehdotettu ratkaisuksi bakteriofagien käyttöä, sillä ne ovat bakteerien luonnollisia vihollisia, ja erikoistuneet lisääntymään bakterisolujen sisässä samalla tuhoten ne (Hampton ym., 2020).

Faagiterapia on ollut arkisessa käytössä 1900-luvun ajan muun muassa Venäjällä, mutta länsimaissa on turvaututtu vain antibiootteihin niiden tehokkaan hoitovasteen ansiosta (de Miguel ym., 2020). Länsimaissa käyttöönottoa rajoittaa länsimainen lääkelainsäädäntö, eikä itä-Euroopassa harjoitetun faagiterapian tehokkuutta ole dokumentoitu kunnolla (Duan ym., 2021; Tagliaferri ym., 2019). Ajatus faagiterapian käytöstä patogeenisia bakteereita vastaan hylättiin länsimaissa puutteellisten tutkimustulosten vuoksi, mutta sen potentiaali on noussut uudestaan pinnalle antibioottiresistenssin tullessa ajankohtaisemmaksi ongelmaksi (Doss ym., 2017). Tämän tutkielman tarkoituksena on selvittää, kuinka varteenotettava vaihtoehto faagiterapia on antibioottien käytölle.

## 2. Antibioottiresistenssi

### 2.1. Antibioottien toiminta, resistenssin syntymekanismi ja leviäminen

Antibiootit löydettiin ja kehitettiin tulehdussairauksien hoitoon pääsääntöisesti 1950-luvulla, mitä kutsutaan antibioottien kulta-ajaksi (Hutchings ym., 2019). Toisen maailmansodan aikaan sijoittunut kehitystyö osoitti, että antibiootit ovat lähes ihmelääkkeitä, sillä ne tehosivat nopeasti erilaisiin tulehdustiloihin lähes ilman vaarallisia sivuoireita, ja penisilliini otettiin käyttöön haavoittuneiden sotilaiden hoidossa (Lobanovska & Pilla, 2017). Antibioottien kulta-aikana löydetty yhdisteet kuten penisilliinit, tetrasykliinit, karbapeneemit ja kinolonit, olivat pääsääntöisesti käytössä aina 1990-luvulle saakka, mistä lähtien antibioottiresistenssi on lähtenyt leviämään ympäri maapalloa, vähentäen radikaalisti antibioottien tehoa (Hutchings ym., 2019; Lobanovska & Pilla, 2017). Jopa uudet, täysin synteettisetkin antibiootit kehittävät resistenssin bakteereissa hyvin nopeasti (Hutchings ym., 2019). Ensimmäisten sulfonamidien laajasta käyttöönotosta vain kuuden vuoden päästä kohdattiin jo resistenttejä kantoja (Crofts ym., 2017). Aluksi kuitenkin ajateltiin, että resistenssi ei olisi ongelma, koska ei tiedetty, että bakteerit kykenevät jakamaan geneettistä materiaalia eri lajien kesken (Davies, 1996).

Mikrobit tuottavat luonnossa antibiootteja suojautuakseen kilpailijoita vastaan (Hutchings ym., 2019). Sekvensoitaessa muinaisia ympäristö-DNA-näytteitä on löydetty lukuisia resistenssigeenejä. Tämä kertoo antibioottiresistenssin olevan luonnollinen bakteerien evoluutioon liittyvä ilmiö, jota ihmisen toiminta ei aiheuta, vaan kiihdyttää (Crofts ym., 2017). Antibioottiresistenssiä nopeuttaa bakteerien välinen horisontaalinen geenisiirto (HGT), jonka ansiosta ne kykenevät vaihtamaan geenejä toistensa kanssa. Kun bakteeri saa uuden geenin, joka antaa sille antibiootin vaikutusta estävän ominaisuuden, on se resistentti kyseiselle antibiootille. Esimerkiksi *S.aureus* on saavuttanut penisilliiniresistenssin ottamalla sisäänsä plasmidin, jossa on beetalaktamaasia koodaava geeni (Vivas ym., 2019). Horisontaalisen geenisiirron johdosta bakteerin resistenssin saavuttaminen ei ole riippuvainen ainoastaan sen omista spontaaneista mutaatioista (Sun ym., 2019). Jos bakteerikannassa on yksilö, joka sietää kantaa vastaan käytettävää antibioottia paremmin kuin muut yksilöt, tämä kykenee lisääntymään tehokkaammin suhteessa muihin. Selviytyessään se voi muodostaa uuden kannan, jolla on samat antibiootille resistenssin antavat ominaisuudet. Mitä enemmän antibiootteja

käytetään, sitä useammin tämä skenaario todennäköisesti käy toteen ja resistenttejä kantoja kumuloituu sitä mukaan (Yang ym., 2021).

Nykyään tunnetut antibiootit toimivat yleensä estämällä bakteerin proteiinisynteesiä hyökkäämällä sen ribosomeja vastaan, hajottamalla sen solukalvoa tai häiritsemällä sen aineenvaihduntaa ja DNA-replikaatiota (Crofts ym., 2017). Bakteri voi puolustautua antibiootteja vastaan esimerkiksi tuottamalla niitä pilkkovia entsyymejä tai muuttamalla niiden kemiallista rakennetta (Crofts ym., 2017). Esimerkiksi penisilliini-antibiootille vastustuskyvyn saanut *S. aureus* tuottaa beetalaktamaasientsyymiä, joka hajottaa antibiootin laktaamisidoksia tehden siitä tehottoman (Vivas ym., 2019). Karbapeneemeille vastustuskykyä aiheuttaa bakteerin ulosvirtauspumppujen toiminnan muutos, pilkkovien entsyymien tuotto ja solukalvon läpäisemättömyys (Vivas ym., 2019). On myös huomattu, että pieni määrä resistenttejä bakteerisoluja voi suojata antibiootille herkkiä yksilöitä ympäröimällä niitä siten, ettei lääkeaine pääse kosketuksiin niiden kanssa (Aminov, 2010).

Resistenssiä kehittyy myös ympäristössä, kun bakteerit altistuvat joko ihmisen tai villien mikrobien tuottamille antimikrobiaalisille yhdisteille esimerkiksi jätevedessä tai maaperässä. Luonnosta peräisin olevat resistenssigeenit voivat horisontaalisen siirron kautta siirtyä ihmisen patogeeneihin (Arnold ym., 2016; Vivas ym., 2019). Esimerkkinä tästä on synteettisten kinolonien yleistynyt resistenssigeeni, joka on siirtynyt ihmisen mikrobiomiin vesistöjen bakteereilta. Sen koodaamasta entsyymistä oli alun perin etua DNA:n metaboliassa vesibakteereilla, mutta entsyymi sattui suojaamaan bakteeria myös antibiootilta (Aminov, 2010).

Bakteerien nopea evoluutio resistenssin suuntaan johtaa moniresistenttejä kantoja vastaan viimeisenä vaihtoehtona käytettävien antibioottien, eli viimeisen linjan antibioottien, tehottomuuteen (Loganathan ym., 2021; Vivas ym., 2019; Yang ym., 2021). Antibioottien liikkakäyttö siten lisää resistenssin syntymisen todennäköisyyttä, ja eri maiden välillä nähdään selkeä korrelaatio antibioottien runsaan käytön ja resistenttien kantojen sekä niiden aiheuttamien infektioiden vuotuisten lukumäärien välillä (Vivas ym., 2019; Yang ym., 2021). Leviämiseen vaikuttaa muun muassa jätevesihuolto, väestötiheys ja hygienia julkisilla alueilla kuten kaupunkiympäristössä ja erityisesti sairaaloissa. Tilanne on vakava varsinkin kehitysmaissa, joissa antibioottien käyttöä ja käsittelyä ei valvota samoin kuin länsimaissa. Antibiootteja saa ilman reseptiä eikä kuluttajalla välttämättä ole niiden oikeaoppiseen käyttöön tarvittavaa tietoa (Bush ym., 2011; Davies & Davies, 2010). Äärimmäinen esimerkki itse lääkevalmistajien vastuuttomasta toiminnasta on siprofloksasiinin kaataminen jokeen

kymmeniä kiloja päivässä Intiassa, eikä kaikkia vastaavia tapauksia ei todennäköisesti ole tullut julkisuuteen (Davies & Davies, 2010).

## 2.2. Resistenssi ongelmana

Antibioottien tehon hiipuminen on suuri vaara ruuantuotannolle ja terveydenhuollolle (Arnold ym., 2016; Bush ym., 2011; de Miguel ym., 2020; Kortright ym., 2019). Hälyttäviä ovat etenkin tietyt 2000-luvun alusta lähtien maailmalla yleistyneet karbapeneemeille resistentit enterobakteerien kannat (de Miguel ym., 2020; Vivas ym., 2019). Esimerkiksi *Escherichia colin* resistenssi viimeisen linjan antibiootteja vastaan estää sen aiheuttamien yleisten infektioiden, kuten virtsatieninfektioiden ja hengenvaarallisen verenmyrkytyksen hoidon (de Miguel ym., 2020). Tuberkuloosia aiheuttava *Mycobacterium tuberculosis* on jo resistentti kahdelle eturintaman antibiootille, rifampisiinille sekä isoniatsidille (Fathima & Archer, 2021). Resistenssin leviäminen on vaarantanut viimeisen linjan antibioottihoidot, joita ovat kefalosporiini, karbapeneemit, kinolonit ja yleensä viimeisenä vaihtoehtona käytetty kolistiini (Crofts ym., 2017). Jos antibiootit menettävät tehonsa hengenvaarallisten infektioiden hoidossa, moderni terveydenhuolto taantuu takaisin antibiootteja edeltävään aikaan, eikä esimerkiksi leikkauksia, elinsiirtoja tai syöpähoitoja voida suorittaa ilman suurta infektion vaaraa (Duan ym., 2021; Vivas ym., 2019).

Yleisimpiä multiresistenttejä patogeeneja ovat metisilliiniresistentit *S. aureus* eli MRSA:n kannat sekä vankomysiinille resistentit enterokokit eli VRE:n kannat (Vivas ym., 2019). Jo antibioottien kulta-ajan alkupuolella *S.aureus* kehitti resistenssin penisilliinille. Penisilliiniresistenttiä *S.aureus*ta vastaan on käytetty metisilliiniä, mutta resistenssi tätäkin vastaan syntyi nopeasti (Crofts ym., 2017; Vivas ym., 2019). Vankomysiini ja daptomysiini ovat viimeisen linjan antibiootteja *S.aureus*ta vastaan. Jos kanta on multiresistentti kaikille tunnetuille antibiooteille, ei pystytä hoitamaan sen aiheuttamia ihoinfektioita, aivokalvontulehdusta, keuhkokuumetta tai verenmyrkytystä (Vivas ym., 2019). VRE:n kannat leviävät usein sairaalahoidossa suonensisäisesti, ja se aiheuttaa muun muassa paiseita, sydänlöpäntulehdusta sekä virtsatieninfektioita (Vivas ym., 2019). Muita huolestuttavia, sairaalainfektioita aiheuttavia multiresistenttejä kantoja esiintyy muun muassa enterobakteereilla, kuten beta-laktamaasia tuottavat ja karbapeneemeille resistentit enterobakteerit, sekä lajeilla *Acinetobacter baumannii* ja *Pseudomonas aeruginosa* (Vivas ym., 2019).

Antibioottiresistenssin aiheuttamat seuraukset nykypäivän terveydenhuollossa ei ole ainoastaan uhkakuva, vaan kehittyvä realiteetti. Vuosittain multiresistentteihin bakteeri-infektioihin kuolee EU:n alueella noin 25 000 ihmistä (Loganathan ym., 2021) ja maailmanlaajuisesti 700 000 ihmistä (Barnard & Fairhead, 2021). Kuolleisuuden odotetaan nousevan ainakin yli kymmeneen miljoonaan vuoteen 2050 mennessä (Crofts ym., 2017; Hutchings ym., 2019; Kortright ym., 2019; Vivas ym., 2019) ja resistenssistä johtuvien taloudellisten tappioiden maailmanlaajuisesti yli sataan miljoonaan Yhdysvaltain dollariin (Crofts ym., 2017).

### 2.3. Esitetyt ratkaisuvaihtoehdot

Mahdollisia ratkaisuja antibioottiresistenssin ongelmaan on antibioottien käytön vähentäminen, uusien antibioottien jatkuva etsintä ja kehitys, antimikrobiset peptidit, vasta-aineet, lyysiinit, CRISPR/Cas-tekniikka sekä faagiterapia (Bush ym., 2011; Ghosh ym., 2019; Hutchings ym., 2019; Vivas ym., 2019). Antibioottien kulta-aikana uusia antibiootteja eristettiin rutiininomaisesti sellaisista maaperänäytteistä, joiden mikrobiston odotettiin tuottavan niitä. Pian tahti hidastui, kun uusia ryhmiä ei enää löydetty (Hutchings ym., 2019). Uusia antibiootteja voidaan kehittää vanhojen tilalle, mutta tämän toteuttamisessa on panostamisen varaa. Kliinisessä kehitysvaiheessa on vain muutamia kymmeniä uusia antibiootteja, joista valtaosa ovat johdannaisia vanhoista lääkkeistä, eikä yksikään niistä tehoa gram-negatiivisia lajeja eikä kriittisimpiä multiresistenttejä kantoja vastaan. Gram-negatiivisia kantoja vastaan ei ole löydetty uusia lääkeaineita 50 vuoteen, eikä uusien antibioottien kehitys ole lääkeyhtiöiden taloudellisissa intresseissä (Miethke ym., 2021), ja uusien antibioottien kehittäminen tapahtuu pääasiassa yliopistojen ja pienten yhtiöiden taholta (Hutchings ym., 2019). Valtion rahoitus ja sääntelyn aiheuttamien esteiden purku voisi olla avuksi antibioottien kehityksessä (Bush ym., 2011; Hatfull ym., 2022; Vivas ym., 2019).

Länsimaissa antibioottien käyttö on nykyään tarkemmin rajoitettua kuin kehitysmaissa, eikä kehittyneissä maissa esimerkiksi saa antibiootteja ilman reseptiä (Aminov, 2010). Tästä syystä resistenttejä kantoja kohdataan lyhyellä aikavälillä katsottuna vähemmän, ja esimerkiksi MRSA-infektiotapauksien yleistymisen on hidastunut (Fathima & Archer, 2021). Merkittävä hidastava tekijä on ollut myös Euroopan Unionin kielto koskien antibioottien käyttöä kasvutekijänä karjatuotannossa (Arnold ym., 2016). Maltillinen käyttö kuitenkin vain hidastaa resistenssin kehittymistä ja leviämistä, eikä ole ratkaisu itsessään (Crofts ym., 2017; Davies & Davies, 2010; Kortright ym., 2019).



Resistenssin kehittymistä voidaan hidastaa kontrolloimalla bakteeriin kohdistumaa valintapainetta käyttämällä eri antibiootteja samaan aikaan. Esimerkiksi meropeneemin, piperasilliinin ja tatsobaktaamin yhdistelmä tehoaa MRSA:han yhteisvaikutuksen ansiosta (Crofts ym., 2017). Antimikrobiset peptidit ovat monien organismien tuottamia yhdisteitä, jotka hajottavat patogeenin soluseinän. Bakteerit kehittävät näille yhdisteille resistenssiä hitaammin, sillä soluseinän hajoaminen on siihen verrattuna energeettisesti suotuisampaa (Ghosh ym., 2019). Vasta-aineita voitaisiin myös tulevaisuudessa valmistaa vaihtoehtona antibiooteille, sillä ne edistävät fagosytoosia eli bakteerien solusyöntiä, ja auttavat infektion puhdistamista verestä (Vivas ym., 2019). CRISPR/Cas-systeemit ovat osa bakteerien puolustusmekanismeja, joita voidaan myös todennäköisesti soveltaa tulevaisuudessa tulehdustilojen hoitoon (Ghosh ym., 2019). Faagiterapiasta ja faagien lyyttisistä entsyymeistä on maailmanlaajuisesti kiinnostuttu uudestaan antibioottiresistenssin yleistyessä, sillä menetelmä on tunnettu jo kauan, ja se on tuottanut osassa kokeista hyviä tuloksia (Ghosh ym., 2019; Hatfull ym., 2022; Kortright ym., 2019).

### 3. Mitä on faagiterapia ja miten se vaikuttaa bakteereihin

#### 3.1. Faagit ja niiden toiminta

Bakteriofagit eli faagit ovat bakteereja infektoivia viruksia. Niillä on yleensä häntä, jossa sijaitsee reseptorit isännän tunnistamista varten (Kowalska ym., 2020). Perimäaines sijaitsee kapsidin eli proteiinikuoren suojassa, ja se voi olla joko kaksoisjuosteista DNA:ta (dsDNA), yksöis- tai kaksoisjuosteista RNA:ta tai pyöreää DNA:ta (sscDNA) (Duan ym., 2021). Ne luokitellaan patogeenisuuden, morfologian, isäntävalikoiman ja genomin rakenteen mukaan (Fathima & Archer, 2021).

Faagit ovat spesifisiä, eli niiden tulee ensin tunnistaa kohteensa solukalvon reseptorista (Loganathan ym., 2021). Niiden elinkaarissa on kahta vaihetta; aktiivinen eli virulentti lyyttinen ja lysogeeninen lepotila (Hampton ym., 2020). Lyyttisessä vaiheessa faagi tunnistaa bakteerin ja ruiskuttaa perimäaineksensa sen sisään. Se kykenee valjastamaan isäntäbakteerinsa tuottamaan replikaatiossa sen omaa DNA:ta, ja siten lisääntymään nopeasti. Kun bakteeri on valmistanut tarpeeksi ainesta uusia faageja varten, ne tuhoavat bakteerin ja vapautuvat ympäristöön infektoimaan lisää bakteereja (Doss ym., 2017; Hampton ym., 2020).

Ennen kuin faageja voidaan käyttää, ne täytyy eristää ympäristöstä. Faageja löydetään sieltä, missä on runsaasti bakteereja, kuten vesistöissä ja maaperässä. Vastaavasti tietty faagi löytyy sieltä, missä tiedetään elävän juuri sille spesifinen bakteerikanta (Duan ym., 2021; Hyman, 2019). Faagien etsiminen on niiden runsauden ansiosta paljon kätevempää ja nopeampaa kuin uusien antibioottien kehittäminen (Kowalska ym., 2020).

Eristäminen tapahtuu siten, että bakteerinäyte ensin inkuboidaan, ja sen jälkeen bakteerit erotetaan sentrifugilla tai suodatuksella. Eristämisen jälkeen faagista valmistetaan liuos sopivaan konsentraatioon, ja näitä sekoittamalla voidaan valmistaa seoksia (Hyman, 2019). Eristetyt faagit tulee seuloa toksinigeenien varalta, luokitella lysogeenisiin ja lyyttisiin, ja testata niiden teho bakteeriviljelmään, taipumus transduktioon eli horisontaaliseen geenisiirtoon bakteerien välillä, sekä määrittää sen isäntävalikoima. Faagit säilötään kokoelmaan, mistä voidaan tarvittaessa valita sopivat yksilöt terapiaa varten. Niiden tulee olla tarpeeksi stabiileja, jotta niitä voidaan säilyttää pitkiäkin aikoja (Hatfull ym., 2022; Hyman, 2019). Suuria faagikokoelmia ylläpitää tällä hetkellä muun muassa Yhdysvaltain laivasto (Kortright ym., 2019).

Terapiassa voidaan käyttää joko kokonaisia faageja tai eristettyjen faagien lyyttisiä entsyymejä (PLE), jotka edistävät bakteerin solukuolemaa. Endolysiinit erittyvät faagin replikaatiosyklin loppuvaiheessa, ja tarttuvat bakteerin peptidoglykaaniin tuhoten solun sisältä päin. Virionilyysiinit (VAL) heikentävät bakteerin solukalvoa ulkoapäin siten, että faagi pääsee injektoidaan genominsa bakteerin solulimaan. Lyyttiset entsyymit tehoavat yleensä laajempaan isäntävalikoimaan (de Miguel ym., 2020).

Lysogeenisessä syklissä olevan faagin DNA ei pääse ekspressoitumaan, vaan se liittyy perimäaineksensa osaksi bakteerin kromosomia. Kun bakteeri lisääntyy, lisääntyy myös faagin perimäainees. Faagi pysyy bakteerin genomissa nukkuvaan tilassa, kunnes jokin stressitekijä, kuten esimerkiksi altistuminen antibiootille, laukaisee bakteerin faagi-DNA:n replikaation ja faagi siirtyy jälleen lyyttiseen tilaan (Doss ym., 2017). Lysogeenista faagia on hankala hyödyntää faagiterapiassa, sillä sen perimäainees voi muuttaa kohdekannan fenotyyppiä esimerkiksi pahimmassa tapauksessa siirtämällä niihin resistenssigeenejä horisontaalisella geenisiirrolla (Kowalska ym., 2020).

Faagit ovat hyvin spesifejä bakteerien suhteen, eli ne infektoivat vain sellaista kantaa, jolla on tietynlainen reseptorimolekyylisolukalvolla (Kortright ym., 2019; Kowalska ym., 2020; Zhang ym., 2021). Niillä voi olla pieni isäntävalikoima eli ne kykenevät tunnistamaan vain yhtä tai muutamaa kantaa, toiset tunnistavat saman lajin sisällä useampaa. On myös sellaisia faageja, jotka tunnistavat useampaa lajia. Terapian kannalta ihanteellinen

faagi tunnistaa useita taudinaiheuttajia, mutta ei mikrobiston tasapainon kannalta hyödyllisiä lajeja (Hyman, 2019). Jos faagi ei saavuta kohdettaan, se ei lisäänty. Siksi faagiterapiassa ei teoriassa olisi suurta virusinfektion vaaraa (Zhang ym., 2021). Faagiseoksia voidaan käyttää, kun ei osata tarkasti sanoa mikä bakteerilaji on terapian kohteena – eli millainen faagi tarvitaan tuhoamaan kyseinen bakteeri. Seosten käyttö on turvallisempaa kuin yksittäisen faagin käyttö, sillä on pieni todennäköisyys, että kaikille koktailin koostaville faageille resistenssin aiheuttamia mutaatioita tapahtuisi samanaikaisesti (Doss ym., 2017; Kortright ym., 2019; Kowalska ym., 2020).

Kuten antibioottien kohdalla, bakteerit ennen pitkää kehittävät resistenssiä myös bakteriofageja vastaan luonnollisten evoluutiomekanismien tuloksena (Kortright ym., 2019). Bakteereilla on useita suojautumismekanismia faageja vastaan, joita valinta suosii (Kowalska ym., 2020). Ne voivat estää faagia tunnistamasta ja infektoimasta sitä tukkimalla sen tunnistusproteiineja ja tuottamalla inhibiittoreita, jotka tarttuvat proteiiniin muuttaen sen rakennetta. Ne voivat myös tuottaa itsensä ulkopuolelle suojaavan kerroksen fyysiseksi esteeksi. Bakteerille voi lisäksi kehittyä resistenssi faagia vastaan, jos sen solukalvon reseptoriproteiinin rakenne muuttuu mutaation seurauksena (Kowalska ym., 2020; Labrie ym., 2010). Ne voivat muuttaa proteiinin konformaatiota, poistaa niitä, ja tuottaa niitä ylimäärin (Kowalska ym., 2020). Reseptori voi joskus myös olla piilossa faagilta esimerkiksi kapselin takana, tai bakteeri voi houkutellessa faageja pois reseptorien luota estäen sen tarttumisen (Maciejewska ym., 2018). Faagi voi puolestaan kehittyä tunnistamaan bakteerin uudenlaisia reseptoriproteiineja (Labrie ym., 2010), eli bakteerien ja faagien välillä tapahtuu evolutiivista kilpajuoksua. Tämä on etu faagien käytössä, sillä antibiootit eivät ole eläviä organismeja. Ne eivät siten ole valintapaineen alla, eikä niille voi kehittyä uusia ominaisuuksia (Kortright ym., 2019).

Muita bakteerien puolustusmekanismeja ovat DNA:n injektion estäminen, vieraan geneettisen materiaalin pilkkominen, faagi-DNA:n replikaation estäminen ja apoptoosi eli suolukuolema (Hampton ym., 2020; Kowalska ym., 2020). Ne voivat tuottaa restriktioentsyymeitä, jotka tunnistavat lyhyitä jaksoja sekvenssissä ja halkaisevat kaksoisjuosteen näistä kohdista hajottaen sen. Faagit ovat kuitenkin kilpajuoksussa kehittäneet keinon tämänkin esteen voittamiseen; pistemutaatiot restriktioentsyymien tunnistettavilla alueilla estää niiden tunnistamisen ja hajotuksen (Hampton ym., 2020).

Superinfection exclusion systeemit eli Sie-systeemit ovat proteiineja, jotka estävät faagin DNA:n pääsyn kohdesolun sisään vielä sen jälkeen, kun faagi on tarttunut bakteerin solukalvon pintaan (Kowalska ym., 2020). Jos faagi saa ruiskutettua aineksen

bakteerin sisään, pystyy bakteeri estämään sen replikaation ensimmäisen kierroksen etenemisen ”bacteriophage exclusion system”- eli BREX-systeemin avulla. Jos tämä ei onnistu, faagi voi laukaista kromosomisaarien tuoton. Se saa aikaan sellaisten kapsidien tuoton, joissa on sisällä bakteerin omaa, eikä faagin vierasta perimäainesta (Kowalska ym., 2020). Mekanismi nimeltä ”abortive infection” (abi) johtaa faagin infektoiman bakteerisolun kuolemaan ja katkaisee siten faagin lisääntymisketjun (Labrie ym., 2010).

Osa monimutkaisempaa puolustusmekanismia ovat CRISPR-Cas systeemit, jotka ovat osa bakteerien hankittua immunitettia (Barrangou, 2015; Hampton ym., 2020; Kowalska ym., 2020). Ne tunnistavat ensin vieraan DNA-sekvenssin ja lisäävät lyhyen jakson tätä DNA:ta omaan juosteeseensa, jota kopioidaan ja pilkotaan pieniksi yksittäisiksi crispr-RNA:ksi, joista kukin pystyy jatkossa tunnistamaan tietyn faagitunkeilijan DNA:n. Endonukleaasi Cas9 pilkkoo vieraan DNA:n tunnistetuista kohdista (Barrangou, 2015; Hampton ym., 2020). Bakteriofagit kehittyvät puolestaan valintapaineen alla päihittämään bakteerin CRISPR-systeemin mutatoitumalla ja bakteerin tunnistaminen alueiden delectioilla (Barrangou, 2015).

## 4. Faagiterapia

### 4.1. Faagiterapian ongelmat, mahdollisuudet, tavoitteet

Faagiterapia perustuu faagien kykyyn tappaa bakteereita. Sekä in vivo että in vitro - tutkimukset ovat osoittaneet faagiterapian tehokkaaksi vaihtoehdoksi antibioottiresistenttejä bakteereja vastaan (Fathima & Archer, 2021; Kortright ym., 2019).

Faagiterapiassa käytetään lyyttisiä faageja, koska ne ovat nopeita tuhoamaan kohdekannan virulenssinsa ja lisääntymistehokkuutensa ansiosta, toisin kuin lysogeeniset faagit (Doss ym., 2017; Loganathan ym., 2021). Lysogeeniset faagit voivat saada aikaan haitallista horisontaalista geenisiirtoa, ja levittää resistenssigeenejä (Hatfull ym., 2022) tai virulenssigeenejä (Vivas ym., 2019). Esimerkiksi PVL- eli ”panton valentine leucocidin”-toksiinia koodaava geeni, jota esiintyy *S.aureuksella*, voisi levitä bakteerista toiseen (Vivas ym., 2019). Lysogeenisia faageja on kuitenkin mahdollista muokata poistamalla niistä repressorigeenit, jotka estävät lyyttiseen tilaan siirtymistä. Tätä voidaan hyödyntää esimerkiksi silloin, kun jonkin bakteerin ominaisuudet vaativat käytettäväksi tiettyä lysogeenista faagia (Hatfull ym., 2022).

Bakteeri-infektioiden nujertamisessa oleellinen ongelma on bakteerin vääjäämätön taipumus kehittää resistenssiä myös faageja vastaan. Toisaalta geneettisen

vaihtokaupan ansiosta tämä ei välttämättä ole huono asia. Kun organismi lisää kelpoisuuttaan valintapaineen alla, se todennäköisesti menettää kelpoisuutta antavia ominaisuuksia erilaiseen olosuhteeseen nähden. Yksinkertaistettuna bakteerin saadessa faagiresistenssin, se voi menettää antibioottiresistenssin (Kortright ym., 2019).

Faagiterapian spesifisyyden ansiosta voidaan välttää antibiootihoidon negatiiviset vaikutukset. Antibiooteilla tiedetään olevan haitallisia sivuvaikutuksia etenkin vatsan mikrobiomiin. Niiden käyttöön liittyy myös suurentunut riski aineenvaihduntasairauksien, immunologisten sekä neurologisten sairauksien ja jopa syöpien kehittymiseen (Zhang ym., 2021). Hoidon kannalta spesifisyyden käytännön ongelma tulee vastaan, kun faagi ei tunnista taudinaiheuttajaa. Antibioottien käytön hyötynä on, että ne tehoavat laajempaan kirjoon bakteereja, sillä niiden teho ei edellytä reseptoritunnistusta (Kortright ym., 2019). Faagikoktailit parantavat terapian onnistumisen todennäköisyyttä, sillä kukin faagi tunnistaa erilaisen reseptorin (Duan ym., 2021). Lisäksi ne ehkäisevät faagiresistenttien mutanttien syntyä (Bolocan ym., 2016). Koktailien käyttö kuitenkin lisää monimutkaisten yhteisvaikutusten mahdollisuutta, ja hankaloittaa terapian turvallisuuden arviointia (Duan ym., 2021). Paras faagityyppi on sellainen, jolla on laaja isäntävalikoima eli se tehoaa useaan erilaiseen taudinaiheuttajaan. Esimerkiksi erään *S.aureuksen* faagin nimeltä  $\phi$ 812 on huomattu toimivan 95% *S.aureuksen* kannoista sekä 43% muista stafylokokkeihin kuuluvista lajeista (Loganathan ym., 2021).

Antibiooteilla on myös negatiivisia vaikutuksia ihmisen luonnolliselle mikrobikannalle. Antibiootit eivät ole spesifisiä, joten ne häiritsevät haitallisten patogeenien lisäksi harmittomien ja tarpeellisten bakteerien toimintaa ja näin horjuttavat mikrobiomia (Yang ym., 2021). Teoriassa spesifisyyden ansiosta säästyttäisiin laajalta kirjolta antibioottien sivuvaikutuksilta, ja valtaosa tutkimuksista on osoittanut faagiterapian turvalliseksi hoitomuodoksi (Duan ym., 2021). On kuitenkin näyttöä myös niiden negatiivisista vaikutuksista nisäkkään soluihin ja immuunisysteemiin (Duan ym., 2021). Havaittuja vaikutuksia ovat esimerkiksi tulehdus, ja tiettyjen *Pseudomonas*-suvun lajeja infektioivien faagien on havaittu vaikuttavan ihmisen leukosyytteihin (Duan ym., 2021).

Hiirikokeiden tulokset faagien käytöstä paikallisten infektioiden kuten virtsatien- ja korvatulehdusten hoidossa ovat silti varsin lupaavia, ja faagiterapian odotetaan korvaavan antibiootit kokonaan näiden tulehdusten hoidossa (Kortright ym., 2019). Eräässä esimerkkitapauksessa raportoitiin ihmisen toistuvien virtsatieninfektioiden onnistunut hoito antibioottien ja sopivan faagikoktailin yhteiskäytöllä (Kortright ym., 2019). Hiirikokeissa annettujen multiresistenttien kantojen aiheuttama sepsis saatiin parannettua suurimmalta osalta

hiiristä, jos annettu annos faagikoktailia oli tarpeeksi suuri (Górski ym., 2020; Kortright ym., 2019). Kun faagit annettiin *A.baumannii*- taudinaiheuttajasta tunnin kuluttua, puolet hiiristä selvisi. Mutta kun ne annettiin samaan aikaan, jokainen hiiri selvisi (Górski ym., 2020). Kliinisistä tutkimuksista ja kokeellisista hoidoista on raportoitu ristiriitaisia tuloksia. Kaikki testit eivät ole tuottaneet toivottuja lopputuloksia, vaikka lupaava vaste olisikin aluksi havaittu. Esimerkiksi eräässä leikkaushaavan *A.baumannii*- infektion hoidossa faagit katosivat tuloksitta verestä kokonaan jo kymmenen minuutin kuluttua (Kortright ym., 2019), ja ripulitautien hoidon kliinisessä tutkimuksessa hoidolla ei ollut vaikutusta. Kyseisessä tapauksessa epäiltiin, ettei suurin osa faageista selvinnyt vatsan happamissa olosuhteissa, tai sitten infektion aiheuttama *E.colin* kanta ei ollut herkkä käytetylle faagille (Kortright ym., 2019). Toisissa tapauksissa faagiterapia on onnistuneesti nujertanut infektion. Yksiselitteistä syytä testien epä johdonmukaisille tuloksille ei tiedetä, ja siksi tarvitaan lisää tutkimuksia (Hatfull ym., 2022; Kortright ym., 2019).

Toivoa antavat tapaukset, joissa infektio on saatu kokonaan taltutettua (Górski ym., 2020; Vivas ym., 2019). Kliinisissä tapauksissa on saatu pelastettua ihmishenkiä faagiterapialla. Eräässä tapauksessa potilaalla oli multiresistentti *P.aeruginosan* aiheuttama sepsis ja akuutti munuaisen vajaatoiminta. Kahden faagin koktailia annettiin suonensisäisesti kymmenen päivän ajan, ja taudinaiheuttaja saatiin hävitettyä verestä täysin, ja potilaan munuaisten toiminta palautui normaaliksi (Górski ym., 2020; Vivas ym., 2019). Toisessa *P.aeruginosa*- sepsistapauksessa pienen lapsen hoito ei onnistunut pelkillä antibiooteilla, joten tehtiin lisäksi sopiva koktaili kahdesta Yhdysvaltain laivaston ylläpitämän kokoelman faagista. Verinäytteet muuttuivat negatiivisiksi, mutta terapian lopetuksen jälkeen infektio palasi takaisin. Terapiaa jatkettiin, ja lopulta infektio saatiin taltutettua (Górski ym., 2020; Kortright ym., 2019). Myös vesiviljelyssä on raportoitu positiivisia tuloksia faagien käytöstä (Kowalska ym., 2020).

Ei ole välttämätöntä hylätä antibiootteja infektioiden hoidossa, vaan niiden rinnalle voidaan kehittää uusia menetelmiä. Vaikka faagiresistenssin evoluutio herättää epäilyksiä terapiaa kohtaan (Tagliaferri ym., 2019), evolutiivinen kilpajuoksu mikrobien välillä antaa optimistisen näkymän antibioottien ja faagien synergiselle käytölle (Kortright ym., 2019; Li ym., 2021). Tiedetään, että faagiresistentit kannat ovat herkempiä antibiooteille, eivätkä ne ole patogeenisilta ominaisuuksiltaan yhtä vahvoja (Li ym., 2021). Samalla ne voivat jopa muuttua herkemmäksi toisille faageille (Fathima & Archer, 2021; Li ym., 2021).

Synergisessä käytössä hyödynnetään bakteerin geneettistä vaihtokauppaa, ja faagiresistenssi käännetään haitallista bakteeria vastaan (Li ym., 2021). Eräässä tutkimuksessa

testattiin *Staphylococcus aureus* reaktiota antibiootin ja faagin yhteiskäyttöön. Havaittiin, että biofilmin bakteerimäärä väheni kaikkein eniten, kun antibioottilisäystä edelsi faagi-infektio (de Miguel ym., 2020). Antibioottien läsnä ollessa se voi voimistaa faagin tehoa bakteeria vastaan. Kaikkien antibioottien ja faagien yhdistelmien suhteen tätä vaikutusta ei kuitenkaan ole havaittu (Tagliaferri ym., 2019). Synergisen käytön tehoon voi vaikuttaa antibioottien annostelun määrä, järjestys sekä ajoitus, ja tästä tarvitaan lisää tutkimuksia (Tagliaferri ym., 2019).

Eri faagien soveltuvuutta terapiaan rajoittavat myös erot puoliintumisajoissa sekä immuunipuolustuksen vaikutus (Dąbrowska, 2019; Kowalska ym., 2020; Maciejewska ym., 2018). Koska bakteriofagit ovat yleisiä ympäristössä, on ihmisellä todennäköisesti myös vasta-aineita, jotka voivat neutraloida tiettyä kantaa (Kortright ym., 2019). Yksi immunitetin mekanismeista vieraiden mikrobien hävittämiseksi on solusyönti eli fagosytoosi (Uribe-Querol & Rosales, 2020), joka voi häiritä faagiterapiaa eliminoimalla hoidossa käytettäviä faageja (Kortright ym., 2019). Fagosytoosia voidaan ehkäistä pidentämällä faagin puoliintumisaikaa kapsidiproteiinin muokkauksilla (Duan ym., 2021). Kapsidin rakenteella on paljon merkitystä faagin kiertoaikaan veressä, sillä se voi piilottaa faagin immuunivasteen aiheuttavan tekijän eli antigeenin (Kortright ym., 2019; Maciejewska ym., 2018). Koska immuunisysteemi kykenee tunnistamaan bakteriofagien osia ja inaktivoimaan ne (Maciejewska ym., 2018), faagiterapian onnistumisen edellytys on selvittää, millaiset faagit pysyvät aktiivisena verenkierrossa tarpeeksi pitkään (Dąbrowska, 2019b), ja inaktivoiko neutraloiva reaktio tiettyä faagia vastaan myös toisia faageja (Hatfull ym., 2022).

Etenkin suonensisäisesti annettuna faagiterapiaa vaikeuttaa faagien kerääntyminen elimistön vääriin osiin, ja tietyt elimet kuten maksa ja perna suodattavat faageja ja osallistuvat niiden hävittämiseen verenkierrosta (Dąbrowska, 2019b; Maciejewska ym., 2018). Suun kautta otettuna imusolmukkeet voivat estää faagien levittäytymisen muualle elimistöön. Lääkkeen määrällä ja antotavalla on merkitystä faagin kulkeutumiseen, vasta-ainetuotantoon ja hoidon tehoon (Dąbrowska, 2019b). Ajoituksella suhteessa infektion alkamisen ajankohtaan näyttäisi olevan suuri vaikutus hoidon onnistumiseen (Górski ym., 2020). Tietämättömyys näiden tekijöiden vaikutuksista saattavat osittain selittää ristiriitaiset hoitovasteet (Kortright ym., 2019).

Annosmäärällä voi olla suuri vaikutus terapian onnistumiseen, sillä elimistö hävittää faageja verenkierrosta. Nykytiedon mukaan suuretkin määrät ovat turvallisia käytettäväksi (Duan ym., 2021). Kliinisissä tutkimuksissa havaitut sivuvaikutukset, kuten ripuli, ovat toistaiseksi olleet lieviä ja itsestään ohimeneviä (Fathima & Archer, 2021; Liu ym.,

2021). Teoriassa faagien käytössä on immuunireaktiosta johtuva anafylaksian riski, joka voi rajoittaa tiettyjen faagien soveltuvuutta terapiaan (Fathima & Archer, 2021). Mahdollisesti tulehdusta laukaisevia tekijöitä faagivalmisteissa on epäpuhtaudet ja etenkin endotoksiinit, jotka ovat gram-negatiivisten bakteerien soluseinien lipopolysakkarideja. Ne toimivat antigeeneinä, ja voivat olla suurina määrinä vaarallisia (Kortright ym., 2019; Liu ym., 2021) johtaessaan muun muassa kuumeen nousuun ja septiseen shokkiin (Kowalska ym., 2020).

Kokonaisten faagien sijaan pystytään käyttämään faagiperäisiä proteiineja, jotka rikkovat bakteerisolun. In vitro – tutkimukset ovat osoittaneet, että stafylokokkien endolysiinit eli faagiperäiset hajotusproteiinit ovat aktiivisia *S.aureuksen* multiresistenttejä kantoja vastaan, kuten MRSA (Fathima & Archer, 2021).

Eri faageilla on toisistaan poikkeavia ominaisuuksia, joista kaikki eivät sovellu faagiterapiaan, ja geenitekniikka on yksi vastaus tähän ongelmaan (Dąbrowska, 2019; Ghosh ym., 2019; Kowalska ym., 2020). Esimerkkejä erilaisista muokkaustekniikoista ovat rekombinaatio, CRISPR/Cas- tekniikka, genomisynteesi ja kokoonpano synteettisistä oligonukleotideista (de Miguel ym., 2020). CRISPR-Cas- tekniikalla geenimuunneltuja faageja on testattu vitrsatientulehduksen hoidossa. Ihmisen omien solujen sisään tunkeutuvaa *E.coli* K1- kantaa vastaan räätälöitiin sopiva faagi. Se onnistuneesti kulkeutui bakteerin tavoin virtsarakon epiteelisoluihin ja tuhosi bakteerit niiden sisällä (de Miguel ym., 2020). Geenimuuntelun avulla voidaan palauttaa bakteerin herkkyys antibiootille (Li ym., 2021) ja pidentää faagin puoliintumisaikaa (Barnard & Fairhead, 2021). Esimerkiksi lysogeenisiä faageja on muunneltu siten, että ne vievät geenit *rpsL* ja *gyrA* resistentin *E.colin* sisään, jotka tekevät siitä jälleen herkän kahdelle eri antibiootille (Ghosh ym., 2019). Geenitekniikan avulla voidaan parantaa faagien ominaisuuksia, kuten poistaa toksiinigeenejä ja laajentaa niiden isäntäkirjoa (Fathima & Archer, 2021). Faageihin on myös viety letaaligeenejä, joiden koodaavat proteiinit ovat onnistuneesti aiheuttaneet bakteerisolun apoptoosin (Fathima & Archer, 2021). Faageihin on lisäksi mahdollista liittää lääkkeitä, jotka kulkeutuvat faagin mukana oikeaan kohteeseen sen spesifisyyden ansiosta. Tämä mahdollistaisi lääkkeiden haittavaikutusten minimoimisen ympäröiviin kudoksiin (Duan ym., 2021). Kehittyvällä CRISPR/Cas- tekniikalla voidaan ehkä tulevaisuudessa kontrolloida resistenssin evoluutiota. Tekniikka voidaan kohdistaa bakteerin resistenssigeenin lokukseen, jolloin bakteeri menettää puolustusmekanisminsa antibioottia tai faagia vastaan (Barnard & Fairhead, 2021).



## 5. Johtopäätökset ja pohdinta

Faagiterapian yhteyteen ei toistaiseksi ole liitetty vakavia sivuvaikutuksia, mutta faagien vaikutuksia ihmisen eri kudoksiin ei tunneta vielä tarpeeksi hyvin (Liu ym., 2021). Sekä synnynnäinen että hankittu immunitaetti voi reagoida faagihoidon (Liu ym., 2021). Vasta-ainetuotolla katsotaan olevan suora vaikutus faagiterapian onnistumiseen. Tieto on vielä puutteellista, ja siksi immunologisten vaikutusten tutkiminen on keskeistä hoidon kehittämiseksi (Liu ym., 2021). Mahdollisten haittavaikutusten välttämiseksi faagivalmisteista on kehitettävä mahdollisimman steriilejä poistamalla endotoksiinit ja muut epäpuhtaudet, ja niissä käytettävien kantojen ominaisuudet on tunnettava tarkasti (Kortright ym., 2019; Kowalska ym., 2020; Liu ym., 2021).

Epäedullisista ominaisuuksista on mahdollista päästä eroon geeniteknikan kehityksen ansiosta (Barnard & Fairhead, 2021; Ghosh ym., 2019). Geenimuuntelun potentiaali avaa mahdollisuuksia tarkasti räätälöityjen ja tehokkaiden terapiamenetelmien kehittämiseen, mutta se tuo myös mahdollisesti uusia haasteita, jos muunnellut faagit esimerkiksi pääsevät leviämään ympäristöön (Barnard & Fairhead, 2021). Faagiterapian kannalta ihanteellinen faagi tunnistaa useita patogeenisiä lajeja (Loganathan ym., 2021), on helposti tuotettavissa ja säilytettävissä, eikä se levitä haitallisia geenejä bakteerien välillä (Kowalska ym., 2020). Geenimuuntelun kehityksen ansiosta faagien ominaisuuksia voidaan muokata (Ghosh ym., 2019), ja tulevaisuudessa niitä voidaan todennäköisesti räätälöidä täyttämään terapian vaatimukset sekä palauttamaan bakteerin herkkyys antibiootille tai faagille (Ghosh ym., 2019; Kowalska ym., 2020; Li ym., 2021).

Vaikka evoluution suunta faagiresistenssiin on väistämätöntä, on tämä noin kymmenen kertaa hitaampaa kuin resistenssin kehittyminen antibioottia vastaan, eivätkä bakteerit kehity samaan aikaan resistentiksi kaikkia muita faageja vastaan (Kowalska ym., 2020). Faagien kyky kehittyä bakteerien kilpailijana tehokkaaksi myös resistenttejä kantoja vastaan tekee niistä lupaavan vaihtoehdon antibiootteihin verrattuna. Niiden runsaus ympäristössä on rohkaisevaa uusien faagien löytämiseen verrattuna uusien antibioottien kehittämisen haastavuuteen (Kortright ym., 2019).

Koska syytä kaikkiin ristiriitaisiin hoitotuloksiin ei vielä tiedetä, kysymys siitä, tulevatko faagit olemaan suuressa mittakaavassa pääasiallinen hoitomuoto vai infektioita ennaltaehkäisevä keino, on vielä avoin (Kowalska ym., 2020). Todennäköinen lähitulevaisuuden hoitomuoto on antibiooterapian ja faagiterapian yhdistelmä (Fathima & Archer, 2021; Kortright ym., 2019; Tagliaferri ym., 2019). Nykyaikainen molekyyli- ja geeniteknologia

ja genomiikka ovat avanneet silmämme valtavalle faagien kirjolle, jossa onneksi riittää monimuotoisuutta kaikkien patogeenisten bakteerien torjumiseen (Dąbrowska, 2019). Vaikka tehokkuuden suhteen on vielä epävarmuutta, faagien suuresta kirjosta riittää paljon vaihtoehtoja uusille antibioteille ja faagien yhdistelmille, joita ei ole vielä kokeiltu. Biologisesti räätälöidyt faagit ovat mahdollisesti vastaus terapian teknisiin ongelmiin (Ghosh ym., 2019; Tagliaferri ym., 2019).

Nykypäivänä faagiterapiaa voi harjoittaa kokeellisesti Yhdysvalloissa ja EU:ssa hätätilanteissa silloin, kun mikään muu hoito ei infektion taltuttamiseen ole tepsinyt (de Miguel ym., 2020). Faagiterapia on osoittautunut toimivaksi bakteereja vastaan sekä in vivo että in vitro – tutkimuksissa, mutta hoitomuodon kehittäminen vaatii vielä paljon luotettavia kliinisiä tutkimuksia muun muassa otoskoon ja toteutuksen suhteen (de Miguel ym., 2020; Hatfull ym., 2022). Tietoa tarvitaan erityisesti faagien spesifisyydestä ja siitä, kuinka bakteerit kehittyvät vastustuskykyisiksi faageja vastaan (Hampton ym., 2020; Hatfull ym., 2022). Vasta hiljattain on löydetty uusia bakteerien puolustusmekanismeja, ja tämä viittaa tiedon olevan vielä keskeneräistä (Hampton ym., 2020). Lisäksi tarvitaan lisätietoa immunologisesta vasteesta, imeytymisestä ja jakautumisesta elimistöön (Górski ym., 2020), sekä faagien laajan käytön ympäristövaikutusten ja mahdollisista geenisiirron riskeistä (Kowalska ym., 2020). Vaikka antibioottiresistenssin yleistymisen on huolestuttava kehityssuunta, faagiterapia on jo olemassa olevan tutkimustiedon perusteella erittäin lupaava hoitomuoto antibioottien sijaan tai niiden rinnalla (Fathima & Archer, 2021; Hatfull ym., 2022; Kortright ym., 2019).

## 6. Viitteet

- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1(DEC), 134.  
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2010.00134/BIBTEX>
- Arnold, K. E., Williams, N. J., & Bennett, M. (2016). 'Disperse abroad in the land': the role of wildlife in the dissemination of antimicrobial resistance. *Biology Letters*, 12(8). <https://doi.org/10.1098/RSBL.2016.0137>
- Barnard, A. M. L., & Fairhead, H. I. M. (2021). A commentary on the development of engineered phage as therapeutics. *Drug Discovery Today*, 26(9), 2095–2098.  
<https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2021.06.013>
- Barrangou, R. (2015). The roles of CRISPR–Cas systems in adaptive immunity and beyond. *Current Opinion in Immunology*, 32, 36–41.  
<https://doi.org/10.1016/J.COI.2014.12.008>

- Bolocan, A. S., Callanan, J., Forde, A., Ross, P., & Hill, C. (2016). Phage therapy targeting *Escherichia coli*—a story with no end? *FEMS Microbiology Letters*, 363(22), 256. <https://doi.org/10.1093/FEMSLE/FNW256>
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P., Jacoby, G. A., Kishony, R., Kreiswirth, B. N., Kutter, E., Lerner, S. A., Levy, S., Lewis, K., Lomovskaya, O., Miller, J. H., Mobashery, S., Piddock, L. J. V., Projan, S., Thomas, C. M., ... Zgurskaya, H. I. (2011). Tackling antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 2011 9:12, 9(12), 894–896. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2693>
- Crofts, T. S., Gasparrini, A. J., & Dantas, G. (2017). Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. *Nature Reviews Microbiology* 2017 15:7, 15(7), 422–434. <https://doi.org/10.1038/NRMICRO.2017.28>
- Dąbrowska, K. (2019). Phage therapy: What factors shape phage pharmacokinetics and bioavailability? Systematic and critical review. *Medicinal Research Reviews*, 39(5), 2000–2025. <https://doi.org/10.1002/MED.21572>
- Davies, J. (1996). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiología (Madrid, Spain)*, 12(1), 9–16. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10/ASSET/BCBFCE98-C6B7-4543-BA59-2D24A5D2B587/ASSETS/GRAPHIC/ZMR9990922530005.JPEG>
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 74(3), 417. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- de Miguel, T., Rama, J. L. R., Sieiro, C., Sánchez, S., & Villa, T. G. (2020). Bacteriophages and Lysins as Possible Alternatives to Treat Antibiotic-Resistant Urinary Tract Infections. *Antibiotics* 2020, Vol. 9, Page 466, 9(8), 466. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9080466>
- Doss, J., Culbertson, K., Hahn, D., Camacho, J., & Berekzi, N. (2017). A Review of Phage Therapy against Bacterial Pathogens of Aquatic and Terrestrial Organisms. *Viruses* 2017, Vol. 9, Page 50, 9(3), 50. <https://doi.org/10.3390/V9030050>
- Duan, Y., Young, R., & Schnabl, B. (2021). Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1038/S41575-021-00536-Z>
- Fathima, B., & Archer, A. C. (2021). Bacteriophage therapy: recent developments and applications of a renaissance weapon. *Research in Microbiology*, 172(6), 103863. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2021.103863>
- Ghosh, C., Sarkar, P., Issa, R., & Haldar, J. (2019). Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance. *Trends in Microbiology*, 27(4), 323–338. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2018.12.010>
- Górski, A., Borysowski, J., & Międzybrodzki, R. (2020). Sepsis, Phages, and COVID-19. *Pathogens* 2020, Vol. 9, Page 844, 9(10), 844. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9100844>
- Hampton, H. G., Watson, B. N. J., & Fineran, P. C. (2020). The arms race between bacteria and their phage foes. *Nature* 2020 577:7790, 577(7790), 327–336. <https://doi.org/10.1038/S41586-019-1894-8>
- Hatfull, G. F., Dedrick, R. M., & Schooley, R. T. (2022). Phage Therapy for Antibiotic-Resistant Bacterial Infections. <https://doi.org/10.1146/Annurev-Med-080219-122208>, 73(1), 197–211. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-MED-080219-122208>

- Hutchings, M., Truman, A., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, *51*, 72–80. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2019.10.008>
- Hyman, P. (2019). Phages for Phage Therapy: Isolation, Characterization, and Host Range Breadth. *Pharmaceuticals 2019*, *Vol. 12*, Page 35, 12(1), 35. <https://doi.org/10.3390/PH12010035>
- Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host & Microbe*, *25*(2), 219–232. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2019.01.014>
- Kowalska, J. D., Kazimierczak, J., Sowińska, P. M., Wójcik, E. A., Siwicki, A. K., & Dastych, J. (2020). Growing Trend of Fighting Infections in Aquaculture Environment—Opportunities and Challenges of Phage Therapy. *Antibiotics 2020*, *Vol. 9*, Page 301, 9(6), 301. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9060301>
- Labrie, S. J., Samson, J. E., & Moineau, S. (2010). Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology 2010 8:5*, *8*(5), 317–327. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2315>
- Li, X., He, Y., Wang, Z., Wei, J., Hu, T., Si, J., Tao, G., Zhang, L., Xie, L., Abdalla, A. E., Wang, G., Li, Y., & Teng, T. (2021). A combination therapy of Phages and Antibiotics: Two is better than one. *International Journal of Biological Sciences*, *17*(13), 3573. <https://doi.org/10.7150/IJBS.60551>
- Liu, D., van Belleghem, J. D., de Vries, C. R., Burgener, E., Chen, Q., Manasherob, R., Aronson, J. R., Amanatullah, D. F., Tamma, P. D., & Suh, G. A. (2021). The Safety and Toxicity of Phage Therapy: A Review of Animal and Clinical Studies. *Viruses 2021*, *Vol. 13*, Page 1268, 13(7), 1268. <https://doi.org/10.3390/V13071268>
- Lobanovska, M., & Pilla, G. (2017). Focus: Drug Development: Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? *The Yale Journal of Biology and Medicine*, *90*(1), 135. <https://doi.org/10.1093/yjbm/bxy031>
- Loganathan, A., Manohar, P., Eniyan, K., VinodKumar, C. S., Leptihn, S., & Nachimuthu, R. (2021). Phage therapy as a revolutionary medicine against Gram-positive bacterial infections. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 2021 10:1*, *10*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S43088-021-00141-8>
- Maciejewska, B., Olszak, T., & Drulis-Kawa, Z. (2018). Applications of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: an ambitious and also a realistic application? *Applied Microbiology and Biotechnology 2018 102:6*, *102*(6), 2563–2581. <https://doi.org/10.1007/S00253-018-8811-1>
- Miethke, M., Pieroni, M., Weber, T., Brönstrup, M., Hammann, P., Halby, L., Arimondo, P. B., Glaser, P., Aigle, B., Bode, H. B., Moreira, R., Li, Y., Luzhetskyy, A., Medema, M. H., Pernodet, J. L., Stadler, M., Tormo, J. R., Genilloud, O., Truman, A. W., ... Müller, R. (2021). Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. *Nature Reviews Chemistry 2021 5:10*, *5*(10), 726–749. <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00313-1>
- Sun, D., Jeannot, K., Xiao, Y., & Knapp, C. W. (2019). Editorial: Horizontal gene transfer mediated bacterial antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, *10*(AUG), 1933. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.01933/BIBTEX>
- Tagliaferri, T. L., Jansen, M., & Horz, H. P. (2019). Fighting Pathogenic Bacteria on Two Fronts: Phages and Antibiotics as Combined Strategy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *9*, 22. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2019.00022/FULL>

- Uribe-Querol, E., & Rosales, C. (2020). Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. *Frontiers in Immunology*, *11*, 1066. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01066/BIBTEX>
- Vivas, R., Barbosa, A. A. T., Dolabela, S. S., & Jain, S. (2019). Multidrug-Resistant Bacteria and Alternative Methods to Control Them: An Overview. *Microbial Drug Resistance*, *25*(6), 890–908. <https://doi.org/10.1089/MDR.2018.0319/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE1.JPG>
- Yang, L., Bajinka, O., Jarju, P. O., Tan, Y., Taal, A. M., & Ozdemir, G. (2021). The varying effects of antibiotics on gut microbiota. *AMB Express* *2021 11:1*, *11*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S13568-021-01274-W>
- Zhang, Y., Li, C. X., & Zhang, X. Z. (2021). Bacteriophage-mediated modulation of microbiota for diseases treatment. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *176*, 113856. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2021.113856>