



UiT Norges arktiske universitet

Det Helsevitenskapelige fakultet

Bakteriofagterapi – et bærekraftig alternativ eller supplement til antibiotika

En systematisk litteraturstudie på bruk av bakteriofagterapi mot behandlingsresistente infeksjoner forårsaket av Gram-negative bakterier

Elin Helena Sollid

Masteroppgave i Medisin (MED-3950) Juni 2021

Hovedveileder: Professor Arnfinn Sundsfjord // Biveiledere: dr. Christian Giske og dr. Anni Örmälä-Odegrip

Forord

Når man vokser opp med en mikrobiolog i familien er risikoen for å utvikle en forkjærlighet for mikroorganismer stor. Min fasinasjon for mikroorganismenes usynlige verden vokste også med årene, og ledet opp til ønsket om å fordype meg i et så spennende tema som bakteriofager.

Det er paradoksalt at vi som mennesker er avhengig av bakterier for å overleve, samtidig som de er blant de dødeligste organismene på jorda. Da penicillinet ble oppdaget for snart 100 år siden fikk vi et forsprang ved å kunne kontrollere deres vekst, men nå er de på vei til å ta igjen oss.

«But I would like to sound one note of warning. ... The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.»

Alexander Fleming, Nobelforelesning, 1945

Dette prosjektet handler ikke spesifikt om antibiotikaresistens. Dog er tiden med utbredt antimikrobiell resistens her, noe som kan føre oss inn i en post-antibiotisk æra, og vi spør oss: Hva nå? Denne oppgaven er en litteraturstudie med hensikten å utforske potensialet til et lovende komplement til antibiotikabehandling; bakteriofagterapi. Med økende antimikrobiell resistens har bakteriofagterapi opplevd en renessanse i den vestlige verden og er i stadig utvikling. Det har vært spennende å fordype seg i et relativt uutforsket område som ligger i tiden.

Først vil jeg takke min hovedveileder professor Arnfinn Sundsfjord for sin verdifulle veiledning og tålmodighet. Varmt takk til mine biveiledere, dr. Christian Giske og dr. Anni Örmälä-Odegrip, som med sitt engasjement introduserte meg for bakteriofager. Til slutt vil jeg takke mamma Johanna og familien Hansen for stadig korrekturlesning og moralsk støtte.



Elin Helena Sollid
Lund, 01.06.2021

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	5
Nomenklatur og forkortelser	6
1 Innledning	1
1.1 Hva er antimikrobiell resistens?	1
1.2 Prioriterte patogene bakterier i klinikken	3
1.3 Behov av nye muligheter	5
1.4 Bakteriofager	6
1.5 Bakteriofagterapi	8
1.6 Formål	13
2 Materiale og metode	15
2.1 Litteratursøk	15
2.2 Seleksjon av artikler	16
2.3 Referanser fra utvalgte artikler	16
3 Resultat	17
3.1 Populasjon	17
3.2 Infeksjon	21
3.3 Behandling	22
3.4 Behandlingsresultat	23
4 Diskusjon	24
4.1 Hvilke utfordringer skal bakteriofagterapi bidra til å løse?	24
4.2 Dosering, administrasjon og sammensetning av bakteriofagterapi	26
4.3 BAS: Bakteriofag-antibiotika-synergi	29
4.4 Utfordringer ved bakteriofagterapi	32
4.5 Blikket fremover	34
4.6 Styrker og svakheter ved denne studien	35
5 Konklusjon	36
Referanseliste	37
Vedlegg: Kunnskapsevaluering	1

Tabelliste

Tabell 1. Et utvalg publiserte studier der bakteriofagterapi er brukt mot Gram-negative bakterier	12
Tabell 2. Pågående og nylig fullførte* studier på bakteriofagterapi (* i løpet av 2019-2020)	13
Tabell 3. Inklusjons- og eksklusjonskriterier for seleksjon av artikler	15
Tabell 4. Oversikt over kasusrapporter med klinisk bruk av bakteriofagterapi mot MDR Gram-negative bakterier (30, 34, 35, 38, 41, 49-65)	17

Figurliste

Figur 1: Illustrert T4 E. coli bakteriofag (Illustrasjon: Elin Helena Sollid).	6
Figur 2: Bakteriofagens lytiske og lysogene livssyklus (Illustrasjon: Elin Helena Sollid).....	7
Figur 3. Søkeord og antall artikkeltreff i MEDLINE og EMBASE.	15
Figur 4. Flytdiagram for seleksjon av artikler.	16
Figur 5. Fordelingen av pasientenes diagnoser i kasusrapportene.	21
Figur 6. Fordelingen av angitte infeksjøs agens i kasusrapportene.	22

Sammendrag

Bakgrunn: Overdreven bruk av antimikrobielle midler har ført til utbredt seleksjon og spredning av antimikrobiell resistens i klinisk viktige bakterier. Når tradisjonelle antimikrobielle midler svikter i infeksjonsbehandling, øker både morbiditet og mortalitet hos pasientene, og det finnes få behandlingsalternativ. Bakteriofagterapi har kommet i søkelyset som et mulig alternativ, eller supplement, til tradisjonelle antimikrobielle midler. Formålet med denne oppgaven er å gjøre et systematisk litteratursøk på bruk av bakteriofagterapi mot infeksjoner forårsaket av Gram-negative bakterier for å undersøke: hvem behandlingen brukes på; hvordan behandlingen utføres; hvilke utfordringer bakteriofagterapi står ovenfor; og hva som må til for å videreutvikle bakteriofagterapi.

Materiale og metode: Litteratursøket ble gjennomført februar 2021 i databasene MEDLINE og EMBASE. Søket fulgte PRISMA-modellen for systematiske søk og var sammensatt av tre deler, der søkeordene «*Gram-negative bacteria/bacterial infections*» «*Bacteriophage/Phage therapy*» og «*Case report*» ble kombinert. Inklusjons- og eksklusjonskriterier ble definert. Etter seleksjonen besto datagrunnlaget av 22 artikler, med totalt 26 kasuistikker.

Resultater: Pasientene hadde behandlingsresistente infeksjoner, ofte etter kirurgi og/eller innsatt fremmedlegeme. De to vanligste patogene bakteriene var *Pseudomonas aeruginosa* og *Klebsiella pneumoniae*. Samtlige var svært antibiotikaresistente. Gjennomsnittlig ble det gitt 157 doser bakteriofagterapeutika med en konsentrasjon på $\sim 10^8$ PFU/dose over en periode på 34 dager. Den vanligste administrasjonsformen var intravenøs. 24 pasienter fikk bakteriofagterapi i kombinasjon med tradisjonelle antimikrobielle midler. Majoriteten av behandlingene (76,9 %) var vellykkede, som definert ut fra varig klinisk bedring og mikrobiell sanering.

Konklusjon: Bakteriofagterapi benyttes som nødbehandling, ofte på immunsvekkede pasienter med svært antibiotikaresistente kroniske infeksjoner assosiert med biofilmdannelse. Det er store variasjoner i utførelsen av bakteriofagbehandling. Flere utfordringer ved bakteriofagterapi er knyttet til uvissheten rundt bakteriofagens farmakokinetikk og -dynamikk, samt lovverket knyttet til bruk av bakteriofager som legemiddel. For å utvikle behandlingsformen videre bør legemiddelreguleringen tilpasses bakteriofagens egenskaper, større strukturerte studier utføres og bakteriofagbibliotek opprettes for å øke kunnskapsgrunnlaget for og tilgjengeligheten av behandlingen.

Nomenklatur og forkortelser

AMR = Antimikrobiell resistens

CF = Cystisk fibrose

ESBL = Ekstendert spektrum β -laktamaser

Ex vivo = Utenfor kroppen

In vivo = i kroppen

GMP = Good manufacturing practice

LPS = Lipopolysakkarid

MDR = Multi drug resistance

XDR = Extensive drug resistance

PDR = Pan drug resistance

ORF = Open reading frame

PFU = Plaque forming units

UVI = Urinveisinfeksjon

YM = Yttermembran

1 Innledning

Verden har endret seg på mange måter siden introduksjonen av antibiotika i klinisk bruk for 90 år siden. Antimikrobielle midler har lagt til rette for enorme fremskritt innen moderne medisin, for eksempel innen infeksjonsbehandling, profylaktisk ved medikamentell immunsuppresjon og kirurgisk, men også innen matproduksjon. Dessverre har overforbruk og misbruk av antimikrobielle midler ført oss inn i en tid med utbredt antimikrobiell resistens (AMR). Samtidig fører globalisering til økt spredning av resistente organismer. Selv om problemet med AMR i Norge ikke er kritisk i dag, sliter land over hele kloden med utbredt resistens og behandlingssvikt på grunn av langvarig ukritisk overforbruk (1). Dette kan lede inn i en ny pre-antibiotisk æra med økt morbiditet og mortalitet i mangelen på effektive antimikrobielle behandlingsalternativ. Dette øker behovet for nye behandlingsstrategier, der bakteriofagterapi har vist seg som et lovende alternativ.

1.1 Hva er antimikrobiell resistens?

AMR er en naturlig del av mikrobiologien. I et kappløp over milliarder av år om «survival of the fittest» har mikroorganismer blitt naturlig selektert. De som best tolererer ytre påkjenninger og tilpasser seg, viderefører sine gener (2). Det er samme mekanismer som ses ved antimikrobiell resistens i klinisk sammenheng. AMR er observert blant annet mot antibiotika, antimykotika og desinfeksjonsmidler, samt antimalaria og anti-HIV-legemidler. Nye aspekt ved AMR oppdages stadig. Forskning har vist at eksponering for kvartære ammoniumforbindelser – vanlige desinfeksjonsmidler – selekterer for resistens mot kvartære ammoniumforbindelser, men også for andre resistensformer hos visse bakterier (3).

Bakterier kan være naturlig resistent eller tilegnet resistent mot et antimikrobielt middel (4). Tilegnet resistens oppstår enten gjennom endogene prosesser, der spontane punktmutasjoner i arvestoffet fører til økt toleranse for det antimikrobielle midlet, eller gjennom eksogene mekanismer, via horisontal genoverføring; konjugasjon, transduksjon eller transformasjon (4). Endogen resistens forekommer særlig under subterapeutiske doser av antimikrobielle midler der det ytre stresset presser bakterien til mutasjoner (4). Mellommenneskelig kontakt er en viktig faktor i spredningen av resistente bakterier. Samtidig kan avløpsvann som inneholder resistente bakterier, eller rester av antimikrobielle midler, drive spredningen ytterligere (5). En stor del av verdens antibiotikabruk skjer innenfor moderne kjøttproduksjon, men med et ikke-terapeutisk formål. Subterapeutiske doser antibiotika øker utbyttet fra dyreholdet, men kan også være direkte og indirekte skadelig for mennesker (6). Mennesker påvirkes direkte via fortæring

av kjøtt med høy antibiotikakonsentrasjon og indirekte gjennom økt AMR-utvikling. Utviklingen av antibiotikaresistens må derfor forstås i et ÉN-HELSE-perspektiv – One Health (7).

Resistensgener foreligger ofte som resistens-plasmid (R-plasmid) – ringformede DNA-molekyler utenfor bakteriens kromosom – men kan også være integrert i kromosomet. R-plasmid øker muligheten for spredning av resistensgener mellom bakterier gjennom horisontal genoverføring, blant annet innoim mikrobiomet i tarmen, der AMR kan vedvare over tid (8). Samtidig kan plasmid kode for flere resistensmekanismer mot ulike klasser antimikrobielle midler (9). ECDC (European Centre of Disease Prevention and Control) og CDC (Centers for Disease Control and Preventions) definerte følgende i 2011: MDR (multi-drug resistance) betegner bakteriell resistens mot én eller flere antimikrobielle midler i tre eller flere antimikrobielle kategorier; XDR (extensive drug resistance) er bakterier resistente mot minst ett antimikrobielt middel i alle kategorier utenom to eller færre; PDR (pan drug resistance) er bakterier resistente mot samtlige midler i alle antimikrobielle kategorier (10).

1.1.1 Resistensmekanismer

AMR medieres ofte gjennom én eller flere av følgende mekanismer: enzymer som inaktiverer antimikrobielle substanser; redusert cellulært opptak; økt effluks og endret målsete (4). ESBL (ekstendert spektrum- β -laktamaser) er en gruppe enzymer som inaktiverer antimikrobielle midler i gruppene penicilliner og cefalosporiner og/eller karbapenemer. Det vanligste ESBL-enzymet er CTX-M (11). Karbapenem-resistens medieres av ofte av karbapenemase-enzymmer. Tetracyklinresistens (*tet*(A-H)) i Gram-negative bakterier er mediert gjennom effluks (4). Resistens mot fluorokinoloner kan medieres gjennom mutasjon i *gyrA* som endrer målsetet på DNA gyrase, eller gjennom redusert membranpermeabilitet i Gram-negative bakterier (4).

1.1.2 Hvorfor er AMR et problem?

Infeksjoner med resistente bakterier medfører høyere risiko for sykdom og død sammenliknet med infeksjoner med bakterier sensitive for antimikrobielle midler (1). Dette kommer av risikoen for behandlingssvikt og dermed økt sykdomslengde. Byrden av AMR er ikke jevnt fordelt over verden. I Malawi var majoriteten av Gram-negative bakterier – dyrket fra blodkulturer ved mistanke om sepsis – ESBL-produserende eller fluorokinolon-resistente i 2016 (12). Dette er en eksplosiv økning siden 2003 og et stort problem, da mangelen på ressurser begrenser behandlingsmulighetene. Problemet er dog ikke begrenset til

lavinnkomstland. I Europa har forekomsten av MDR-bakterier økt siden 2007, og forårsaker økt morbiditet og mortalitet, særlig i Hellas og Italia (13).

Infeksjoner med MDR-bakterier øker bruken av bredspektrede antimikrobielle midler (14). Bredspektrede antimikrobielle midler kaster større økoskygge – påvirker en større gruppe bakterier enn den tilsiktede – og affiserer derfor normalfloraen mer enn smalspektrede, ofte eksemplifisert av klindamycin-indusert pseudomembranøs kolitt forårsaket av *Clostridium difficile* (4). Med sviktende empiriske behandlingsregimer øker også behovet av «siste utvei»-medisiner som karbapenem og tigezyklin, men også aminoglykosid, polymyxin E (colistin) og linezolid, med økt fare for skadelige bivirkninger som myopati, ototoksisitet, samt nyre- og nerveskader (15). Samtidig vanskeliggjør AMR annen medisinsk behandling. Mangel på effektive antimikrobielle midler gjør kirurgi, cytostatika og andre immunkompromitterende behandlinger livsfarlige.

1.2 Prioriterte patogene bakterier i klinikken

World Health Organization (WHO) publiserte i 2017 en liste over prioriterte patogene bakterier der behovet for nye antimikrobielle midler er størst. Mange av mikrobenes i listen inngår også i akronymet ESKAPE – kort for *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Enterobacter spp* – som betegner mikrobenes evne til å unngå antimikrobielle midler. Rangert som de mest kritiske var de Gram-negative, karbapenemresistente *A. baumannii*, *P. aeruginosa* og *Enterobacterales*, som er familien der blant annet *Escherichia coli* og *K. pneumoniae* tilhører.

1.2.1 Gram-negative bakterier

Gram-negative bakterier skilles fra Gram-positive ved en yttermembran (YM) utenfor et tynnere peptidoglykan-lag. YM fungerer som en effektiv barriere mot utsiden og begrenser permeabiliteten for ekstracellulære substanser, blant annet antimikrobielle midler. For å komme forbi den ytre membranen må substanser enten brytes ned til mindre bestanddeler og diffundere over gjennom poriner i YM eller fraktes gjennom via aktive transportmekanismer (16). AMR i Gram-negative bakterier er ofte mediert via β -laktamaser og effluks-pumper, samt endret membranpermeabilitet, hvilket gjør dem vanskeligere å angripe enn Gram-positive bakterier. *K. pneumoniae* og *P. aeruginosa* har sentrale roller i henholdsvis spredningen og akkumuleringen av resistensgener og -mekanismer, og er derfor utdypet videre i teksten.

1.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae er en stavformet Gram-negativ bakterie i familien *Enterobacterales*. Bakterien er en opportunist i den humane normalfloraen og et vanlig patogen i både samfunnservede og nosokomiale (sykehuservede) infeksjoner; oftest hos barn, eldre og immunsvekkede. I mennesket forårsaker *K. pneumoniae* vanligvis urinveisinfeksjoner (UVI), men kan også føre til alvorlig pneumoni, osteomyelitt, bakterieemi og sepsis. *K. pneumoniae* har flere virulensfaktorer, deriblant fimbrieadhesiner og en tykk kapsel. Disse øker adhesjon og evnen til å unnsnippe immunforsvaret, samt forsterker dens invasive potensial (5).

I Norge ses en økning i prevalensen av ESBL-produserende *K. pneumoniae* og *E. coli*; i 2019 var andelene henholdsvis 7,3 % og 7,1 % av alle blodisolat (17). Samtidig økte kolonisering og infeksjoner med karbapenemase-produserende Gram-negative bakterier (17). I Europa er forekomsten av karbapenem-resistente *K. pneumoniae* seks ganger høyere enn karbapenem-resistente *E. coli* (2015), og død forårsaket av karbapenemase-produserende *K. pneumoniae* var det seksdoble i 2015 sammenliknet med i 2007 (13).

En av hovedgrunnene til at *K. pneumoniae* er viktig i sammenheng med AMR, er dens evne til å samle og spre resistensgener (5). Enzymet *K. pneumoniae* karbapenemase (KPC) ble oppdaget for første gang i et isolat av *K. pneumoniae* i 2001. Siden den gang er KPC funnet i flere Gram-negative bakterier, blant annet *E. coli* og *P. aeruginosa* (15). I dag er KPC den tredje vanligste karbapenemase i Norge blant *Enterobacterales*, etter henholdsvis NDM og OXA-48-like (17). KPC-produserende bakterier er ofte resistent mot flere antibiotikaklasser, deriblant aminoglykosider og fluorokinoloner, med sensitivitet begrenset til kun colistin og til dels tigecyklin (18). Dette begrenser behandlingsmulighetene av infeksjoner med KPC-produserende bakterier betydelig.

1.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa er en stavformet Gram-negativ bakterie som finnes i både jord og vann, samt koloniserer mennesker og dyr. *P. aeruginosa* er en kapselproduserende, fakultativ anaerob som kan overleve i oksygenfattige og ekstreme miljøer. Den klarer å overleve og formere seg i høye konsentrasjoner av antimikrobielle løsninger (19); bryte ned polymerer fra en mengde ulike organiske stoffer til næring, for eksempel hydrokarboner i diesel; samt overleve dypt nede i viskøst slim, som ved cystisk fibrose (CF) (5, 20). Bakteriens bemerkelsesverdige tilpasningsevne gjør at den kan trives i sykemiljø, og er derfor et vanlig agens i nosokomiale infeksjoner (5).

P. aeruginosa regnes som en opportunistisk bakterie og forårsaker nesten utelukkende infeksjoner hos immunsvekkede pasienter, typisk ved CF og brannskader (5, 20). Selv om majoriteten av *P. aeruginosa*-isolater er sensitive for relevante antimikrobielle midler i Norge, er en økende andel av blod-isolatene resistente mot karbapenemer, der de samme isolatene ofte er samtidig resistente mot flere betalaktamer (17). Dette kan skyldes bakteriens evne til å akkumulere kromosomale mutasjoner, samt samle på resistengener, som resulterer i bærerskap av flere ESBL og karbapenemaser (9).

P. aeruginosa har et arsenal av virulensfaktorer som kan opp- og nedreguleres. Flageller og pili gjør den henholdsvis bevegelig og øker adhesjon, samtidig som de i likhet med LPS kan virke immunreaktive (20). I akutte infeksjoner øker bakterien utskillelsen av enzymer, som ødelegger epitelbarrieren, samt substanser som forstyrrer vertens elektrontransport og binder jern, hvilket øker dissemineringen av bakterien. Ved kronifisering av infeksjoner nedregulerer bakterien derimot mange av virulensfaktorene, men øker biofilmdannelsen (20).

1.2.3.1 Biofilm

Biofilm er en viktig forsvarsmekanisme for mange bakterier, og den dannes gjennom utskillelse av ekstracellulære polymere substanser (lipider, polysakkarider, proteiner og nukleinsyrer) (21). Slik oppstår et bakteriesamfunn tilrettelagt for bakteriell symbiose med beskyttelse fra ytre påvirkning, for eksempel i form av immunforsvaret, antibiotika og mekanisk stress. Biofilmen gjør bakteriene generelt mer motstandskraftige og skaper utfordringer i infeksjonsbehandling. Biofilm er blant annet impermeabel for mange antimikrobielle midler, som dermed ikke kommer til bakteriene. Bakteriesamfunnet kan også samle sine resistensmekanismer, som medfører en utvidet resistens mot antimikrobielle midler (22). Samtidig kan saktevoksende bakterier («persister cells») i biofilmen ha så lav metabolsk aktivitet at de tolererer bakteriostatiske antimikrobielle midler som angriper metabolsk aktive bakterier (23). Ved introduksjon av fremmedlegemer i kroppen øker risikoen for biofilmdannelse (16).

1.3 Behov av nye muligheter

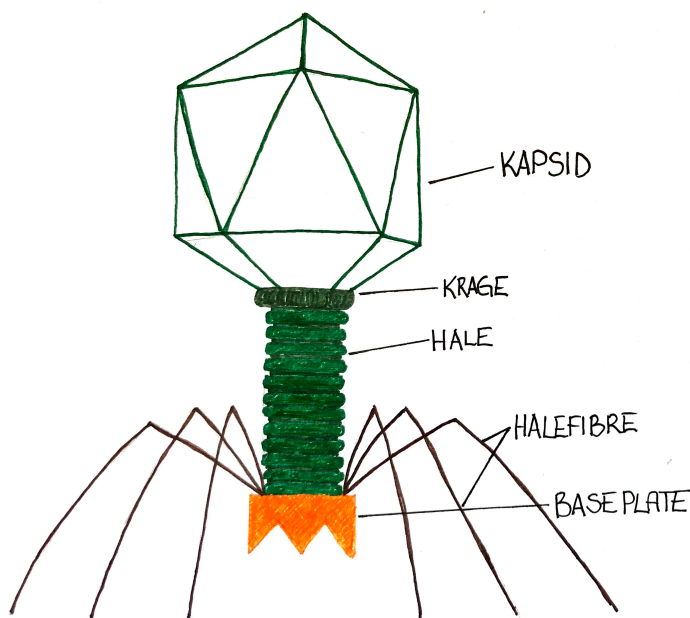
AMR er ikke et nytt problem, men stadig utvikling av nye antimikrobielle midler i løpet av nittenhundretallet utsatte krisen vi er inne i nå. Til tross for flere myndigheters oppfordringer til forskning og utvikling er ingen nye klinisk viktige antibiotikagrupper beskrevet siden 1980-tallet (1). Utvikling av nye antimikrobielle midler er ikke lukrativt for legemiddelbedrifter; forskning og kliniske studier er kostbare, uten garanti for suksess, og nye antimikrobielle midler

på markedet klassifiseres som «siste utvei»-midler, som kun skal brukes når høyst nødvendig (5). Samtidig utvikler bakteriene resistens fortløpende. For å ikke havne i en post-antibiotisk æra er vi i behov av nye alternative behandlingsstrategier, enten som supplement til eller erstatning for tradisjonelle antimikrobielle midler.

1.4 Bakteriofager

Allerede i 1915 publiserte Frederick Twort en vitenskapelig beskrivelse av bakteriolytiske enheter (24). To år senere observerte Félix d'Hérelle sirkulære oppklaringer i bakteriedyrkninger fra pasienter med dysenteri, som han antok var forårsaket av en usynlig mikrobe som drepte bakteriene. Han ga den navnet bakteriofag («bakeriespiser») (25). I følgende år ble bakteriofagterapi mye omtalt og undersøkt, men Alexander Flemings oppdagelse av penicillin i 1928 bremsset utviklingen av bakteriofagterapi i vestlige land. Forsøkene fortsatte i Sovjetunionen, og siden er det hovedsakelig land i Øst-Europa – særlig Russland, Georgia og Polen – som har brukt bakteriofagterapi klinisk (26).

Bakteriofager er virus som infiserer og replikerer i bakterier. Som de mest forekommende enhetene på jorda eksisterer de naturlig omtrent over alt. Bakteriofager har utviklet seg parallelt med bakterier gjennom evolusjonen og det har gjort dem til eksperter på hverandre.



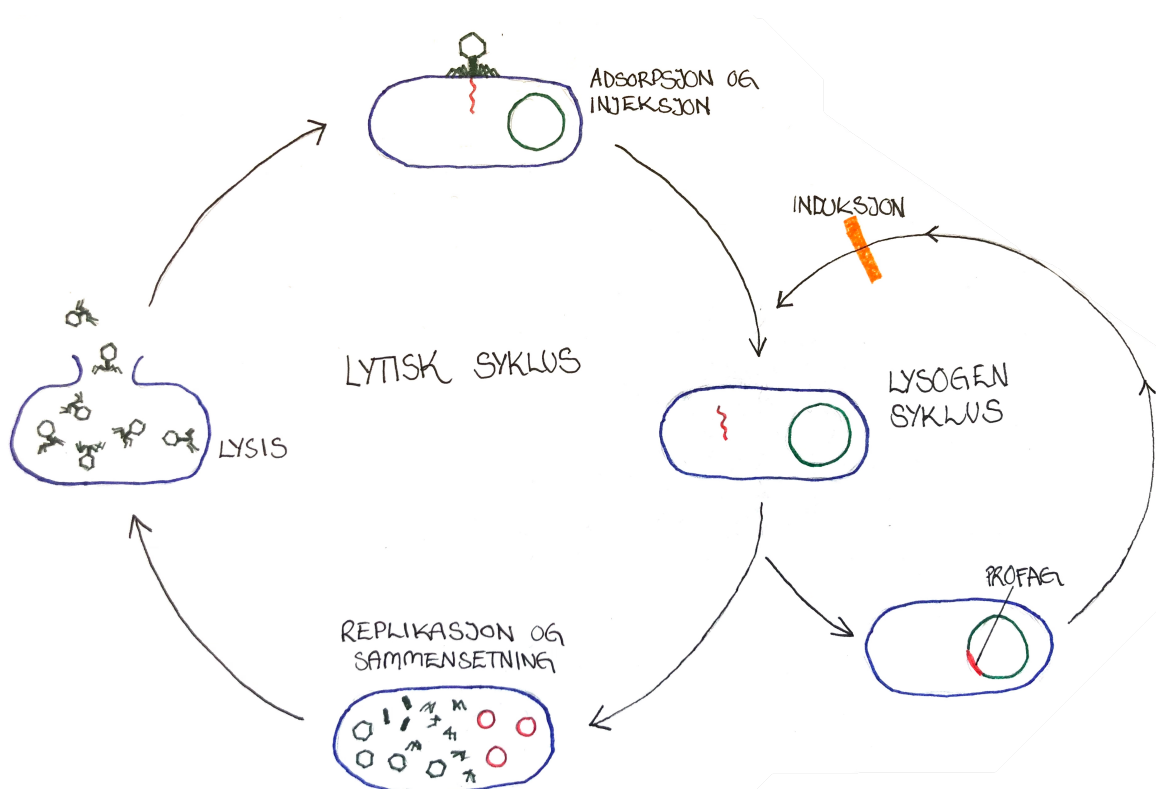
Figur 1: Illustrert T4 *E. coli* bakteriofag (Illustrasjon: Elin Helena Sollid).

1.4.1 Bakteriofagens oppbygging

Selv om bakteriofagenes oppbygging kan variere, består de i all hovedsak av sitt arvestoff (DNA/RNA) innpakket i et kapsidhode, samt en hale med en baseplate på. Figur 1 viser en *E. coli* T4 bakteriofag, med karakteristiske halefibre og en krage. Bakteriofagenes arvestoff foreligger hovedsakelig som dobbelstrengt DNA. Dette gir bakteriofagen mulighet til å utnytte det prokaryote replikasjonsmaskineriet, uten behov for egne replikasjonsenzym (22).

1.4.2 Bakteriofagens livssyklus

Bakteriofagens livssyklus (Figur 2) begynner med adsorpsjon. Bakteriofagen fester seg til vertsbakterien ved å presentere en ligand (baseplaten) som samsvarer med en reseptor på bakterien. Deretter injiserer bakteriofagen arvestoffet inn i bakteriecellen, mens kapsidet og halen forblir festet på overflaten. Bakteriofagen tar så over bakteriens replikasjonsmaskineri, og begynner syntese og sammensetting av nye viruspartikler. Til slutt produseres enzymer som perforerer bakteriens cellevegg og induserer bakterielysis. Nye virion spres ut i det intercellulære rommet og kan infisere nye bakterier (22). Under ideelle forhold tar hele den lytiske syklusen omtrent 22 minutter for en *E. coli* T4 bakteriofag, der omtrent 150 nye bakteriofager er produsert per infiserte vertscelle (22).



Figur 2: Bakteriofagens lytiske og lysogene livssyklus (Illustrasjon: Elin Helena Sollid).

Bakteriofager deles inn i to typer avhengig av livssyklusen: obligat lytiske og temperate lysogene bakteriofager (Figur 2). Forskjellen er at temperate bakteriofager kan inngå i en lysogen livssyklus ved å integrere seg i bakteriens arvestoff og ligge latent som en *profag*. Profagen koder for gener som gjør bakterien resistent mot andre bakteriofager (27). Ved ytre stress kan profagen induseres og gå inn i den lytiske syklusen. Lytiske bakteriofager vil derimot gå rett inn i den lytiske syklusen, med replikasjon og lysing av vertsbakterien, uten å integrere seg i bakteriens arvestoff.

I motsetning til antibiotika er bakteriofagen ytterst selektiv, ofte begrenset til én enkelt bakterieart eller til subpopulasjoner (spesifikke sekvenstyper) av denne. Bakteriofagens reseptor er en struktur på bakteriens overflate, for eksempel som en del av LPS, kapsel, transportproteiner, flageller og pili (22). Gjennom utvikling har bakteriofager selektert reseptorer som ofte er vitale for bakterien, og derfor vanligvis presentert på overflaten. Ved å endre reseptormolekylet kan bakterien hindre bakteriofagens bindingsmulighet, men også selv lide av konsekvensene. Dette vanskeliggjør bakteriens forsvar, men sikrer bakteriofagens mulighet til å reinfisere vertsbakterien (22). Dog har bakterien andre metoder for å stoppe bakteriofaginfeksjoner.

1.4.2.1 CRISPR-Cas

CRISPR-Cas er bakteriens adaptive immunsystem som tillater bakterien å tilegne seg resistens mot bakteriofager uten å måtte endre seg gjennom spontane punktmutasjoner (27). Gjennom samling av fremmede DNA-fragment i CRISPR-systemet kan bakterien gjenkjenne disse ved fremtidige bakteriofaginfeksjoner med liknende DNA, som deretter klippes og inaktiveres av gensaksen Cas (27). Dog kan bakteriofager hemme CRISPR-Cas-systemet gjennom anti-CRISPR-proteiner (28). Bakterier og bakteriofager utvikler seg stadig for å omgå hverandres forsvarsmekanismer. Artikkelen publisert av Ofir *et al.* (27) utdyper samspillet mellom bakterier og bakteriofager.

1.5 Bakteriofagterapi

Bakteriofagterapi er definert som «administrasjon av lytiske bakteriofager direkte inn i en pasient med hensikt å lysere den patogene bakterien som forårsaker en klinisk relevant infeksjon» (29). *In vivo* amplifiserer bakteriofagen seg selv i nærvær av vertsbakterier, men er også tilsvarende selvbegrensende i fravær av verten (30). I teorien vil bakteriofager finnes så lenge vertsbakterien er til stede. Likevel er utvikling av bakteriofagresistente bakteriemutanter uunngåelig. Studier har vist at bakteriers mutasjonsrate mangedobles i nærvær av infeksiose

bakteriofager (31). For å forsinke resistensutvikling, og således forlenge den terapeutiske effekten, administreres ofte bakteriofager i cocktails med to eller flere bakteriofager (31).

1.5.1 Produksjon av bakteriofager

Virus kan ikke dyrkes selvstendig på grunn av deres manglende reproduksjonsevne ekstracellulært. Derfor dyrkes de sammen med sin vertscelle, forutsatt at vertscellen er dyrkbar. Lytiske bakteriofager er relativt enkle å dyrke. Først blandes bakterier og bakteriofager i en buljong. Med tiden vil flere bakterier infiseres og lyses, mens virion frigjøres ut i buljongen. I områdene med bakterielysis dannes sirkulære oppklaringer i den ellers blakkede buljongen – kalt virale plakk. Dette fenomenet brukes for å indirekte estimere antallet bakteriofager. En prøve tas fra ett enkelt plakk, som systematisk fortynnes og blandes med vertsbakterien. Deretter inkuberes blandingen slik at viruset fester til vertscellen, før blandingen utplates i et monolag. Igjen dannes plakk. Under antagelsen av at ett plakk er dannet av én bakteriofag, kan plakkformerende enheter (Plaque Forming Units, PFU) estimeres i den opprinnelige plakkprøven. Antallet PFU er proporsjonel til antallet bakteriofager i fortynningene (22).

Bakteriofager forekommer der vertsbakterien er (32), og ofte i flertall i forhold til verten (33). Derfor høstes ofte bakteriofager til humane patogene bakterier i avløpsvann (32), før de testes og sekvenseres. For å underlette produksjonen av bakteriofagterapeutika kan man «arkivere» sekvenserte og rensede bakteriofager i bibliotek etter tilhørende vertsbakterie. Fra biblioteket kan bakteriofager enkelt hentes frem og testes mot de patogene bakteriene i hvert individuelle tilfelle. Deretter utvelges den/de mest effektive bakteriofagen(e), for å danne bakteriofagproduktet med én eller flere bakteriofager (cocktail) – såkalt vertstilpasset bakteriofagterapi. I bibliotekene kan man også ha standardiserte bakteriofagcocktails, som skal dekke klinisk viktige stammer. For eksempel er AB-PA01, bestående av fire lytiske bakteriofager, testet for å være aktiv mot omtrent 80 % av over 400 globalt kliniske *P. aeruginosa*-isolater (34). Fordelene med standardiserte cocktails er blant annet kostnads- og tidseffektivitet.

1.5.2 Fordeler ved bakteriofagterapi

Det er mange fordeler med bruk av bakteriofager som antimikrobiell terapi. For det første kan ikke bakteriofager infisere eukaryote celler, og er derfor ikke direkte skadelige for mennesker. Det er ikke meldt om alvorlige bivirkninger eller allergiske reaksjoner mot bakteriofagterapi. Til sammenlikning er mange antimikrobielle midler forbundet med bivirkninger, særlig ved langvarig bruk. For det andre kaster bakteriofager tilnærmet ingen økoskygge på grunn av sin

spesifisitet og – i motsetning til tradisjonelle antimikrobielle midler – påvirker bakteriofager ikke mikrobiomet (35). Bevaring av pasientens normalflora er viktig i klinisk sammenheng, da den beskytter pasienten fra kolonisering av fremmede patogene bakterier og påvirker menneskets helse (36).

For det tredje finnes bakteriofager som er aktive mot Gram-positive, -negative og antibiotikaresistente bakterier, og de rammes ikke av resistensmekanismene mot tradisjonelle antimikrobielle midler. Selv om bakterier raskt tilegner seg bakteriofagresistens, eksisterer nesten et ubegrenset antall bakteriofager, som gjør at nye klinisk relevante bakteriofager stadig kan isoleres (31). I tillegg er det mulig å «trene» bakteriofager (koevolusjon) for å øke bakteriofagens affinitet til bakterien, og på den måten forbigå resistensen (37). Bakteriofager har også vist å fungere som et adjuvant for immunforsvaret og kan dermed modulere immunforsvarets inflammatoriske respons (38).

1.5.3 utfordringer ved bakteriofagterapi

På grunn av bakteriofagens spesifisitet er identifikasjon av bakterien som forårsaker infeksjonen essensielt for å lykkes med bakteriofagterapi. Dyrkning og sekvenstypebestemmelse er tidskrevende; tid som ikke finnes i situasjoner med akutt behov for antimikrobiell terapi. På den andre siden er kroniske sår ofte polymikrobielle. Siden bakteriofager kun dreper sin egen vert, kan andre bakterier overleve.

Temperate bakteriofager kan overføre gener mellom bakterier, gjennom integrering og transduksjon. Blant annet kan gener for virulens og resistens deles, og dermed øke virulens og AMR i vertsbakterien, som igjen kan påvirke mennesket negativt (39). Derfor brukes kun lytiske bakteriofager i bakteriofagterapi. Dog er det beskrevet genmodifisering av temperate bakteriofager som er omgjort til klinisk anvendbare lytiske bakteriofager, gjennom fjerning av gener for integraser og endotoksiner (40, 41). Lytiske bakteriofager kan også bære på gener for skadelige toksiner. Av den grunn må samtlige bakteriofager sekvenseres og renses for potensielt skadelige gener før klinisk bruk.

En annen bekymring ved bakteriofagterapi er risikoen for skadelig endotoksinfrigjøring ved massiv lysis av Gram-negative bakterier – særlig under intravenøs administrering av bakteriofager – hvilket kan forårsake endotoksisk sjokk og død (42). Derfor finnes europeiske retningslinjer for mengden endotoksiner som tillates frigjort under bakteriofagterapi. Skadelig endotoksinfrigjøring er likevel ikke blitt observert i praksis (42). Studien publisert av Dufour

et al. (43) målte større endotoksinfrigjøring ved bruk av enkelte tradisjonelle antimikrobielle midler enn ved bakteriofager under *in vitro* lysis av *E. coli*. Risikoen for skadelig endotoksinfrigjøring er en begrensende faktor i kontrollen, produksjonen og bruken av bakteriofagterapeutika (26, 42).

Bakteriofager må være potente og trygge for klinisk bruk. Det er dog mange ukjente farmakokinetiske og farmakodynamiske mekanismer i bakteriofagterapi som må utredes videre (31). Bakteriofagterapi er ikke tillatt som antimikrobiell terapi; dette på grunn av mangelfull dokumentasjonen og validitet. Dette kompliserer reguleringen av bakteriofagterapi.

1.5.4 Regulering av bakteriofagterapi

European Medicines Agency (EMA) – hvilkets reglement det norske legemiddelverket er underlagt – klassifiserer naturlige bakteriofager som et medisinsk produkt, mens Food and Drug Administration (FDA) i USA definerer bakteriofager som et legemiddel. Begge klassifiseringene innebærer strenge krav på trygghet, effektivitet og kvalitet, samt høye krav til produksjon, som skal være klart definert, kontrollert og utført av autoriserte produsenter – ofte refereres til retningslinjene Good Manufacturing Practice (GMP) (44).

Bakteriofager er naturlig forekommende enheter, hvilket begrenser muligheten til å patentere dem etter dagens legemiddelpraksis, og det i sin tur gjør bakteriofag-høsting, sekvensering og produksjon relativt billig og tilgjengelig (26). I tillegg gjør bakteriofagens diversitet produksjonen av bakteriofagterapeutika vanskelig å standardisere på linje med andre legemidler. GMP øker kostnadene og tidsbruken for produksjonen av bakteriofagprodukter betydelig (26). Dette kan underlettes gjennom standardisering av produksjonen, blant annet med bakteriofagbibliotek og ferdiglagde cocktails.

Til tross for at bakteriofagterapi ikke offisielt er en validert behandling, øker stadig bruken gjennom individuelle søknader i nødsituasjoner – «compassionate use» (legemidler på godkjeningsfritak) – og i studier. Ved et av de mest erfarne senterne for bakteriofagterapi i Europa, Ludwik Hirsfeld Institute for immunologi og eksperimentell terapi i Wroclaw, Polen, utføres bakteriofagterapi under Artikkel 37 i Helsinki-deklarasjonen (45). Siden 1970-tallet har de utført eksperimentell bakteriofagterapi og innehar et bakteriofagbibliotek med bakteriofager mot 15 ulike patogene bakterier (26). Bakteriofager ble i 2006 klassifisert som trygt innenfor visse deler av matproduksjon av FDA (46). I Sveits, Australia og New Zealand er også enkelte kommersielle bakteriofagprodukter tillatte innen matproduksjon (46).

1.5.5 Utførte studier på samme område

Til dags dato er randomiserte kliniske studier (RCT) av bakteriofagterapi et ganske utforsket område. Flere studier er pågående, og flere er ventet i kommende år. Det finnes dog noen relaterte kliniske studier som er avsluttede og publiserte i engelskspråklige tidsskrifter. Et utvalg er presentert herunder i Tabell 1, samt inkludert i kunnskapsevalueringen (se vedlegg). Disse studiene testet bakteriofagterapi mot Gram-negative bakterier i forbindelse med infeksjonsbehandling, desinfisering og toleransetesting. Studiene i Tabell 1 er ikke en del av analyse materialet i denne oppgaven, men det vil bli henvist til disse i diskusjonsdelen.

Tabell 1. Et utvalg publiserte studier der bakteriofagterapi er brukt mot Gram-negative bakterier.

Studietittel	Studie-design ^a	Formål
Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase ½ trial	RCT	Undersøke effektiviteten og toleransen av en cocktail med anti- <i>P. aeruginosa</i> bakteriofager i forhold til standard behandlingsregime hos brannskadede.
A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; a preliminary report of efficacy	RCT	Undersøke effektiviteten og tryggheten ved terapeutisk bruk av bakteriofagterapi mot antibiotika-resistent <i>P. aeruginosa</i> mot kronisk otitt
Human Volunteers Receiving <i>Escherichia coli</i> Phage T4 Orally: a Safety Test of Phage Therapy	RCT	Undersøke tryggheten og toleransen ved oralt administrerte T4 <i>E. coli</i> -bakteriofager
Application of Bacteriophage-containing Aerosol against Nosocomial Transmission of Carbapenem-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> in an Intensive Care Unit	Avbrutte tidsserier	Undersøke effekten av miljø-desinfeksjon med bakteriofager i kombinasjon med standard dekontaminering-prosedyre for å hindre spredning av karbapenem-resistent <i>A. baumannii</i> ved to intensivavdelinger
Bacteriophage Therapy of Chronic Nonhealing Wound: Clinical Study	Pasient-serie	Undersøke effekt av bakteriofagterapi på kroniske, ikke-helende sårinfeksjoner med <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> eller <i>S. aureus</i> .

^a RCT = Randomisert kontrollert studie

1.5.6 Pågående studier med bakteriofagterapi

I Tabell 2 vises pågående eller nylig fullførte studier på bakteriofagterapi som er registrert på ClinicalTrials.gov (47). Her undersøkes blant annet bakteriofagterapi hos pasienter med UVI og CF-pasienter kolonisert med *P. aeruginosa*. I tillegg har FDA gitt et utvidet godkjeningsfritak for Covid-19-pasienter med sekundærinfeksjon, hvilket tilgjengeliggjør bakteriofagterapi for klinikere. En større andel av studiene er randomiserte kontrollerte studier, der bakteriofagterapi sammenliknes med både tradisjonell antimikrobiell terapi og placebo.

Dette er viktig for å danne et større evidensgrunnlag for bakteriofagterapi. Tabellen viser at USA og Georgia har en førende rolle når det gjelder pågående studier.

Tabell 2. Pågående og nylig fullførte* studier på bakteriofagterapi (* i løpet av 2019-2020).

Studie	Status ^a	Problemstilling	Studiedesign ^b	Land
Bacteriophage Therapy in Patients With Urinary Tract Infections (NCT04287478)	R	Undersøke trygghet, toleranse og effektivitet av vertstilpassede bakteriofag-behandlinger i pasienter med UVI forårsaket av <i>E. coli</i> og <i>K. pneumoniae</i>	RCT Fase I/II	USA
Bacteriophages for Treating Urinary Tract infections in Patients Undergoing Transurethral Resection of the Prostate (NCT03140085)	F	Undersøke effektiviteten av intravesikal bakteriofagterapi ved UVI for å normalisere urinen, sammenliknet med placebo eller tradisjonell antimikrobiell terapi	Dobbel-blind RCT Fase II/III	Georgia
Cystic Fibrosis bacteriophage study at Yale (CYPHY) (NCT04684641)	R	Undersøke effektivitet og trygghet ved inhalert bakteriofagterapi i pasienter med CF kolonisert med <i>P. aeruginosa</i>	Dobbel-blind RCT Fase I/II	USA
Bacteriophage Therapy TP-102 in Diabetic Foot Ulcers (NCT04803708)	R	Undersøke trygghet og toleranse av topikal bakteriofagterapi på diabetiske fotsår kolonisert/infisert med <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> og <i>A. baumannii</i>	Dobbel-blind RCT Fase I/II	Israel
Personalized Phage Treatment in Covid-19 Patients With Bacterial Co-Infections Microbials for Pneumonia or Bacteremia/Septicemia (NCT04636554)	A	Formålet er å tilgjengeliggjøre bakteriofag-behandling for Covid-19 pasienter koinfisert med <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> eller <i>S. aureus</i> ved pneumoni, bakteriemi eller sepsis, sammen med tradisjonelle antimikrobielle midler	FDA: Utvidet godkjenning-fritak	USA
Phage Safety Retrospective Cohort Study (PHASACO-retro) (NCT04724603)	R	Undersøke tilskrivbare bivirkninger ved bakteriofagterapi etter behandling av osteomyelitt	Retrospektiv kohortstudie	Frankrike
Bacteriophage Therapy In Tonsillitis (NCT04682964)	A	Undersøke effektiviteten av inhalasjon ved akutt tonsillitt hos barn	Prospektiv studie Fase III	Usbekistan
Evaluating Safety and Tolerability of Inhaled AP-PA02 in Subjects With Chronic Pseudomonas Aeruginosa Lung Infections and Cystic Fibrosis (SWARM-Pa) (NCT04596319)	R	Undersøke trygghet og toleranse av inhalerte bakteriofager hos pasienter med kronisk <i>P. aeruginosa</i> -pneumoni og CF	Dobbel-blind RCT Fase I/II	USA

^a R = rekrutterende, A = aktiv, F = fullført

^b RCT = Randomiser kontrollert studie

1.6 Formål

Et overordnet formål med denne oppgaven er å gi en oversikt over eksisterende kunnskap om hvordan bakteriofagterapi anvendes i behandlingen av infeksjoner forårsaket av Gram-negative

bakterier. Bakteriofagterapi har eksistert en lengre tid, men har fått økt oppmerksomhet de senere år på grunn av økende antimikrobiell resistens. Det utføres stadig behandlinger med bakteriofager, men resultatene synes fortsatt å være uoversiktlige og antallet publiserte engelskspråklige komparative kvalitetsstudier er svært begrenset.

Jeg har derfor gjort et systematisk litteratursøk på og analyse av engelskspråklige kasuistikker hvor bakteriofagterapi er benyttet i behandlingen av infeksjoner med multiresistente Gram-negative bakterier for å: (i) Undersøke hva som kjennetegner kasuistikkene der bakteriofagterapi brukes. (ii) Undersøke hvordan klinisk bakteriofagbehandling utføres. (iii) Drøfte hvilke utfordringer ved bakteriofagterapi som belyses i kasuistikkene. (iv) Diskutere hva som må til for å videreutvikle bakteriofager som terapiform.

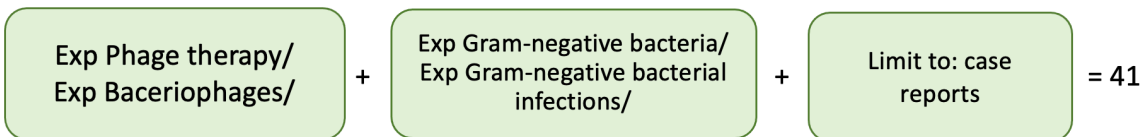
2 Materiale og metode

Materialet i denne oppgaven er innhentet fra et litteratursøk. Deretter er materialet analysert ut fra de fastsatte målsetningene med oppgaven.

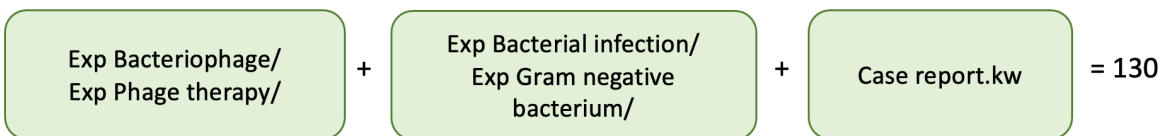
2.1 Litteratursøk

Et litteratursøk ble utformet for å omfatte problemstillingen i oppgaven. Søket ble utført i februar 2021 i databasene MEDLINE og EMBASE. Databasene ble valgt ut basert på deres fokusområder; klinisk medisin og farmakologi, samt muligheten for å gjøre systematiske søk. I gjennomgangen og seleksjonen av artikler er Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) (48) flytskjema og sjekkliste brukt veiledende.

Medline



Embase



Figur 3. Søkeord og antall artikkeltreff i MEDLINE og EMBASE.

Litteratursøket i både MEDLINE og EMBASE var sammensatt av tre deler – se Figur 3. I Medline var emneordene «Phage therapy/Bacteriophage» og «Gram-negative bacteria/Gram-negative bacterial infections» kombinert, og resultatene avgrenset til kasusrapporter. Antallet treff var 41. I Embase ble emneordene «Bacteriophage/phage therapy» og «Bacterial infection/Gram negative bacterium» kombinert, sammen med nøkkelordet «case report». Dette ga 130 treff.

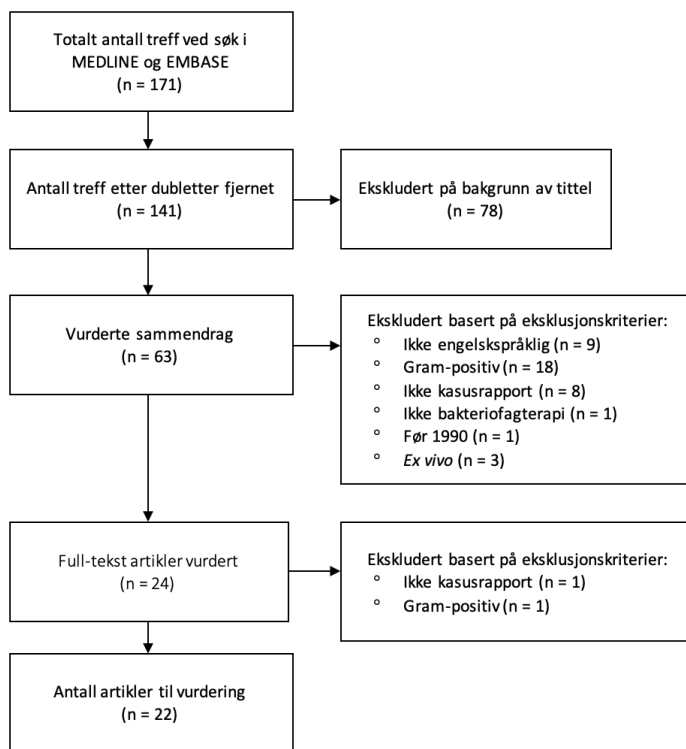
Tabell 3. Inklusjons- og eksklusjonskriterier for seleksjon av artikler.

	Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
Type artikkel	Kasusrapport	
Art	Menneske	Ikke gjort på mennesker
Språk	Engelsk	Ikke engelsk
Tidsavgrensning	Etter 1990	Innen 1990
Behandling	Bakteriofagterapi på Gram-negativ bakteriell infeksjon	Ikke brukt bakteriofagterapi. Behandlingen gjort på Gram-positive bakterier.

2.2 Seleksjon av artikler

For å avgrense oppgaven ble felles inklusjons- og eksklusjonskriterier satt, som vist i Tabell 3. Kriteriene er utformet for å omfatte oppgavens fokus, samt for å begrense omfanget av data. Inklusjonskriteriene var at artiklene skulle omhandle Gram-negative bakterier, bakteriofagterapi og infeksjonsbehandling, der behandlingen ble gjort på mennesker *in vivo*. I tillegg skulle artiklene være kasusrapporter.

Kriteriene for eksklusjon var om artiklene var artikler skrevet før 1990, ikke engelskspråklige, eller at det ikke ble brukt bakteriofagterapi, samt at forsøkene var gjort på Gram-positive bakterier eller *ex vivo*. Bakteriofagterapi har i løpet av de seneste desenniene gjennomgått en strukturell forandring, både med tanke på problemstillingen rundt antimikrobiell resistens og sekvensering av bakteriofager, og derfor er artikler publisert innen 1990 ekskludert. Artikler skrevet på andre språk enn engelsk, da hovedsakelig russisk, polsk og fransk, ble ekskludert på grunn av utilstrekkelige språkkunnskaper. Figur 4 viser seleksjonsprosessen.



Figur 4. Flytdiagram for seleksjon av artikler.

2.3 Referanser fra utvalgte artikler

I tillegg til kasusrapportene, er fem relaterte studier funnet fra en modifikasjon av litteratursøket (Tabell 1), der det ikke er selektert for kasusrapporter. Disse er også inkludert i kunnskapsevalueringen.

3 Resultat

Tabell 4 er en sammenfatning av alle kasusrapportene. Her presenteres utvalgt informasjon som regnes som relevant for denne oppgaven. For mer informasjon henvises det til hver enkelt kasusrapport. Deler av informasjonen i tabellen er prosessert og beregnet ut fra de opplysninger som er gitt i de enkelte kasusrapportene. Dette gjelder primært for bakteriofagkonsentrasjonen per dose; enkelte angir PFU per dose, andre PFU per ml og ml per dose. Dette gjelder også omregninger på totalt antall administrerte doser og totalt antall behandlingsdager. Bakterienes resistensprofil er korrigert etter definisjonene på MDR, XDR og PDR, som er angitt tidligere i oppgaven. Beregningene er gjort for å få en enhetlig tabell med sammenliknbar informasjon.

Tre kasusrapporter oppgir ikke bakteriofagkonsentrasjon. I to kasuistikker er antallet administrerte doser utydelig forklart, og undertegnede har derfor gjort en omtrentlig beregning av antallet doser ut fra tilgjengelig informasjon. Disse er markert i parentes i tabellen.

3.1 Populasjon

De 22 kasusrapportene beskriver forløpet til totalt 26 pasienter; 15 menn, 10 kvinner og én med ikke angitt kjønn. Gjennomsnittsalderen til pasientene under behandlingene var 48,7 år (median 59 år), der den eldste var 80 år og den yngste to år. Fire pasienter var under 18 år. Blant pasientenes diagnoser hadde åtte cystisk fibrose (CF), der fem av disse hadde gjennomgått bilateral lungetransplantasjon. Totalt 17 av pasientene gjennomgikk kirurgi kort tid innen de pådro seg infeksjon. Flere av pasientene hadde komorbide lidelser, som diabetes mellitus, hypertensjon og overvekt.

Tabell 4. Oversikt over kasusrapporter med klinisk bruk av bakteriofagterapi mot MDR Gram-negative bakterier (30, 34, 35, 38, 41, 49-65).

Referanse	Metadata ^a	Infeksjon	Patogen ^b	Behandling ^c	PFU/dose	Ant. doser ^d Adm. måte	Varighet (dager)	Annen parallell antimikrobiell terapi ^e	Resultat ^f
Aslam et al. 2019	M 67 CF, bilateral lungetransplantasjon	Pneumoni	MDR/XDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁷⁻⁹	2308 IV, INH	134	Pip-tazo, Colistin, Tobramycin	Vellykket behandling
K 57	CF, bilateral lungetransplantasjon	Pneumoni	XDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁹	56 IV	28	Colistin	Vellykket behandling
K 28	CF, bilateral lungetransplantasjon	Pneumoni	XDR <i>B. dolosa</i>	KT, SLF	10 ⁶⁻⁷	(154) IV	84	Ceftazidim-avibaktam, Pip-tazo, Minocyclin, Meropenem, Tobramycin, Trim-sulfa	Mislykket behandling. Kortvarig klinisk bedring.
K 63		Urinveisinfeksjon	XDR <i>K. pneumoniae</i>	KT, BC	10 ¹⁰	15 Intravesikalt	15	Trim-sulfa	Vellykket behandling
M 62		Infeksjon kneprotese	MDR <i>K. pneumoniae</i>	KT, SLF	10 ¹⁰	40 IV	56	Minocyclin	Vellykket behandling
M 76	Aorta graft operasjon	Mediastinal graftinfeksjon	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, SLF	10 ⁸	1 Perkutan injeksjon	1	Ceftiazidim	Vellykket behandling
X 57		Urinveisinfeksjon	MDR (ESBLcarba) <i>K. pneumoniae</i>	MT, SLF	10 ⁶⁻⁷	56 PO, intrarektalt	21	(Behandlet med Ceftiazidim-avibaktam tre dager innen BT)	Vellykket behandling
M 2	Medfødt hjertefeil; hjerteroperert	Bakteremi; sepsis	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁵	42 IV	10	Meropenem, Polymyxin B, Tobramycin	Mislykket behandling. Progressiv hjertesvikt og sepsis; død.
M 60	Lungekreft; skjelettmetastase	Osteomyelitt	XDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁹	1 Intraoperativt	1	Ceftolozane-tazobaktam, Colistin	Vellykket behandling
K 10	CF	Pneumoni	XDR/PDR <i>Achromobacter spp.</i>	KT, SLF		28 IV	28	Cefiderocol, Meropenem- vaborbaktam	Vellykket behandling
K 17	CF	Pneumoni	XDR <i>A. xylosoxidans</i>	KT, BC	10 ⁸	300 PO, INH	100	Pip-tazo, Ciprofloxacin, Colistin, Tobramycin, Trim-sulfa	Vellykket behandling

Jennes et al. 2017	M 61 Amputasjon	Infisert liggesår; sepsis	XDR <i>P. aeruginosa</i>	MT, BC	10 ¹⁰	40 IV, topikalt	10	Mislykket behandling. Klinisk bedring, men fortsatt infisert liggesår med flere agens.
Khawaldeh et al. 2011	K 67 Operert intraabdominalt	Urinveisinfeksjon	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁷	20 Intravesikalt	10	Vellykket behandling
Kuipers et al. 2020	M 58 Nyretransplantert	Urinveisinfeksjon	MDR (ESBL) <i>K. pneumoniae</i>	KT		140 PO, intravesikalt	84	Vellykket behandling. Fortsatt kolonisert tarm.
Law et al. 2019	K 26 CF	Pneumoni	XDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁹	224 IV	56	Vellykket behandling
Lebeaux et al. 2021	M 12 CF; bilateral lungetransplantasjon	Pneumoni	PDR <i>A. xylosoxidans</i>	KT, BC	10 ⁹⁻¹⁰	48 INH	16	Mislykket behandling. Pneumoni behandlet, fortsatt kolonisering i luftveiene.
Maddocks et al. 2019	K 77 Lungekreft; lobektomi	Pneumoni	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ⁹	28 IV, INH	7	Vellykket behandling
Nir-Paz et al. 2019	M 47 Traume	Osteomyelitt	XDR <i>A. baumannii</i> MDR <i>K. pneumoniae</i>	KT, BC	10 ⁸	33 IV	11	Vellykket behandling
Qin et al. 2021	M 66 Blærecancer	Urinveisinfeksjon	MDR <i>K. pneumoniae</i>	KT, BC	10 ⁹⁻¹⁰	32 Intravesikalt, intrarenalt	47	Vellykket behandling
Rostkowska et al. 2020	Polycystiske nyrer; nyretransplantert	Urinveisinfeksjon	XDR (ESBL) <i>K. pneumoniae</i>	KT, BC		58 Intrarektalt	29	Mislykket behandling. Klinisk bedring. Nyrecyste var bakteriereservoir, behandlet med nefrektomi.
Rubalskii et al. 2020	M 40 Hjertetransplantasjon	Pneumoni	PDR <i>K. pneumoniae</i>	KT, BC	10 ^{8,9}	12 INH, PO	4	Vellykket behandling

K 66	Hjerteoperert	Sårinfeksjon	MDR <i>E. coli</i>	KT, BC	10 ¹¹	1	Intraoperativt	1	Klindamycin	Vellykket behandling
M 13	CF; bilateral lungetransplantasjon	Sårinfeksjon; abscess	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, BC	10 ¹¹	1	Intraoperativt	1	Ceftazidim-avibaktam, Colistin	Vellykket behandling
M 68		Nekrotiserende pankreatitt	MDR <i>A. baumannii</i>	KT, BC	10 ⁹	(424)	IV, perkutan injeksjon	126	Meropenem, Minocyclin, Flukonazol, Colistin	Vellykket behandling
M 27	Brannskade, hudtransplantat	Infisert hudtransplantat	MDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, SLF	10 ³	1	Topikalt	1	Ceftazidim	Klinisk bedring, dekolonisert.
K 80	Metabolisk syndrom	Proteseinfeksjon; osteomyelitt	XDR <i>P. aeruginosa</i>	KT, SLF	10 ⁸⁻¹⁰	16	Perkutan injeksjon	5	Meropenem, Ceftazidim, Colistin	Vellykket behandling

Schooley et al. 2017

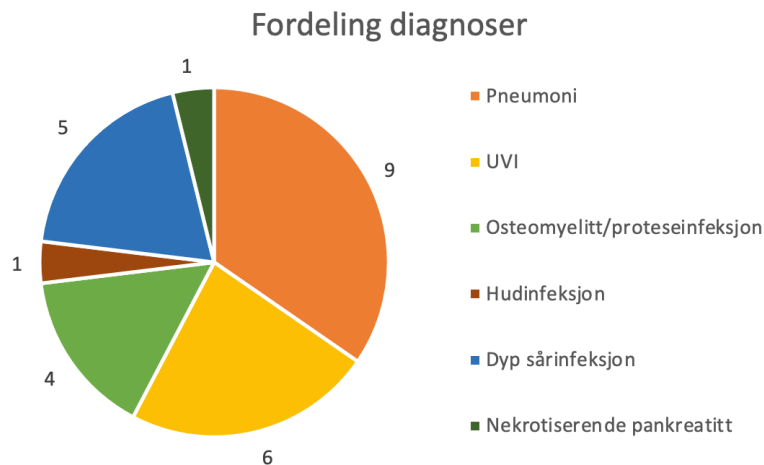
Sivera Marza et al. 2006

Tkhilashvili et al. 2020

^a M = Mann. K = Kvinne. CF = Cystisk fibrose
^b MDR = Multi-drug resistance. XDR = Extensive-drug resistance. PDR = Pan-drug resistance.
^c MT = Monoterapi, bakteriofager som eneste antimikrobielle terapi. KT = Kombinasjonsterapi, bakteriofager og antibiotika brukt sammen. BC = Bakteriofagcocktail. SLF = Singel lytisk bakteriofag.
^d Ant. doser = Antall doser gitt. Adm. måte = Administrasjonsmåte. IV = Intravenøs. INH = Inhalering. PO = Peroral
^e Trim-sulfa = Trimetoprim-sulfametoxazol. Pip-tazo = Piperacillin-tazobactam
^f Vellykket behandling = klinisk bedring, samt sanert infeksjon og/eller eradikert patogen, uten residiv i minst fire uker etter avsluttet behandling

3.2 Infeksjon

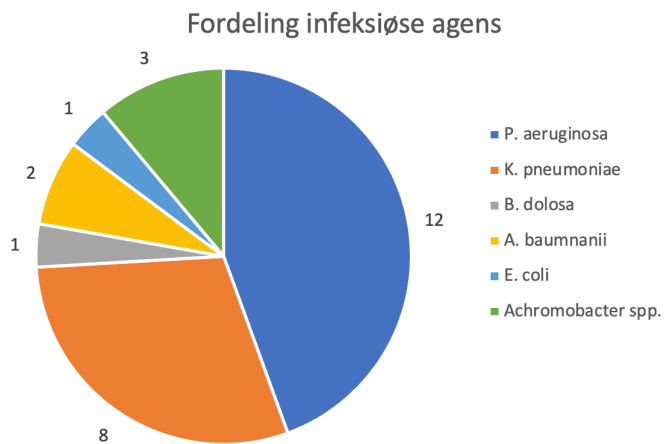
Figur 5 viser at pneumoni, UVI og dyp sårinfeksjon (inkludert kirurgiske sår) var de tre vanligste diagnosene i kasusrapportene. Osteomyelitt og proteseinfeksjon var også vanlige diagnoser. Syv av de ni pasientene med pneumoni hadde CF.



Figur 5. Fordelingen av pasientenes diagnoser i kasusrapportene.

3.2.1 Patogen og resistens

P. aeruginosa og *K. pneumoniae* var de to vanligste agensene i kasusrapportene (Figur 6). Samtlige beskrevne agens var MDR-bakterier; elleve var XDR- og fire PDR-bakterier. Kun to kasusrapporter beskriver bakteriene som ESBL-produserende, hvor den ene var karbapenemase-produserende. I tabellen står enten det eneste eller den dominante patogene bakterien som er beskrevet i kasusrapporten. Flere kroniske infeksjoner var polymikrobielle. For eksempel beskriver artikkelen publisert av Nir-Paz *et al.* (59) at pasientens osteomyelitt var koinfisert med *K. pneumoniae* og *A. baumannii* (som er årsaken til at det totalt er 27 infeksjøs agens i Figur 6) og i kasuistikken publisert av Qin *et al.* (60) påvistes 21 ulike stammer *K. pneumoniae* i pasientens urin og nyrebekken.



Figur 6. Fordelingen av angitte infeksjose agens i kasusrapportene.

3.3 Behandling

I tabellen skilles det mellom kombinasjonsterapi – kombinasjon av bakteriofager og antibiotika – og monoterapi – kun bakteriofager. To pasienter mottok monoterapi, mens 24 pasienter mottok kombinasjonsterapi. Ingen bivirkninger tilskrevet bakteriofagterapi er rapportert i kasuistikkene.

3.3.1 Bakteriofagterapi

Konsentrasjonen PFU per dose ligger hovedsakelig mellom 10^6 til 10^9 PFU. De største administrerte dosene var 10^{11} PFU/dose, mens den laveste konsentrasjonen var 10^3 PFU/dose. Totalt antall administrerte doser varierer mellom én enkelt dose og 2308 doser. Fem kasusrapporter beskriver behandling med administrasjon av kun én singel dose. Gjennomsnittlig ble det administrert 157 (median 36,5) doser med konsentrasjon på 10^8 PFU/dose (median 10^9).

Det er store forskjeller i behandlingens lengden av bakteriofagterapien: fra 1 til 134 dager, med et gjennomsnitt på 34 dager (median 16 dager). I noen kasuser er behandlingsmønsteret oppdelt i flere kortere perioder med opphold mellom; i tabellen er det angitt totalt antall dager der bakteriofagbehandling ble gitt. Den lengste behandlingen varte i totalt 134 dager med administrering av 2308 doser.

I kasusrapportene er bakteriofagterapien administrert på mange ulike måter: peroralt; rektalt; ved inhalasjon; ved perkutan injeksjon; intraoperativt; topikalt; parenteralt: intravenøst, intrarenalt og -vesikalt. Ni pasienter ble gitt to ulike administrasjonsformer. Den vanligste administrasjonsformen var intravenøs.

3.3.2 Antibiotika

Parallell antimikrobiell terapi ble gitt til alle foruten to pasienter. 82 % av de administrerte antimikrobielle midlene var bredspektrede, mens 18 % var innenfor gruppen foretrukne antimikrobielle midler (grupperingen av bredspektrede antimikrobielle midler er hentet fra NORM-VET-rapporten fra 2019 (17)). Ingen fikk penicilliner uten betalaktamasehemmer. Én pasient fikk fluconazol som ikke er med i utregningen, da det er et antimykotikum og derfor ikke omfattes av definisjonen smal- eller bredspektret antibiotika.

3.4 Behandlingsresultat

Samtlige pasienter opplevde klinisk bedring etter bakteriofagterapi. Det er vanskelig å definere hva som kan kategoriseres som vellykket behandling, men de fleste kasuistikkene har hatt en observasjonstid på over fire uker. Derfor kan en operasjonell definisjon på vellykket behandling være klinisk bedring, samt mikrobiologisk sanert infeksjon og/eller eradikert patogen uten residiv i minst fire uker etter avsluttet behandling. Majoriteten av behandlingene kan kategoriseres som vellykkede (20/26) (76,9 %). Alle disse pasientene hadde tidligere fått tradisjonell antimikrobiell behandling uten suksess, men ble vedvarende bedre etter bakteriofagterapi. Én kasusrapport beskriver klinisk bedring og mikrobiologisk sanert infeksjon, men observasjonstiden varte kun i tre dager etter avsluttet behandling (64), og er således ikke definert som vellykket behandling. Én pasient døde under bakteriofagbehandling på grunn av progredierende sykdom.

4 Diskusjon

I oppgaven presenteres en litteraturoversikt av publiserte engelskspråklige kasuistikker som beskriver bruk av klinisk bakteriofagterapi i infeksjonsbehandling av svært multiresistente Gram-negative bakterier og med en teoretisk bakgrunn. Det er fortsatt mange ukjente momenter ved bakteriofagterapi, men ny og pågående forskning gir oss stadig et bredere kunnskapsgrunnlag for hvordan bakteriofagterapi kan optimaliseres.

4.1 Hvilke utfordringer skal bakteriofagterapi bidra til å løse?

4.1.1 Antimikrobiell resistens

AMR forårsaker langvarige sykdomsforløp på grunn av behandlingssvikt, noe som er problematisk for helsevesenet, da det øker kostnadene for helsevesenet og er til skade for pasienten (1). Det er mange fellestrekk mellom pasientene i kasuistikkene. Samtlige hadde infeksjoner med svært antibiotikaresistente bakterier. AMR som årsak til behandlingssvikt er gjennomgående i flere av kasusrapportene. Kasuistikken publisert av Cano *et al.* (51) beskriver en pasient som led av kronisk kneprosteseleddinfeksjon i 11 år – med gjentakende behandlingssvikt og tilbakefall – der pasienten til slutt ble tilbudt amputasjon av ekstremiteten. Som et siste forsøk, ble bakteriofagterapi gitt intravenøst – kombinert med minocyclin – og etter to dager bedret pasientens tilstand seg. Pasienten hadde ingen tegn til tilbakefall 238 dager etter avsluttet behandling og unngikk amputasjon.

Langvarig antibiotikabehandling øker risikoen for alvorlige bivirkninger. Kasuistikken publisert av Jennes *et al.* (56) beskriver en pasient med sepsis forårsaket av XDR *P. aeruginosa*, som testet følsom for kun colistin. Etter 10 dager med intravenøs colistin utvikler pasienten akutt nyresvikt og colistin måtte seponeres. Pasienten fikk tilbakefall, men til tross for klinisk bedring på colistin, ble ikke colistin gjeninnsatt på grunn av risikoen for nyretoksisitet. Som beskrevet i dette tilfellet, observeres ofte klinisk bedring hos pasienter med kroniske infeksjoner under antimikrobiell terapi, men etter endt antibiotikabehandling blomstrer infeksjonen opp igjen. Derfor står mange av pasientene på langvarig antimikrobiell behandling. Dette tyder på at det antimikrobielle midlet fungerer bakteriostatisk/-drepende til en viss grad, men at bakteriene persisterer, ofte i form av biofilmdannelse. Også i dette tilfellet sto bakteriofagterapi igjen som siste mulighet.

4.1.2 Biofilmdannende infeksjoner

Majoriteten av de patogene bakteriene i kasusrapportene testet sensitiv for én eller flere antibiotikagrupper *in vitro* (MDR/XDR), men var resistente *in vivo* (56). Økt AMR *in vivo* kan skyldes biofilm (66). Biofilm er en viktig virulensfaktor for både *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* og *A. baumannii* (67, 68), som forårsaker infeksjon i omtrent 80 % av pasientene i kasuistikkene. Dette sammenfaller også med den høye forekomsten av kirurgiske transplantasjoner og innsatte fremmedlegemer (kateter, proteser) i pasientpopulasjonen, som gjør pasientene ekstra utsatte for biofilmdannende infeksjoner.

4.1.3 Immunsvekkede pasienter

Kirurgi etterlater pasienten immunsvekket og i en begrenset tid etter inngrepet mer mottakelig for infeksjoner. Majoriteten av pasientene (17/26) i denne studien gjennomgikk kirurgi kort tid innen de pådro seg infeksjon. Samtidig hadde de fleste pasientene komorbiditet. Åtte av pasientene hadde CF, en tilstand som gjør dem særdeles utsatte for kolonisering, og gjentakende og/eller kroniske infeksjoner. Omtrent alle pasientene var svært syke og immunkompromitterte med kompliserte infeksjoner og dårlig prognose. Pasientenes tilstand er en indikasjon for nødbehandling og muliggjør å få «legemiddel på godkjenningsfritak» (62). Derfor ble bakteriofagterapi forsøkt som en siste mulighet.

4.1.4 Hva kjennetegner kasuistikkene der bakteriofagterapien sviktet?

Det var enkelte likheter mellom de fire kasusrapportene der bakteriofagterapien feilet. Pasientene hadde særdeles kompliserte infeksjoner, to av dem komplisertes ytterligere av sepsis. Alle observerte klinisk bedring og redusert bakteriebyrde hos pasienten etter bakteriofagterapi. Én av pasientene fikk bakteriofager som monoterapi. Én av disse pasientene døde under bakteriofagterapi, men dødsfallet er ikke tilskrevet bakteriofagterapi. Det ses ingen tydelig sammenheng mellom terapivikt og dosering, administreringsmåte eller behandlingens lengde.

To av kasusrapportene er hverken definert som vellykket eller mislykket behandling. I kasuistikken publisert av Sivera Marza *et al.* (64) observeres klinisk bedring og mikrobiologisk sanering av infeksjonen, men pasienten er bare fulgt opp i tre dager etter avsluttet behandling. Kasusrapportens resultat omfattes derfor ikke av definisjonen på «vellykket behandling». Kasuistikken publisert av Lebeaux *et al.* (57) beskriver klinisk bedring og behandlet infeksjon etter bakteriofagterapi, men pasienten var fortsatt lavgradig kolonisert med bakterien, og behandlingen er derfor ikke definert som vellykket.

4.2 Dosering, administrasjon og sammensetning av bakteriofagterapi

4.2.1 Dosering av bakteriofagterapeutika

Til dags dato finnes ingen fastsatte retningslinjer for dosering av bakteriofagterapeutika (26). I eksperimentelle studier ligger ofte forholdet mellom administrerte bakteriofager og bakterier i infeksjonen 100-0,01:1 (46). Dog er forholdet 100:1 vanligere for å forsikre seg om at tilstrekkelig med bakteriofager er applisert, også i tilfelle en andel av bakteriofagene er inaktive (46). På grunn av bakteriofagens egen-amplifisering og begrensning ved terapeutisk applisering *in vivo*, har administreringsintervall og dosestørrelse ved bakteriofagterapi i teorien mindre betydning enn for mange tradisjonelle antimikrobielle midler (26). I studien publisert av Wright *et al.* (69) observeres en økning i antallet bakteriofager fra 6×10^5 ved administrering til gjennomsnittlig $1,27 \times 10^8$ ved tre følgende kontroller, noe som peker på en amplifisering av bakteriofagene på over 200 ganger. I pasienter med vellykket behandling kunne ingen bakteriofager detekteres kort etter infeksjonen ble sanert (69).

Doseringen av bakteriofager spriker mellom kasusrapportene. I denne studien av kasuistikker var det gjennomsnittlig $\sim 10^8$ PFU/dose. Det ses ingen tydelig sammenheng mellom størrelse på doseringsmengde og behandlingsresultat. Optimal dosering avhenger av flere faktorer; bakteriebyrde, bakteriofagegenskaper, administrasjonsmåte, infeksjonsform og andre miljøfaktorer (pH, temperatur) (46). En studie viste at bakteriofagen $\phi AB2$ – med en konsentrasjon på minst 10^5 PFU/ml – lyserte over 99,9 % av alle *A. baumannii* M3237 i løpet av 10 minutter *in vitro*, uavhengig av bakteriekonsentrasjonen (70). Altså når bakteriofagkonsentrasjonen steg over et visst nivå, økte den bakteriolytiske effekten betraktelig.

Mye tyder på at om bakteriofagkonsentrasjonen blir for lav reduseres den terapeutiske effekten. Den laveste doseringen blant kasuistikkene var 10^3 PFU/dose. I dette tilfellet kunne patogenet ikke påvises etter endt behandling, men på grunn av kun tre dagers observasjonstid etter avsluttet behandling er resultatet ikke definert som vellykket behandling (64). I studien «Phagoburn» (71) skulle bakteriofagcocktailen – med tolv lytiske bakteriofager – administreres med en konsentrasjon på 10^6 PFU/ml, og forholdet mellom bakteriofager og bakterier skulle være 10:1. Etter produksjonen var den faktiske konsentrasjonen 10-100 PFU/ml, og forholdet mellom bakteriofager og bakterier 1:10 000. Dessuten var konsentrasjonen av hver enkelt bakteriofag i cocktailen en tolvtedel av det igjen (forutsatt lik andel av alle bakteriofagene). Hovedårsaken til dette var en instabilitet i bakteriofagproduktet, som førte til degenerasjon etter

produksjon, og dermed svært lav konsentrasjon av aktive bakteriofager (71). Den lave konsentrasjonen var sannsynligvis medvirkende til at bakteriofagbehandlingene viste dårlig bakteriedrepende effekt i studien. Dette peker på at høyere bakteriofagkonsentrasjoner fører til mer effektiv behandling (46). Dog kan bakteriofagterapeutika doseres flere ganger, og således oppnå en høyere total dose.

Flere studier har vist at gjentagende dosering av bakteriofager er bedre enn én enkeltdose (46). Antallet doser avhenger av doseringsintervall og behandlingens lengde. Få kasusrapporter diskuterer rasjonalet bak doseringsmønsteret. Flere beskriver at bakteriofagdoseringsen justertes etter endotoksinkonsentrasjonen i bakteriofagproduktet, ved at bakteriofagdosen fortynnes for å få endotoksinkonsentrasjonen under den fastsatte grenseverdien. I fem kasusrapporter appliseres bakteriofagterapi kun én gang. En av årsakene til dette er peroperativ applisering av bakteriofagterapien, der de for å unngå ytterligere infeksjonsfare, unnviker flere applikasjoner. Endotoksinnivået og administrasjonsmåte påvirker altså doseringsmønsteret.

4.2.2 Administrasjon av bakteriofagterapeutika

Bakteriofagterapeutika har fordelen av å kunne administreres på flere ulike måter. Bakteriofager kan imidlertid ikke diffundere over membraner, slik som mange tradisjonelle antimikrobielle midler. 25 av pasientene i denne studien sykehusinnlagte da de ble behandlet med bakteriofagterapi, noe som underletter for flere administrasjonsformer (for eksempel intravenøst, intravesikalt, intraoperativt og lokal injeksjon). Administrasjonsform bør velges med hensyn på tilgjengeligheten til bakteriene (46). For eksempel utnytter fem kasusrapporter inhalasjon av bakteriofagterapeutika ved pneumoni og fire av pasientene med UVI fikk intravesikal administrasjon. Den mest brukte administrasjonsformen i kasuistikkene var intravenøs administrasjon (11/26), særlig brukt på pneumoni (6/11) og sepsis (2/11), men også UVI, osteomyelitt og nekrotiserende pankreatitt. Ni pasienter fikk bakteriofagterapeutika administrert på to ulike måter, hvilket kan øke sjansen for riktig distribusjon av bakteriofager. Disse pasientene fikk også gjennomsnittlig totalt flere doser enn de med én administrasjonsform.

Bakteriofagens stabilitet *in vivo* avhenger trolig av administrasjonsform. Kasuistikken publisert av Schooley *et al.* (63) målte løpende blodkonsentrasjonen av bakteriofager etter intravenøs administrering. Etter tilsatt 5×10^9 PFU økte serumkonsentrasjonen fra null til $1,8 \times 10^4$ PFU/ml i løpet av fem minutter. Etter 30 minutter hadde konsentrasjonen falt til $4,4 \times 10^3$, og videre til 330 PFU/ml etter 60 minutter. Siste målbare bakteriofagkonsentrasjon ble utført 120

minutter etter administrering, da var konsentrasjonen på 20 PFU/ml. Bakteriofagene var ikke målbare i plasma i løpet av de følgende fire timene. Dette tyder på at bakteriofager har kort halveringstid ved systemisk administrasjon (63). Eliminasjonsveien til bakteriofager *in vivo* er ikke fullstendig kartlagt, men bakteriofager bindes opp av antistoffer (46) og elimineres av det retikulo-endoteliale systemet i milten (42). Samtidig påvirkes bakteriofagens stabilitet *in vivo* av flere fysiologiske faktorer (pH, temperatur, elektrolytter) (72).

Det er mulig at enkelte administrasjonsformer av bakteriofagterapeutika gagnar stabiliteten *in vivo*. I følge studien publisert av Bruttin & Brüssow (73) kunne omtrent samme bakteriofagkonsentrasjon måles i fæces, som ble tilsatt peroralt – ved bruk av større doser bakteriofager ($\sim 10^7$ PFU). Dette tyder på at bakteriofager har god stabilitet gjennom tarmkanalen. Det er imidlertid usikkert i hvor stor grad bakteriofager beveger seg over tarmslimhinnen (61). I kasuistikken publisert av Sivera Marza *et al.* (64) målte de en bakteriofagkonsentrasjon 1200 ganger høyere enn dosen applisert 48 timer tidligere. Her administrertes bakteriofagene topikalt via filterpapir. Dette samsvarer med studien publisert av Wright *et al.* (69), der bakteriofager kunne detekteres i øret i gjennomsnittlig 23 dager etter lokal applisering ved otitt. Bakteriofagkonsentrasjon og doseringsintervall må tas hensyn til ved valg av administrasjonsmåte.

4.2.3 Sammensetning av bakteriofagterapeutika

Som tidligere nevnt, består bakteriofagprodukter av en singel lytisk bakteriofag (SLF) eller en cocktail. Det er usikkert hva som er mest effektivt av SLF og cocktail. Bruken av SLF kan være enklere med tanke på isolasjon, testing og innsetting av nye bakteriofager, uten behovet for å undersøke interaksjonen mellom bakteriofager, som i en cocktail. Dette kan underlette for bruken av bakteriofager og gjøre den mer tilgjengelig og «strømlinjeformet» (51). Syv av pasientene i kasusrapportene fikk terapeutisk SLF; fire av disse er definert som vellykket behandling.

Totalt fikk 19 pasienter bakteriofagcocktail, som regel bestående av 2-4 bakteriofager. En cocktail kan være standardisert eller vertstilpasset. I studien publisert av Gupta *et al.* (74) valgte de tre mest effektive bakteriofagene i hvert individuelle tilfelle til en cocktail. Her ble alle patogen testet mot en samling på 20 klargjorte bakteriofager. En vertstilpasset cocktail – der flere bakteriofager med ulike reseptorer binder til samme bakterie – har fordelen av at den kan redusere eller hemme bakteriens resistensutvikling, da sjansen for at bakterien tilegner seg resistens mot flere bakteriofager samtidig er mindre (46, 50).

På den andre siden brukte studien «Phagoburn» en standardisert bakteriofagcocktail. Pasientene ble inkludert hvis den patogene bakterien var mottagelig for minst én av de tolv lytiske bakteriofagene i cocktailen (71). Denne standardiseringen kan medføre tap av fordelen som en vertstilpasset bakteriofagcocktail kan ha. Samtidig kan konsentrasjonen av hver enkelt bakteriofag i en cocktail begrenses av den maksimale bakteriofagkonsentrasjonen i en væske (metningspunkt). Bli konsentrasjonen for lav av hver enkelt bakteriofag kan det redusere den terapeutiske effekten (75). Sannsynligvis er det gunstig med en balanse mellom antallet ulike bakteriofager og bakteriofagkonsentrasjonen (75).

Artikkelen publisert av Qin *et al.* (60) beskriver isolasjon av bakteriofager fra miljøet og løpende komponering av vertstilpassede bakteriofagprodukter. Dette for å forme behandlingen etter bakteriens resistensmønster og bakteriofagenes antimikrobielle aktivitet. Bli bakterien resistent mot det administrerte bakteriofagproduktet, kan nye bakteriofager isoleres og testes mot den bakteriofagresistente bakterien. I kasuistikken publisert av Aslam *et al.* (49) legges en ny, effektiv lytisk bakteriofag til standard-cocktailen AB-P01, etter at bakteriofagresistente bakteriemutanter er påvist. Dette viser at bakteriofagterapeutika er modifiserbare under behandling; ved å legge til nye bakteriofager eller bytte bakteriofagprodukt, kan behandlingen stadig optimaliseres. Bakteriofagterapiens dynamiske potensialet bør utnyttes i klinisk sammenheng.

Seleksjon av bakteriofager til klinisk bruk avhenger også av bakteriofagens egenskaper. Ho *et al.* (70) testet åtte lytiske bakteriofager mot 52 pasienters karbapenemase-resistente *A. baumannii* (CRAB). Den mest potente bakteriofagen ble brukt til desinfisering av CRAB for å forhindre spredning av denne til pasienter. Av disse ble tre bakteriofager, $\phi AB6$, $\phi 5C05$ og $\phi AB2$, brukt henholdsvis 17, 12 og ni ganger, mens de fem resterende sammenlagt ble brukt 14 ganger. Dette tyder på at enkelte bakteriofager er mer bredspektrede enn andre og kan være mer relevante i klinisk sammenheng.

4.3 BAS: Bakteriofag-antibiotika-synergi

Fenomenet bakteriofag-antibiotika-synergi (BAS) – at terapeutisk, parallell bruk av bakteriofager og antibiotika kompletterer hverandre – er beskrevet i flere studier og kasusrapporter (50, 76). Kombinasjonsterapi med antibiotika og bakteriofager ble gitt til 24 av pasientene i kasuistikkene. Selv om den faktiske effekten av bakteriofagterapi skulle kunne vurderes bedre som monoterapi, begrunnes dette blant annet med det etiske aspektet ved å

seponere antibiotika innfor en eksperimentell behandling hos en kritisk syk pasient (51). Dette skiller kasusrapportene fra de to større RCT med bakteriofagterapi, der effekten av monoterapi med bakteriofager kontrolleres mot henholdsvis placebo (69) og empirisk behandling (71). Det er mye som taler for bruk av bakteriofagterapi i kombinasjon med tradisjonelle antimikrobielle midler. Her vises det til tre fordeler ved kombinasjonsterapi som kan observeres i kasuistikkene.

4.3.1 BAS øker den bakteriedrepende effekten

Flere studier viser at en kombinasjon av bakteriofager og antibiotika øker den baktericide effekten (42). Likevel er det usikkert om bakteriofager og antibiotika utretter en additiv eller synergistisk effekt, og eventuelt hvilke antimikrobielle midler bakteriofager fungerer best med. Bao *et al.* (50) beskriver høy synergistisk effekt ved kombinasjon av bakteriofager og trimetoprim-sulfametoksazol (trim-sulfa) mot UVI forårsaket av XDR *K. pneumoniae*. Pasienten gikk gjennom to mislykkede behandlingsrunder med bakteriofager, samtidig som bakterien påviste resistens mot høye doser trim-sulfa *in vitro*. Imidlertid, da den tredje bakteriofagcocktailen ble administrert i kombinasjon med moderate til høye doser trim-sulfa *in vivo*, ble infeksjonen sanert. At behandlingen mislykkes med antibiotika eller bakteriofager alene, men i kombinasjon fører til vellykket behandling av infeksjon, er gjennomgående i flere kasuistikker (30, 54, 59, 60).

Antibiotika og bakteriofager har forskjellige angrepsmåter, noe som øker sjansen for at målbakteriene er sensitive for ett av dem. Kasuistikken publisert av Gainey *et al.* (54) beskriver en pasient med CF pneumoni forårsaket av PDR *Achromobacter spp.* Pasienten fikk først administrert meropenem/vaborbaktam og cefiderocol i to uker, og deretter fulgte 2 ukers terapi med bakteriofager. Til tross for klinisk bedring og økt lungefunksjon fikk pasienten tilbakefall etter 3 måneder. Da ble antibiotika og bakteriofager administrert samtidig i to uker, hvilket førte til sanering av infeksjonen. Trolig har bakteriofagen og antibiotika ulike egenskaper som sammen hemmer bakterien mer enn hver enkelt av dem.

4.3.2 Kombinasjonsterapi er effektivt mot biofilm

Mange studier peker på at bakteriofager har antibiofilm-aktivitet (41). I kasuistikken publisert av Chan *et al.* (41) ble det observert at bakteriofager ga en signifikant reduksjon i bakteriebyrden i *P. aeruginosa* biofilm *in vitro* sammenliknet med ceftazidim og ciprofloxacin. Bakteriofager står ikke ovenfor samme problemer som antimikrobielle midler i forbindelse med biofilm; verken samlet AMR eller persisterende celler hindrer bakteriofagreplikasjon. Artikkelen publisert av Cano *et al.* (51) beskriver at kombinasjonen av bakteriofager og

antimikrobielle midler er gunstig i behandling av biofilm. Bakteriofager kan replikere i bakterier inne i biofilmen og dermed forårsake ubalanse i biofilmen, hvilket igjen øker tilgjengeligheten av bakterier for antimikrobielle midler (41). Behandling av biofilm er en utfordring og særdeles viktig i behandling av kroniske infeksjoner.

4.3.3 Kombinasjonsterapi øker bakteriens antimikrobielle sensitivitet

Bakteriens følsomhet for tradisjonelle antimikrobielle midler kan øke under bakteriofagterapi (41, 54). Artikkelen publisert av Chan *et al.* (41) viste at bakteriofagen bandt til et membranprotein som medierte bakteriens AMR. Når bakterien tilegnet seg resistens mot bakteriofagen, ved å nedregulere uttrykket av membranproteinet, økte sensitiviteten for antibiotika. Derfor kan bakteriofagresistente bakteriemutanter ha økt sensitivitet for antibiotika (63). Bakteriofager og antimikrobielle midler omfattes ikke av samme resistensmekanismer, og trolig kan kombinasjonsterapi forsinke bakteriens utvikling av bakteriofagresistens (42).

Det samme gjelder virulensfaktorer. Om bakteriofager binder til bakteriens virulensfaktorer (LPS, flageller, pili), vil bakterien kunne nedregulere disse for å bli resistent, men samtidig miste virulens. I studien publisert av Oechlin *et al.* (76) observeres rask utvikling av bakteriofagresistente bakteriemutanter *in vitro*, men ikke *in vivo*. Forklaringen er trolig at bakteriofagreseptorene var viktige for bakteriens virulens og dermed affiserte bakteriens overlevelse *in vivo*.

4.3.4 Bivirkninger og farmakokinetikk

Bakteriofager er administrert til atskillige pasienter, men ingen alvorlige bivirkninger er tilskrevet bakteriofagterapi (66). Kasuistikken publisert av Duplessis *et al.* (35) beskriver at den 2-årige pasienten dekompenserte kort etter start på bakteriofagterapi, mest sannsynlig på grunn av progressiv hjertesvikt. Dog kunne ikke anafylaksi avskrives. Ellers er ingen bivirkninger beskrevet i kasusrapportene. I studiene publisert av Jault *et al.* (71), Wright *et al.* (69) og Bruttin & Brüssow (73) meldte pasientene om lette-moderate bivirkninger som mageproblemer, svimmelhet, hodepine og insomni. Det bør likevel nevnes at tilsvarende mange i kontrollgruppene meldte om bivirkninger.

Allergisk reaksjon er en fryktet bivirkning ved bruk av bakteriofager, men det har ikke blitt rapportert på over 50 år (66). Dagens moderne rensnings- og produksjonskrav reduserer risikoen for forurensning, og dermed allergiske reaksjoner (66). En kroppslig reaksjon på bakteriofager skulle kunne forårsakes av immunforsvarets utskillelse av bakteriofag-antistoffer

eller økt cytokinutskillelse. I kasusrapporten publisert av Cano *et al.* (51) påvist ingen endring i bakteriofag-antistoff under bakteriofagterapi, hvilket peker på at pasienten ikke ble immun mot bakteriofagene under behandlingen. Samtidig observertes lett økning av TNF-alfa i serum, men reduksjon av samtlige andre inflammasjonsmarkører, under intravenøs bakteriofagterapi (51). To av kasusrapportene viser normalisering av vitale parametere og CRP under bakteriofagterapi (56, 58). Kanskje kan bakteriofagterapi redusere inflammasjonen i kroppen gjennom effektiv infeksjonsbehandling. Dessuten tyder mye på at bakteriofagterapi er trygt for mennesker (42).

4.3.5 Reguleringen av bakteriofagbehandlingene i kasuistikkene

På grunn av manglende evidensgrunnlag er bakteriofager ikke tillatt som antimikrobiell terapi på mennesker av EMA eller FDA. Flere av kasusrapportene utfører bakteriofagterapi under Artikkel 37 i Helsinki-deklarasjonen, gjennom særgodkjennelse fra FDA, eller ved tillatelse av Eliava-instituttets særgodkjennelse i Georgia (49, 51, 54-56).

Kasuistikkene beskriver ulike metoder for å anskaffe seg bakteriofagprodukter. Enkelte isolerte og produserte egne bakteriofagterapeutika, der de angir at de fulgte GMP-retningslinjene, slik som i studien «Phagoburn» (71). Noen kasusrapporter utnyttet seg av ferdige, standardiserte bakteriofagterapeutika, for eksempel cocktailen AB-P01 (49, 58). Andre testet ulike sekvenserte bakteriofager fra bakteriofagbiblioteket PhageBank (51). En del fikk ferdige bakteriofagprodukter utlevert fra Eliava-instituttet etter å ha sendt kultur av den patogene bakterien dit (30, 38, 55). Det er ikke konsensus om hvilken metode som er mest effektiv.

4.4 utfordringer ved bakteriofagterapi

Forfatterne av kasusrapportene diskuterer flere utfordringer ved bakteriofagterapi, blant annet de følgende: (1) Manglende klare retningslinjer for bruk av bakteriofagterapi, med medfølgende usikkerhet vedrørende optimal dosering, administrasjonsform og -intervall. (2) Bakteriofagens ukjente farmakokinetikk og -dynamikk, som er en utfordring med tanke på valg av administrasjonsform, og bakteriofagens holdbarheten ved forvaring. (3) Sekvensering og kontroll av bakteriofagens arvestoff for analyse av potensielt skadelige genprodukter. Prosessen er tidskrevende, og i tillegg forekommer gensekvenser i bakteriofaggenomet av ukjent betydning, kalt Open Reading Frame (ORF). ORFer kan potensielt kode for skadelige proteiner. (4) Endotoksinkonsentrasjonen i bakteriofagproduktet; en begrensende faktor ved dosering. (5) Utvikling av bakteriofagresistente bakterier, med medfølgende behov av stadig dyrkning og testing, hvilket krever at terapien må formes deretter. (6) I enkelte kasusrapporter beskrives det

en usikkerhet over hvordan anskaffe bakteriofagprodukter. Her etterlyses bedre logistikk for å underlette for bruken av bakteriofager.

Enkelte problemstillinger kan drøftes ut fra kasusrapportene som helhet. For det første peker undersøkelsesresultatene i retning av at, for å komme videre med bakteriofagterapi, må det utføres flere RCT, ikke minst med fokus på sammenlikning av bakteriofagterapeutika med antimikrobielle midler alene og i kombinasjonsterapi. Studiene bør i større grad fokusere på bakteriofagens farmakokinetikk; dette ved hyppig prøvetaking for å undersøke halveringstid og eliminasjonsveier i kroppen. Samtidig peker mye på at bakteriofagterapi passer enkelte infeksjonstyper bedre enn andre. I kasusrapportene behandles kronisk syke pasienter med dårlig prognose, og infeksjoner forårsaket av MDR bakterier med gjentakende behandlingssvikt. Dette er imidlertid en populasjon som er vanskelig å standardisere. Hvordan utformes studier som reflekterer bakteriofagens terapeutiske potensial? Det er dog mange pågående studier (Tabell 2), hvilket tyder på at området kommer utvikles i årene fremover. Det er viktig å breie kunnskapen om bakteriofagterapi, for å kunne utforme retningslinjer for behandlingsformen, og i sin tur endre reguleringen.

For det andre må regelverket tilpasses bakteriofagterapi. Legemiddelindustrien er til stor del «strømlinjeformet», og reglementet tilpasset deretter. Bakteriofagterapeutika kan ikke standardiseres uten å miste mange av sine fordeler. Årsaken er delvis på grunn av bakteriofagens spesifisitet til bestemte bakteriestammer innenfor en art. Dette øker risikoen for at bakteriofagene i et standardisert bakteriofagprodukt ikke kan infisere patogenet, og dermed mister sin terapeutiske effekt. Reglementet må justeres slik at bakteriofagens egenskaper kan utnyttes, samtidig som dette skjer innenfor trygge regulerte omstendigheter. Som en start bør bakteriofagterapi tillates innen visse rammer, særlig til bruk ved behandlingsresistente kroniske infeksjoner.

For det tredje må den kliniske praksisen tilpasses bakteriofagterapi for å kunne utnytte bakteriofagterapiens dynamiske potensiale. Blant annet burde det tas kontinuerlige bakteriedyrkinger under bakteriofagterapi for å løpende undersøke bakterienes resistensprofil. Ved behandlingssvikt på grunn av bakteriofagresistente bakteriemutanter må bakteriofagterapeutika kunne modifiseres. Dog vanskeliggjøres modifiseringen av den begrensede tilgjengeligheten av validerte bakteriofagprodukter. Flere bakteriofagbibliotek burde opprettes for å kunne arkivere bakteriofager, øke tilgjengelighet og underlette produksjonen av bakteriofagterapeutika.

4.5 Blikket fremover

Ingen av kasusrapportene kan avskrive muligheten for at pasientens bedring var avhengig av bakteriofagterapi. Mange av pasientene hadde langvarige problem med kroniske infeksjoner som opphørte først etter bakteriofagbehandling. Ser man på alle kasuistikkene som en helhet, er det sannsynlig at flere pasienter ble bedre som en direkte følge av bakteriofagterapi. I samtlige kasuistikker ble det observert klinisk bedring etter bakteriofagterapi, og 20 av dem beskriver vellykket behandling. Selv om dette er gjennomgående gode resultater, er det mulig at kasuistikker der behandlingen mislykkes ikke publiseres i like stor grad som ved vellykket behandling (publiseringsbias). Dette er i så fall uheldig, da det er ønskelig å studere sammenhenger mellom ulike mislykkede behandlinger og andre variabler.

På grunn av bakteriofagens spesifisitet er det usannsynlig at bakteriofagterapi kan erstatte bredspektrede antimikrobielle midler. I akutte situasjoner med behov for øyeblikkelig antimikrobiell terapi finnes ikke tid til sensibilitetstesting for bakteriofager. Det er imidlertid svært viktig å bevare bredspektrede antimikrobielle midlers effektivitet. Dette gjennom å kun bruke dem når høyst nødvendig, og i begrensede perioder. Det er fremdeles usikkert hvilken plass bakteriofager eventuelt kommer til å ha i klinikken, og i denne oppgaven er det hovedsakelig fokusert på infeksjonsbehandling. Det finnes imidlertid flere potensielle bruksområder; tre av dem nevnes her.

4.5.1 Bakteriofager til dekolonisering av bærerskap med MDR-bakterier

Bakteriofagterapi kan brukes for å dekolonisere bærerskap av MDR-bakterier. Ved å dekolonisere pasienter som skal inn til kirurgi, eller gjennomgå andre immunkompromitterende behandlinger, kan infeksjoner med behandlingsresistente bakterier forhindres. Kasuistikken publisert av Corbellino *et al.* (52) beskriver en pasient med karbapenemase-produserende *K. pneumoniae*-bærerskap i tarm som forårsaket gjentagende UVI. Bakteriofagterapi behandlet ikke bare urinveisinfeksjonen, men dekoloniserte også pasientens tarm. Dekoloniseringen fjernet MDR *K. pneumoniae*, slik at den ikke kunne forårsake flere infeksjoner i pasienten. Denne formen for primærprofylakse kan være et viktig tilskudd i en verden med økende AMR og bør utforskes videre. Her bør det også undersøkes hvilke administrasjonsformer som egner seg best utenfor sykehuset. I det internasjonale og tverrfaglige samarbeidsprosjektet KLEB_GAP forskes det på dekolonisering av *K. pneumoniae* ved bruk av bakteriofager, både innen klinisk bruk på mennesker, veterinærmedisin og havbruk.

4.5.2 Desinfisering med bakteriofager

I studien av Ho *et al.* (77) ble bakteriofager brukt for å desinfisere isolasjonsrom på intensivavdelinger for karbapenem-resistente *A. baumannii* (CRAB). Her ble det observert en signifikant reduksjon i forholdet mellom CRAB og totalt antall *A. baumannii*, samtidig som andelen karbapenem-sensitive *A. baumannii* økte. Dette peker på at bakteriofager kan redusere andelen resistente bakterier i miljøet og desinfisere overflater for spesifikke patogene bakterier.

4.5.3 Bakteriofagterapi som presisjonsmedisin

Bakteriofagterapi er en form for presisjonsmedisin – også kalt persontilpasset medisin – som krever detaljert kunnskap om infeksjonsagens for å tilpasse behandling på individnivå; i.e. empirisk behandling vil ikke være funksjonell. Hvis bakteriofagterapi skal implementeres i helsevesenet må det klarlegges hvilke pasienter som skal ha bakteriofagterapi, samtidig som systemet for å kunne skreddersy behandlingen må være på plass.

4.6 Styrker og svakheter ved denne studien

En styrke ved denne studien er, at den representerer en analyse av et systematisk utført litteratursøk på kasuistikker med bruk av bakteriofagterapi mot Gram-negative bakterieinfeksjoner. Studien tilstreber å være dekkende for engelskspråklig litteratur og gir en oversikt over bruk av bakteriofagterapi som nødbehandling. Dette gir også en indikasjon på hvordan bakteriofagterapi i fremtiden kan utnyttes mer systematisk på bredere indikasjon. Selv om det er få studier i litteraturen, har det stor verdi å sammenstille resultatene fra dem, ettersom kunnskapen på området er så ufullstendig. Resultatene i kasusrapportene peker i stor grad i samme retning, som i noen grad kompenserer for det lille datasettet.

Det er flere svakheter ved denne studien. For det første er bakteriofagterapi foreløpig et relativt utforsket emne, som begrenser antallet tilgjengelige kasusrapporter og studier. I tillegg er en stor del av studiene på fremmedspråk, hvilket begrenser litteraturens tilgjengelighet. For det andre omfatter denne studien få pasienter, og resultatene må tolkes med forsiktighet. Dessuten varierer utførelsen av bakteriofagterapi stort, noe som reduserer sammenliknbarheten mellom dem. For det tredje har variablene ikke vært eksakt angitt i alle kasusrapporter, men tendensen har i flere studier vært mulig å estimere av undertegnede gjennom tolkninger og beregninger av tilgjengelige data.

5 Konklusjon

Denne oppgaven viser at i de 26 kasuistikkene brukes bakteriofagterapi med stor suksess som nødbehandling for pasienter med behandlingsresistente og ofte kroniske infeksjoner med svært antibiotikaresistente bakterier – ikke sjeldent assosiert med biofilmdannelse. Ingen kasuistikker beskriver bivirkninger av bakteriofagterapi, og trolig er bakteriofagterapi trygt for mennesker. I litteraturoversikten ses stor variasjon i dosering, administrasjon og behandlingens lengde av bakteriofagterapi, hvilket kan ha sammenheng med manglende kunnskap om farmakokinetikk og -dynamikk. Sannsynligvis er høyere bakteriofagkonsentrasjoner, flere doseringer og valg av administrasjonsform i henhold til infeksjonstype, viktig for utfallet av bakteriofagbehandling. I kasuistikkene ses en overveiende bruk av bakteriofagcocktail, samt bakteriofagterapi i kombinasjon med tradisjonelle antimikrobielle midler. Effekten av bakteriofager som monoterapi er usikker, men mye peker på at bakteriofagterapi og tradisjonelle antimikrobielle midler kompletterer hverandre. Majoriteten av bakteriofagbehandlingene er vellykkede, hvilket kan gi en pekepinn på bakteriofagterapiens potensiale som alternativ antimikrobiell behandling.

I denne studien diskuteres flere utfordringer med bakteriofagterapi, som for en stor del grunner i mangelfulle systematiske studier om bakteriofagterapi som tilfredsstillende moderne krav til legemiddelutprøving. For å komme videre med bakteriofagterapi er det behov for strukturerte studier som kan breie evidensgrunnlaget, samt kartlegge bakteriofagenes farmakokinetikk og -dynamikk. Dette er viktig for å kunne utforme retningslinjer for bruk av bakteriofagterapi og for å kunne argumentere for å tilpasse legemiddelreguleringen til behandlingsformen. Selv om bakteriofagterapi skulle kunne tilpasses etter dagens rammer for legemiddelpraksis (blant annet GMP, patentering, standardisering av legemiddelproduksjon) er det vanskelig å gjennomføre uten at det går på bekostning av flere av bakteriofagterapiens fordeler. Bakteriofagterapi er en form for presisjonsmedisin som trenger en dynamisk og persontilpasset tilnærming. For å underlette bruken av bakteriofagterapi bør man opprette bakteriofagbibliotek, der godkjente terapeutiske bakteriofager er arkivert og tilgjengelig. Trolig må verden belage seg på økende AMR i fremtiden, og bakteriofagterapi kan utvilsomt være et nyttig bidrag for å håndtere konsekvensene.

Referanseliste

1. (WHO) WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance.; 2014.
2. Moxon ER. Darwin, Microbes and Evolution by Natural Selection. In: Curtis N, Finn A, Pollard AJ, editors. Hot Topics in Infection and Immunity in Children VII. New York, NY: Springer New York; 2011: 77-86.
3. Soumet C, Méheust D, Pissavin C, Le Grandois P, Frémaux B, Feurer C, et al. Reduced susceptibilities to biocides and resistance to antibiotics in food - associated bacteria following exposure to quaternary ammonium compounds. *J Appl Microbiol*. 2016;121(5):1275-81.
4. Denyer SP, Hugo WB. Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology. Chichester, West Sussex, U.K. ; Hoboken, N.J.: Wiley-Blackwell; 2011.
5. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2013;11:297+.
6. Kirchhelle C. Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). Palgrave Communications. 2018;4(1):96.
7. FHI. Én-helse (One Health)2020 [02.05.21]. Tilgjengelig fra: <https://www.fhi.no/sv/smittsomme-sykdommer/smitte-fra-mat-vann-dyr/flere-artikler/en-helse/>.
8. Tepekule B, Abel zur Wiesch P, Kouyos RD, Bonhoeffer S. Quantifying the impact of treatment history on plasmid-mediated resistance evolution in human gut microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(46):23106-16.
9. Bush K. Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Curr Opin Microbiol*. 2010;13(5):558-64.
10. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, 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(3):268-81.
11. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SM, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci*. 2015;22(1):90-101.
12. Musicha P, Cornick JE, Bar-Zeev N, French N, Masesa C, Denis B, et al. Trends in antimicrobial resistance in bloodstream infection isolates at a large urban hospital in Malawi (1998-2016): a surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(10):1042-52.
13. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(1):56-66.
14. Izadpanah M, Khalili H. Antibiotic regimens for treatment of infections due to multidrug-resistant Gram-negative pathogens: An evidence-based literature review. *J Res Pharm Pract*. 2015;4(3):105-14.
15. Arnold RS, Thom KA, Sharma S, Phillips M, Kristie Johnson J, Morgan DJ. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *South Med J*. 2011;104(1):40-5.
16. Bruslind L. General microbiology. 1 ed: Oregon State University; 2020.
17. NORM/NORM-VET 2019. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway. Tromsø / Oslo; 2020. Report No.: ISSN:1502-2307 (print) / 1890-9965 (electronic).
18. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, et al. An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-

- producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis*. 2010;50(3):364-73.
19. Adair FW, Geftic SG, Gelzer J. Resistance of *Pseudomonas* to Quaternary Ammonium Compounds. I. Growth in Benzalkonium Chloride Solution. *Applied Microbiology*. 1969;18(3):299-302.
 20. Gellatly SL, Hancock REW. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathog Dis*. 2013;67(3):159-73.
 21. Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP, Brock TD. Brock biology of microorganisms. 13th ed. ed. Boston, Mass: Pearson; 2012.
 22. Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. Prescott's Microbiology. New York: McGraw-Hill Education; 2014. 1014.
 23. Lewis K. Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Mosc)*. 2005;70(2):267-74.
 24. Twort FW. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *The Lancet*. 1915;186(4814):1241-3.
 25. d'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. 1917;Paris 165:373-5.
 26. Patey O, McCallin S, Mazure H, Liddle M, Smithyman A, Dublanchet A. Clinical Indications and Compassionate Use of Phage Therapy: Personal Experience and Literature Review with a Focus on Osteoarticular Infections. *Viruses*. 2018;11(1).
 27. Ofir G, Sorek R. Contemporary Phage Biology: From Classic Models to New Insights. *Cell*. 2018;172(6):1260-70.
 28. Borges AL, Davidson AR, Bondy-Denomy J. The Discovery, Mechanisms, and Evolutionary Impact of Anti-CRISPRs. *Annu Rev Virol*. 2017;4(1):37-59.
 29. Kabir MH. Novel diagnostic methods for rapid characterization of extended-spectrum β -lactamase- and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Stockholm: Karolinska Institute; 2019.
 30. Khawaldeh A, Morales S, Dillon B, Alavidze Z, Ginn AN, Thomas L, et al. Bacteriophage therapy for refractory *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infection. *Journal of Medical Microbiology*. 2011;60(11):1697-700.
 31. Pirnay J-P, Verbeken G, Rose T, Jennes S, Zizi M, Huys I, et al. Introducing yesterday's phage therapy in today's medicine. *Future Virology*. 2012;7(4):379-90.
 32. Hyman P. Phages for Phage Therapy: Isolation, Characterization, and Host Range Breadth. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019;12(1).
 33. Parikka KJ, Le Romancer M, Wauters N, Jacquet S. Deciphering the virus - to - prokaryote ratio (VPR): insights into virus-host relationships in a variety of ecosystems. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2017;92(2):1081-100.
 34. Law N, Logan C, Yung G, Furr C-LL, Lehman SM, Morales S, et al. Successful adjunctive use of bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a cystic fibrosis patient. *Infection*. 2019;47(4):665-8.
 35. Duplessis C, Biswas B, Hanisch B, Perkins M, Henry M, Quinones J, et al. Refractory *Pseudomonas* Bacteremia in a 2-Year-Old Sterilized by Bacteriophage Therapy. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2017;7(3):253-6.
 36. Durack J, Lynch SV. The gut microbiome: Relationships with disease and opportunities for therapy. *J Exp Med*. 2019;216(1):20-40.
 37. Rohde C, Resch G, Pirnay J-P, Blasdel BG, Debarbieux L, Gelman D, et al. Expert Opinion on Three Phage Therapy Related Topics: Bacterial Phage Resistance, Phage Training and Prophages in Bacterial Production Strains. *Viruses*. 2018;10(4):178.

38. Kuipers S, Ruth MM, Mientjes M, de Sévaux RGL, van Ingen J. A Dutch Case Report of Successful Treatment of Chronic Relapsing Urinary Tract Infection with Bacteriophages in a Renal Transplant Patient. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2019;64(1):e01281-19.
39. Lerminiaux NA, Cameron ADS. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*. 2019;65(1):34-44.
40. Sparks H. Genetic Removal of Toxin and Integrase Genes from a Staphylococcal Bacteriophage. Montana, USA Montana Technological University; 2020.
41. Chan BK, Turner PE, Kim S, Mojibian HR, Elefteriades JA, Narayan D. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evolution, Medicine, and Public Health*. 2018;2018(1):60-6.
42. Caflisch KM, Suh GA, Patel R. Biological challenges of phage therapy and proposed solutions: a literature review. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019;17(12):1011-41.
43. Dufour N, Delattre R, Ricard J-D, Debarbieux L. The Lysis of Pathogenic *Escherichia coli* by Bacteriophages Releases Less Endotoxin Than by β -Lactams. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;64(11):1582-8.
44. EMA. Good manufacturing practice [28.04.21]. Tilgjengelig fra: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice>.
45. WMA. WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects 2013 [28.04.21]. Tilgjengelig fra: <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>.
46. Ly-Chatain MH. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Front Microbiol*. 2014;5:51.
47. NIH. Clinical Trials. U.S National Library of Medicine 2021.
48. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71.
49. Aslam S, Courtwright AM, Koval C, Lehman SM, Morales S, Furr C-LL, et al. Early clinical experience of bacteriophage therapy in 3 lung transplant recipients. *American Journal of Transplantation*. 2019;19(9):2631-9.
50. Bao J, Wu N, Zeng Y, Chen L, Li L, Yang L, et al. Non-active antibiotic and bacteriophage synergism to successfully treat recurrent urinary tract infection caused by extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):771-4.
51. Cano EJ, Caflisch KM, Bollyky PL, Van Belleghem JD, Patel R, Fackler J, et al. Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity. *Clinical Infectious Diseases*. 2020.
52. Corbellino M, Kieffer N, Kutateladze M, Balarjishvili N, Leshkasheli L, Askilashvili L, et al. Eradication of a Multidrug-Resistant, Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolate Following Oral and Intra-rectal Therapy With a Custom Made, Lytic Bacteriophage Preparation. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;70(9):1998-2001.
53. Ferry T, Boucher F, Fevre C, Perpoin T, Chateau J, Petitjean C, et al. Innovations for the treatment of a complex bone and joint infection due to XDR *Pseudomonas aeruginosa* including local application of a selected cocktail of bacteriophages. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;73(10):2901-3.
54. Gainey AB, Burch A-K, Brownstein MJ, Brown DE, Fackler J, Horne BA, et al. Combining bacteriophages with cefiderocol and meropenem/vaborbactam to treat a pan-drug

- resistant *Achromobacter* species infection in a pediatric cystic fibrosis patient. *Pediatric Pulmonology*. 2020;55(11):2990-4.
55. Hoyle N, Zhvaniya P, Balarjishvili N, Bolkvadze D, Nadareishvili L, Nizharadze D, et al. Phage therapy against *Achromobacter xylosoxidans* lung infection in a patient with cystic fibrosis: a case report. *Research in Microbiology*. 2018;169(9):540-2.
 56. Jennes S, Merabishvili M, Soentjens P, Pang KW, Rose T, Keersebilck E, et al. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in a patient with acute kidney injury—a case report. *Critical Care*. 2017;21(1):129.
 57. Lebeaux D, Merabishvili M, Caudron E, Lannoy D, Van Simaey L, Duyvejonck H, et al. A Case of Phage Therapy against Pandrug-Resistant *Achromobacter xylosoxidans* in a 12-Year-Old Lung-Transplanted Cystic Fibrosis Patient. *Viruses*. 2021;13(1):60.
 58. Maddocks S, Fabijan AP, Ho J, Lin RCY, Zakour NLB, Dugan C, et al. Bacteriophage Therapy of Ventilator-associated Pneumonia and Empyema Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2019;200(9):1179-81.
 59. Nir-Paz R, Gelman D, Khouri A, Sisson BM, Fackler J, Alkalay-Oren S, et al. Successful Treatment of Antibiotic-resistant, Poly-microbial Bone Infection With Bacteriophages and Antibiotics Combination. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;69(11):2015-8.
 60. Qin J, Wu N, Bao J, Shi X, Ou H, Ye S, et al. Heterogeneous *Klebsiella pneumoniae* Co-infections Complicate Personalized Bacteriophage Therapy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021;10(880).
 61. Rostkowska OM, Międzybrodzki R, Miszewska-Szyszkowska D, Górski A, Durlik M. Treatment of recurrent urinary tract infections in a 60-year-old kidney transplant recipient. The use of phage therapy. *Transplant Infectious Disease*. 2021;23(1):e13391.
 62. Rubalskii E, Ruemke S, Salmoukas C, Boyle EC, Warnecke G, Tudorache I, et al. Bacteriophage Therapy for Critical Infections Related to Cardiothoracic Surgery. *Antibiotics*. 2020;9(5):232.
 63. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017;61(10):e00954-17.
 64. Marza JAS, Soothill JS, Boydell P, Collyns TA. Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns*. 2006;32(5):644-6.
 65. Tkhilaishvili T, Winkler T, Müller M, Perka C, Trampuz A. Bacteriophages as Adjuvant to Antibiotics for the Treatment of Periprosthetic Joint Infection Caused by Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2019;64(1):e00924-19.
 66. Speck P, Smithyman A. Safety and efficacy of phage therapy via the intravenous route. *FEMS Microbiol Lett*. 2016;363(3):242.
 67. Gaddy JA, Actis LA. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol*. 2009;4(3):273-8.
 68. Nirwati H, Sinanjung K, Fahrnunissa F, Wijaya F, Napitupulu S, Hati VP, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. *BMC Proceedings*. 2019;13(11):20.
 69. Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant

- Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. Clin Otolaryngol. 2009;34(4):349-57.
70. Lin N-T, Chiou P-Y, Chang K-C, Chen L-K, Lai M-J. Isolation and characterization of ϕ AB2: a novel bacteriophage of *Acinetobacter baumannii*. Res Microbiol. 2010;161(4):308-14.
71. Jault P, Leclerc T, Jennes S, Pirnay JP, Que YA, Resch G, 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(1):35-45.
72. JoAczyk E, Kaak M, MiAdzybrodzki R, Gorski A. The influence of external factors on bacteriophages—review. Folia Microbiol (Praha). 2011;56(3):191-200.
73. Bruttin A, Brüßow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(7):2874-8.
74. Gupta P, Singh HS, Shukla VK, Nath G, Bhartiya SK. Bacteriophage Therapy of Chronic Nonhealing Wound: Clinical Study. Int J Low Extrem Wounds. 2019;18(2):171-5.
75. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. Ups J Med Sci. 2019;124(4):218-27.
76. Oechslin F, Piccardi P, Mancini S, Gabard J, Moreillon P, Entenza JM, et al. Synergistic Interaction Between Phage Therapy and Antibiotics Clears *Pseudomonas Aeruginosa* Infection in Endocarditis and Reduces Virulence. J Infect Dis. 2017;215(5):703-12.
77. Ho Y-H, Tseng C-C, Wang L-S, Chen Y-T, Ho G-J, Lin T-Y, et al. Application of Bacteriophage-containing Aerosol against Nosocomial Transmission of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit. PLoS One. 2016;11(12):e0168380-e.

Vedlegg: Kunnskapsevaluering

Referanse: Ho, Yu-Huai, Tseng, Chun-Chieh, Wang, Lih-Shinn, Chen, Yi-Ting, Ho, Guan-Jin, Lin, Teng-Yi, Wang, Ling-Yi, & Chen, Li-Kuang. (2016). Application of Bacteriophage-containing Aerosol against Nosocomial Transmission of Carbapenem-Resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> in an Intensive Care Unit. PLoS One, 11(12), e0168380–e0168380. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168380		Studiedesign: Avbrutte tidsserier	
		Grade - kvalitet	Lav-middels
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer/sjekkliste
<p>Formålet med studien var å undersøke effektiviteten av miljødekontaminering med bakteriofagterapi i kombinasjon med daglig desinfeksjonspraksis for å hindre spredning av carbapenem-resistent <i>Acinetobacter baumannii</i> (CRAB) i intensivavdelinger.</p>	<p>Populasjon Medisinsk og kirurgisk intensivavdeling ved sykehuset ble inkludert i studien. Pasienter med påvist CRAB-kolonisering/-infeksjon ble plassert på isolat. Der ble vertstilpassede <i>A. baumannii</i>-bakteriofager disseminert i rommet via aerosoler på alle overflater. I tillegg til standard desinfeksjonsprosedyre.</p> <p>Utfall Primære utfall var insidensen av nosokomial kolonisering eller infeksjon med CRAB. Nosokomial CRAB-insidens var definert som isolasjon av CRAB innen 48 timer etter innleggelse på intensivavdelingen hos en pasient uten tidligere historie med <i>A. baumannii</i>. Insidensen av carbapenemase-resistent <i>Pseudomonas</i> (CRPA) <i>aeruginosa</i> ble brukt som kontroll for å evaluere effekten av bakteriofager på CRAB.</p> <p>Sekundære utfall var raten mellom CRAB og totalt antall <i>A. baumannii</i>-isolater.</p> <p>Tredje utfall var bruken av antimikrobielle midler (tigecyklin, meropenem, colistin, imipenem) på intensivavdelingene målt i definerte daglige doser (DDD) per 1000 pasientdager i forhold til WHO sine anbefalinger.</p> <p>Viktige konfunderende faktorer Individuelle forskjeller mellom pasienter. Utvikling av bakteriofagresistens.</p> <p>Statistiske metoder Univariat Poisson regressjon, Mann-Whitney U-test Alle statistiske analyser ble utført i SAS.</p>	<p>Hovedfunn Insidensen for CRAB-påvisning falt fra 8,57 til 5,11 per 1000 pasientdager ($p = 0,0029$). Ingen signifikant endring forekom i insidensen av CRPA.</p> <p>Bifunn Prosenten av CRAB i forhold til total <i>A. baumannii</i>-isolater falt fra 87,8 % til 46,1 % ($p = 0,001$), samtidig som carbapenem-følsomme <i>A. baumannii</i> steg fra 17,2 % til 52,6 %.</p> <p>Etter intervensjonen med bakteriofagterapi skjedde en signifikant reduksjon i forbruket av alle antimikrobielle midler, unntatt imipenem. For colistin falt forbruket fra 7876 DDD per 1000 pasientdager før intervensjon til 3158 DDD per 1000 pasientdager etter intervensjon ($p = 0,018$). Tigecyklin-forbruket minsket fra 2737 DDD per 1000 pasientdager før til 753 DDD per 1000 pasientdager ($p = 0,0005$). Meropenem minsket fra 5084 DDD per 1000 pasientdager til 2469 DDD per 1000 pasientdager ($p = 0,039$). Imipenem minsket fra 1384 DDD per 1000 pasientdager til 1101 DDD per 1000 pasientdager etter intervensjon ($p = 0,3959$).</p>	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Er formålet klart formulert? Ja • Var studien basert på et tilfeldig utvalg fra en egnet pasientgruppe? Ja • Var inklusjonskriteriene klart definert? Ja • Ble det brukt objektive kriterier for å vurdere/validere endepunktene? Ja • Er pasientpopulasjonen tilstrekkelig beskrevet? Nei, pasientpopulasjonen er ikke beskrevet i artikkelen. • Er prognostiske/konfunderende faktorer beskrevet/tatt hensyn til i design/analyse? Enkelte konfunderende faktorer er beskrevet i analysen. • Var registreringen prospektiv? Ja, men retrospektive data ble brukt til sammenlikning. • Var oppfølgingen lang nok? Ja • Var oppfølgingen tilstrekkelig for å nå endepunktene? Ja • Stoler du på resultatene? Ja • Kan resultatene overføres til praksis? Ja • Annen litteratur som støtter resultatene? Ja <p>Styrke: Hver bakteriofag som ble brukt ble vertstilpasset mot pasientens <i>A. baumannii</i>-isolat.</p> <p>Svakhet: Under studien vurderes ikke bakteriens utviklingen av bakteriofagresistens. Spredningen av bakteriofag-aerosoler gjennomførtes mens pasienten var ute av rommet, dermed ble ikke enkelte overflater dekontaminert, for eksempel pasientsengen.</p> <p>Har resultatene plausible biologiske forklaringer? Ja</p>
Konklusjon			
Bakteriofagterapi reduserte insidensen av infeksjoner forårsaket av CRAB på flere intensivavdelinger			
Land			
Taiwan			
Ar datainnsamling			
2012-2013			

Referanse: Gupta, Pooja, Singh, Hari Shankar, Shukla, Vijay K, Nath, Gopal, & Bhartiya, Satyanam Kumar. (2019). Bacteriophage Therapy of Chronic Nonhealing Wound: Clinical Study. International Journal of Lower Extremity Wounds, 18(2), 171–175. https://doi.org/10.1177/1534734619835115			Studiedesign: Pasientserie	
			Grade - kvalitet	Lav-middels
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer/sjekkliste	
Formålet med studien var å undersøke effekten av bakteriofagterapi på kroniske, ikke-helende sår infisert med <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> eller <i>P. aeruginosa</i> .	Populasjon 20 pasienter mellom 12-60 år, med kroniske (> 6 uker), ikke-helende sår som ikke responderte på standard behandling med rensning av såret og antimikrobielle midler. Pasienter med sår forårsaket av brannskader, malignitet, systemisk sykdom, arteriell sykdom, hudsykdom, kronisk granulomatøs sykdom, immunsuppressive tilstander og polymikrobielle infeksjoner ble ekskludert. Utfall – hoved utfall Klinisk (Baten Jensen Wound assessment tool (BJWAT)) og mikrobiologisk vurdering (bakteriebyrde) av sår etter applikasjon av bakteriofager. Viktige konfunderende faktorer Alder Komorbide lidelser Ernæringsstatus. Statistiske metoder Pasientenes sår fikk skår etter klinisk vurdering. Student's <i>t</i> test, Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney <i>U</i> test, Wilcoxon signed rank test ble utført i SPSS SPSS. P-verdi < 0.05 ble regnet som signifikant.	Hovedfunn Det ble observert en signifikant bedring i sårhelingen, uten tegn til infeksjon klinisk eller mikrobiologisk, etter 3-5 doser topikalt administrert bakteriofagterapi. Hos syv pasienter var såret fullstendig helet på dag 21 etter behandling. Hos andre pasienter observertes friske sårkanter og granulasjonsvev. Effektstørrelse BJWAT sammenliknet: - Dag 1 og 9: $p < 0.001$ - Dag 1 og 13: $p < 0.001$ - Dag 9 og 13: $p < 0.001$ Bifunn Gjennomsnittlig leukocyt telling redusertes signifikant fra start til slutten av behandlingen ($p < 0.001$)	Sjekkliste: <ul style="list-style-type: none"> • Er formålet klart formulert? Ja • Var studien basert på et tilfeldig utvalg fra en egnet pasientgruppe? Ja • Var inklusjonskriteriene klart definert? Ja • Var alle pasientene i samme stadium av sykdommen? Ja • Var responseraten høy nok? Ja, ingen pasienter frafalt fra studien. • Ble det brukt objektive kriterier for å vurdere/validere endepunktene? Ja og nei. Bakteriebyrde er et objektivi mål, men BJWAT er en klinisk vurdering. • Ved sammenligninger av pasientserier, er seriene tilstrekkelig beskrevet? Nei, pasientserien burde vært bedre beskrevet. • Er prognostiske/konfunderende faktorer beskrevet/tatt hensyn til i design/analyse? Konfunderende faktorer er beskrevet, men ikke tatt hensyn til i analyse. • Var registreringen prospektiv? Ja • Var oppfølgingen lang nok? Ja • Var oppfølgingen tilstrekkelig for å nå endepunktene? Ja • Stoler du på resultatene? Ja • Kan resultatene overføres til praksis? Ja • Annen litteratur som støtter resultatene? Ja Hva diskuterer forfatterne som styrke/svakhet: Diskuteres ikke. Har resultatene plausible biologiske forklaringer? Ja	
Konklusjon				
Topikal applikasjon av bakteriofager kan være effektivt i behandling av kroniske ikke-helende sår.				
Land				
India				
År datainnsamling				
2015-2016				

Referanse: Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; a preliminary report of efficacy. Clin Otolaryngol. 2009 Aug;34(4):349-57. doi: 10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x. PMID: 19673983.			Studiedesign: RCT
			Grade - kvalitet Middels
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer/sjekkliste
Formålet med studien er å evaluere effekten og tryggheten av terapeutisk bruk av bakteriofager mot antibiotikaresistent <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ved kronisk otitt.	Rekruttering deltakere Pasienter ble rekruttert gjennom Royal National Throat, Nose and Ear hospital, London, og gjennom henvisninger fra nærliggende områder. Inklusjonskriterier: - Langvarig (minst 2 år), behandlingsresistent kronisk otitt med purulent sekresjon forårsaket av <i>P. aeruginosa</i> Eksklusjonskriterier: - Nylig lokal kirurgi - Nåværende antibiotikabruk - HIV positive - Kvinner som potensielt er gravide	Hovedfunn Signifikant klinisk bedring ble observert i intervensjonsgruppen sammenliknet med kontrollgruppen, uavhengig av konfunderende faktorer. Signifikant reduksjon av pasientenes ubehag ($p < 0,05$), klinikerens vurdering av infeksjonens alvorlighetsgrad ($p < 0,05$) og i bakteriebyrde ($p < 0,001$) i intervensjonsgruppen, men ikke for kontrollgruppen. Ingen alvorlige bivirkninger ble rapportert. 26 milde til moderate bivirkninger ble rapportert. 6 pasienter som fikk bakteriofagterapi og 5 pasienter som fikk placebo meldte om bivirkninger. Alle unntatt to gikk over innen dag 42 etter behandling. Bifunn Som mest replikerte fem av seks bakteriofager fra cocktailen seg i én pasient. Gjennomsnittlig tid på bakteriofagreplikasjon var 23,1 dager (median 21 dager).	<ul style="list-style-type: none"> • Er formålet klart formulert? Ja • Hvem er inkludert/ekskludert? Seleksjonen av pasienter er tydelig definert, se inklusjon- og eksklusjonskriterier. Generaliserbarheten er lav på grunn av spesifikk diagnose og liten populasjon • Var gruppene like ved starten? Ja, både alder og kjønn var tilnærmet likt i gruppene. • Randomiseringsprosedyre? Tilfredsstillende. Blokkrandomisering med fire grupper ble gjennomført av en tredje part • Ble deltakere/studiepersonell blindet mht gruppetilhørighet? Ja • Ble gruppene behandlet likt utover «intervensjonen»? Ja • Primære endepunktet – validert? (Classificatin bias?) • Ble deltakerne gjort rede for på slutten av studien? Ja, ingen deltagere hoppet av i løpet av studien. • Hva er resultatene? Presisjon? «Change from baseline» gitt i prosent. P-verdier. • Kan resultatene overføres til praksis? Ja • Ble alle utfallsmål vurdert? Ja, de viktigste utfallsmålene er vurdert. • Er fordelene verdt ulemper/kostnader? Ja • Annen litteratur som styrker resultatene? Ja <p>Hva diskuterer forfatterne som styrke/svakhet? Diskuteres ikke i artikkelen.</p> <p>Har resultatene plausible forklaringer? Ja</p>
Konklusjon	Datagrunnlaget 44 pasienter ble vurdert og fikk tatt dyrkningsprøve fra øret. Dette for å bekrefte <i>P. aeruginosa</i> som infeksjonsagens og teste sensitivitet til minst én av seks bakteriofager i cocktailen. 24 pasienter ble inkludert i studien og randomisert slik at tolv fikk bakteriofagterapi og tolv fikk placebo. Pasientens ubehag og klinikerens vurdering (VAS-skår), samt mikrobiologisk dyrkning og telling ble rapportert dag 0, 7, 21 og 42 etter administrert behandling. Utfall Det primære utfallsmålet var å vurdere effekt av bakteriofagterapi i forhold til placebo. Det sekundære endepunktet var eventuelle bivirkninger av bakteriofagterapien. Eksponeeringsvariabler: Validert. Ingen annen behandling (antibiotika) ble brukt under studiens løp. Konfunderende faktorer: - Mastoid affeksjon - Kronisk ekstern otitt - Trommehinneperforasjon Statistiske metoder Statistisk analyse utført i SAS. Resultat ble utregnet gjennom kovariansanalyse og kji-kvadrattest.		
Land			
Storbritannia			
År datainnsamling			
2009			

Referanse: Jault P, Leclerc T, Jennes S, Pirnay JP, Que YA, Resch G, Rousseau AF, Ravat F, Carsin H, Le Floch R, Schaal JV, Soler C, Fevre C, Arnaud I, Bretaudeau L, Gabard J. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. <i>Lancet Infect Dis.</i> 2019 Jan;19(1):35-45. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30482-1. Epub 2018 Oct 3. PMID: 30292481.		Studiedesign: RCT																																							
Formål		Grade - kvalitet Middels																																							
Materiale og metode		Diskusjon/kommentarer/sjekkliste																																							
Formålet med studien er å undersøke effektivitet og tolerabilitet av en cocktail med lytiske anti-<i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakteriofager i forhold til standard behandlingsregime (Sulfadiazime silver) hos brannskadede pasienter.	Rekruttering deltakere Pasienter behandlet for brannskader ble henvist fra brannskadesentre ved ni sykehus i Frankrike og Belgia. Inklusjonskriterier: Pasienter over 18 år med brannskader klinisk infisert av <i>P. aeruginosa</i> . Eksklusjonskriterier: Gravide eller ammende kvinner; Komorbiditet som kan påvirke resultat; Bivirkninger på standardbehandling Datagrunnlaget 27 pasienter ble rekruttert. Totalt 25 stykk mottok behandling: tolv bakteriofagterapi; 13 standardbehandling. Behandlingen ble applisert topikalt i syv dager med en oppfølgingsperiode på 14 dager. Daglig mikrobiologisk dyrkning og telling dannet grunnlaget for dataen i studien.	Resultater Hovedfunn Det primære endepunkt viste at intervensjonsgruppen nådde vedvarende reduksjon i bakteriebyrde etter median 144 timer (95 % KI = 48-ikke nådd), mot 47 timer (KI = 23 – 122) for kontrollgruppen (HR = 0,29, KI = 0,10 – 0,79, p = 0,018). Ingen signifikant endring ble funnet uten justering for antibiotikabruk. Antibiotikabehandling ble startet hos to i intervensjonsgruppen og fem i kontrollgruppen. Ved justering for pågående antibiotikabehandling (konfunderende faktor) under studiens behandlingsdager, var det å være i intervensjonsgruppen den eneste prediktoren for reduksjon i bakteriebyrde (HR 0,24, 95 % KI 0,08-0,75; p = 0,014).	Sjekkliste: <ul style="list-style-type: none"> • Er formålet klart formulert? Ja • Hvem er inkludert/ekskludert? Seleksjonen av deltagere er tydelig definert, se inklusjon/eksklusjonskriterier. • Var gruppene like ved starten? Nei, ulik alder, alvorlighetsgrad på brannskadene, bakteriebyrde og dager siden skaden. • Randomiseringsprosedyre? Randomiseringen ble gjennomført av et dataprogram. Deltagerne ble randomisert med stratifisering etter studiested og pågående antibiotikabehandling ved studiestart. • Ble deltakere/studiepersonell blindet mht gruppetilhørighet? Nei, studiepersonell som appliserte behandlingene kunne skille mellom disse. • Ble gruppene behandlet likt utover «intervensjonen»? Ja • Primære endepunktet – validert? Ja • Ble deltakerne gjort rede for på slutten av studien? Ja. To deltagere (én i hver gruppe) døde etter dag 21 av studieforløpet, ikke forårsaket av behandling. • Hva er resultatene? Presisjon? P-verdier. 95 % konfidensintervall. • Kan resultatene overføres til praksis? Ja • Ble alle utfallsmål vurdert? Ja • Er fordelene verdt ulemper/kostnader? Nei • Annen litteratur som styrker resultatene? Ja 																																						
Konklusjon I svært lav konsentrasjon hadde bakteriofagterapi langsommere antimikrobiell effekt enn standard behandlingsregime.	Utfall Det primære endepunkt var median tid fra behandlingadministrasjon til vedvarende reduksjon i bakteriebyrden, justert etter nylig introdusert antibiotikabehandling rettet mot <i>P. Aeruginosa</i> . Sekundære endepunkt var: - Primære endepunkt uten justering for antibiotikabehandling. - Utvikling av bakteriebyrde i alle infiserte sår - Utvikling sår etter «French Burn Society clinical criteria» - Timing og indikasjon for tilleggende systemisk antibiotikabehandling - Insidens og timing for nye bakterieinfeksjoner i løper at de syv behandlingsdagene - Årsaker til at deltagere trakk seg fra studien Eksponeringsvariabler: Validert Viktige konfunderende faktorer Tilleggende antibiotikabehandling var tillatt under behandlingsperioden på 7 dager. 50 % intervensjonsgruppen, mot 23 % i kontrollgruppen hadde veldig høy bakteriebyrde. PFU/dose var svært lav (10^{1-2}) Statistiske metoder Statistiske analyser ble gjennomført i SAS. Cox-regresjon, log-rank test, Kaplan-Meier metode og Fisher's exact test.	<p>Number at risk</p> <table border="1"> <tr> <td>PP1131</td> <td>12</td><td>12</td><td>12</td><td>11</td><td>11</td><td>9</td><td>9</td><td>9</td><td>9</td><td>8</td><td>8</td><td>8</td><td>8</td><td>8</td><td>4</td><td>4</td><td>1</td><td>0</td> </tr> <tr> <td>Standard of care</td> <td>13</td><td>13</td><td>12</td><td>9</td><td>9</td><td>4</td><td>4</td><td>4</td><td>4</td><td>3</td><td>3</td><td>3</td><td>2</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td> </tr> </table>	PP1131	12	12	12	11	11	9	9	9	9	8	8	8	8	8	4	4	1	0	Standard of care	13	13	12	9	9	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	1	0	0	Hva diskuterer forfatterne som: <ul style="list-style-type: none"> - Styrke: Bakteriofagcocktail var produsert etter «Good manufacturing practices» og studien godkjent av flere aktører. - Svakhet: Ulike grupper tross randomisering, få deltagere, lav bakteriofagkonsentrasjon i administrerte doser, testet ikke bakteriofagsensitiviteten hos pasientenes patogen, applikasjon av bakteriofager ikke suboptimal Har resultatene plausible forklaringer? Ja
PP1131	12	12	12	11	11	9	9	9	9	8	8	8	8	8	4	4	1	0																							
Standard of care	13	13	12	9	9	4	4	4	4	3	3	3	2	2	1	1	0	0																							
Land Belgia og Frankrike																																									
Ar datainnsamling 2015-2017																																									

Referanse: Anne Bruttin, & Harald Brüssow. (2005). Human Volunteers Receiving Escherichia coli Phage T4 Orally: a Safety Test of Phage Therapy. <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i> , 49(7), 2874–2878. https://doi.org/10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005		Studiedesign: RCT	
		Grade - kvalitet	Lav - middels
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer/sjekkliste
<p>Formålet med studien var å undersøke tryggheten og toleransen av oral administrasjon av bakteriofagterapi.</p>	<p>Rekruttering deltakere 15 friske, frivillige voksne fra personalet på Nestlé Research Center.</p> <p>Inklusjonskriterier: - Friske voksne mennesker</p> <p>Eksklusjonskriterier: - Immunsuppresjon - Mage-tarm-problemer - Pågående/planlagt antibiotikabehandling - Økte transaminase-nivåer i serum - Graviditet - Bruk av laksantia - Deltagere i andre studier</p> <p>Datagrunnlaget Deltagerne fikk i randomisert rekkefølge et bakteriofagprodukt med høy konsentrasjon, lav konsentrasjon og placebo i 1 uke hver. Fæcesanalyse ble gjort hver dag, deltagerne selvrapporterte bivirkninger og en klinisk undersøkelse ble utført ved start og slutt av studien.</p> <p>Utfall validering - Primære utfall var å vurdere tryggheten og toleransen av oralt administrert bakteriofagterapi. - Sekundære utfall var å undersøke forekomsten av <i>E. coli</i>-bakteriofager i fæces. - Tredje utfall var mengden <i>E. coli</i> i deltageres fæces etter inntak av <i>E. coli</i>-T4 bakteriofager.</p> <p>Eksponeringsvariabler: Ikke validert</p> <p>Viktige konfunderende faktorer - Variasjon i deltageres tarmflora - Degenerasjon av bakteriofager i fæces</p> <p>Statistiske metoder Kruskal-Wallis test, linær blandet modell, Bonferronis korreksjon</p>	<p>Hovedfunn Alle behandlinger var godt tolerert. Fem lettere bivirkninger var rapportert. Det var rapportert like mange bivirkninger etter inntak av bakteriofagproduktene som av placebo.</p> <p>Bifunn Ingen deltager hadde coli-bakteriofager i fæces ved dag 0. Alle deltagerne hadde detekterbare <i>E. coli</i> bakteriofager i fæces etter inntak av bakteriofagproduktet med høy konsentrasjon (gjennomsnittlig 4,4 positive fæcesprøver), mot 13 av 15 etter inntak av bakteriofagproduktet med lav konsentrasjon (gjennomsnittlig 1,3 positive fæcesprøver) ($p < 0,0001$).</p> <p>Ingen forskjell ble detektert i mengden <i>E. coli</i> i fæcen mellom deltagerne som fikk bakteriofager og de som fikk placebo.</p>	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Er formålet klart formulert? Ja • Hvem er inkludert/ekskludert? En homogen, liten gruppe friske voksne mennesker, uten tilstander/legemiddelbruk som kan påvirke/påvirkes av studiens forsøk, er inkludert i studien. • Var gruppene like ved starten? Alle deltagerne fikk alle tre behandlingene, men i ulik rekkefølge. • Randomiseringsprosedyre? Prosedyre ikke beskrevet. • Ble deltakere/studiepersonell blindet mht gruppetilhørighet? Ja • Ble gruppene behandlet likt utover «intervensjonen»? Ja • Primære endepunktet – validert? Ja • Ble deltakerne gjort rede for på slutten av studien? Ja • Hva er resultatene? Presisjon? Deltageres objektive vurderinger av bivirkninger. P-verdier. • Kan resultatene overføres til praksis? Ja, trolig kan resultatene overføres til praksis, til tross for liten studiepopulasjon. • Ble alle utfallsmål vurdert? Ja • Er fordelene verdt ulemper/kostnader? Ja • Annen litteratur som styrker resultatene? Ja <p>Hva diskuterer forfatterne som:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Styrke: T4 er en fullstendig sekvensert bakteriofag uten kjente virulensgener og er dermed vurdert som trygg for mennesker. - Svakhet: <i>E. coli</i> T4 bakteriofagen lyserte nesten ingen <i>E. coli</i> kolonier <i>in vitro</i>, dermed kan betydelsen av trygghetstesting <i>in vivo</i> diskuteres. <p>Har resultatene plausible forklaringer? Ja</p>
Konklusjon			
Ingen bivirkninger som kunne tilskrives bakteriofagterapi ble rapportert			
Land			
Sveits			
År datainnsamling			
2003			

