UPPSALA
UNIVERSITET

Hur kommer bakteriofager påverka antibiotikaresistens?

Freja Sörenby

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Hur kommer bakteriofager påverka antibiotikaresistens?

Freja Sörenby

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Utbredd global antibiotikaanvändning har bidragit till allt större problem med resistens mot våra vanligaste antibiotika. Detta har lett till ett ökat intresse för identifiering och utveckling av andra metoder för behandling av multiresistenta bakterier. En av de viktigaste terapiformer som forskare har fokuserat på är användningen av bakteriofager för att behandla infektioner. De flesta är överens om att bakteriofager inte helt kan ersätta traditionella antibiotika men de har presenterats som ett mycket viktigt komplement till antibiotika. Vid svåra infektioner kan man kombinera antibiotikabehandling med bakteriofager eftersom tidigare studier visat på en synergieffekt. Behandlingar som går ut på att kombinera bakteriofager med antibiotika har i många fall gett positiva resultat.

Studier har visat att bakteriofager kan användas tillsammans med antibiotika för att kontrollera bakteriella infektioner mer framgångsrikt än traditionella antibiotikabehandling, samtidigt som man kan påverka bakteriella resistensen. Det finns redan mycket kunskap om hur samspelet mellan bakteriofager och bakterier ser ut, men det krävs en större inblick i hur detta samspel modifieras i närvaro av antibiotika, samt hur bakteriofager kan påverka evolutionen av antibiotikaresistens. En viktig utmaning är att ta reda på hur bakteriofagterapi kan komma att påverka utveckling och spridning av antibiotikaresistens. Medan vissa forskare tror att användningen av bakteriofager ensam eller ihop med antibiotika kan sakta ner resistensutveckling finns det bevis för att bakteriofager i vissa fall kan ha motsatt effekt och istället påskynda utvecklingen av antibiotikaresistens hos bakterier. Eftersom studier visar olika resultat beroende på hur de utförts, antyder det att antibiotikaresistens-utveckling varierar beroende på olika faktorer. Hur behandlingen utförts och vilka bakteriofager, antibiotika eller vilken bakterieart som används i experimentet, kan påverka resultatet.

Inledning

Människor har använt antibiotika sedan tidigt 1900-tal för att behandla bakteriella infektioner. Antibiotika är en grupp läkemedel som används för att döda bakterier på olika sätt, och vissa antibiotika fungerar bättre och snabbare än andra med varierande grad biverkningar. Redan då den första antibiotikan upptäcktes förstod man att bakterier kunde utveckla resistens mot dessa kemikalier (Torres-Barceló *et al.* 2016). Ett resultat av resistensen bland bakterier är att antibiotikaresistenta bakterier dominerar populationen, medan icke resistenta bakterier dör. En mutation kan leda till att bakterier blir mer motståndskraftiga mot antibiotika. Nya resistensmekanismer uppstår kontinuerligt och med tiden kan resistensen sprida sig till andra bakterier (Torres-Barceló *et al.* 2016). Ett sätt att påverka antibiotikaresistens är att modifiera redan befintliga antibiotika så att resistenta bakterier åter blir känsliga för läkemedel. Ett problem som kan uppstå då det kan leda till att resistensen också uppstår mot dessa antibiotikavarianter (Torres-Barceló *et al.* 2016).

Under flera år har en för hög användning av antibiotika lett till ökad resistens mot ett flertal antibiotika, så kallade multiresistenta bakterier har skapats (Deredjian *et al.* 2011). Det innebär större problem för vårdpersonal när de inte längre kan behandla alla sorters bakteriella infektioner. Spridningen av antibiotikaresistens sker både på sjukhus och ute i samhället men resistens mot antibiotika förekommer i större utsträckning hos sjukhusbakterier

på grund av större exponering (Deredjian *et al.* 2011). Det innebär mindre säkerhet på sjukhus då allt fler riskerar allvarliga infektioner ifrån resistenta bakterier. Satsningar på att hitta och utveckla nya antibiotika har minskat på senare år men eftersom infektioner blir svårare att behandla har samhället istället börjat satsa mer pengar på andra lösningar som t.ex. bakteriofagterapi (Jo *et al.* 2016).

Bakteriofager upptäcktes av forskare redan innan upptäckten av antibiotika och några år senare började forskarna att använda dessa virus för behandling av människor. Bakteriofager är vitt spridda virus som specialiserat sig på olika bakterier. Bakteriofagerna infekterar bakterieceller med sitt eget bakteriofag-DNA och förökar sig inuti bakteriecellen tills den sprängs (Sahota *et al.* 2015). De har fördelen att de snabbt kan anpassa sig till förändringar i sin miljö, vilket är viktigt eftersom bakterier kan bli resistenta mot bakteriofager (Betts *et al.* 2013). Bakteriofager är mycket art- och stamspecifika och de kan döda sina värdbakterier snabbt och effektivt (Sahota *et al.* 2015). På bakteriernas yta finns det receptorer som proteiner på bakteriofagerna känner igen och på så sätt kan bakteriofagerna infektera bakterierna (Villarroel *et al.* 2016). Bakteriofager är nischade så att en sorts bakteriofag bara infekterar en eller ett fåtal bakterietyper vilket leder till att bakteriofagterapi skonar människans naturliga bakterieflora till skillnad från antibiotika som kan slå hårt mot kroppens alla bakterier (Jo *et al.* 2016). Människor är beroende av vissa typer bakterier för olika kroppsliga funktioner och det är viktigt med en behandling som bara riktar in sig på den bakterien som är orsaken till infektionen. I den här uppsatsen används ordet behandling för att beskriva en metod för att döda bakterier och bota infektioner som orsakas av bakterier. Alla studier i uppsatsen utfördes till stor del i labbmiljöer i petriskålar och i framtiden kan de här studierna leda till nya metoder för att behandla människor.

Fördelarna med bakteriofager som läkemedel är att de är billiga att ta fram och det är inte svårt att hitta bakteriofager eftersom de alltid befinner sig runt bakterierna som de infekterar. Det är troligt att det finns mer än en bakteriofag för varje bakterieart, vilket innebär att det är lätt att se bakteriofager som en lämpligt antibakteriell agent (Mattila *et al.* 2015). Det är också möjligt att bakteriofager potentiellt kan fungera som desinfektionsmedel vilket skulle innebär att de kunde användas i medicinska syftet för att förebygga infektioner (Alves *et al.* 2014). Det finns olika behandlingsmetoder som inkluderar bakteriofager och vissa metoder fungerar bättre än andra. Förutom att kunna blanda olika bakteriofager i en bakteriofag-cocktail är det också möjligt att behandla infektioner med både antibiotika och bakteriofager (Jo *et al.* 2016). På så sätt kan man tvinga bakterien att anpassa sig till både bakteriofager och antibiotika för att kunna överleva (Jo *et al.* 2016). Flera studier har lyckats visa de många fördelarna med kombinationsterapier men det finns fortfarande många frågetecken om de långsiktiga effekterna, samt vilka metoder som fungerar bäst (Torres-Barceló *et al.* 2014, Jo *et al.* 2016). Frågeställningen i den här uppsatsen är: hur kommer användningen av bakteriofager påverka antibiotikaresistens? Det kommer också att undersökas vilka mekanismer bakteriofagerna har för att påverka antibiotikaresistens. Det är en viktig fråga som anknyter till samtida forskning inom molekylär biologi.

Utveckling och spridning av antibiotikaresistens

Genom att observera levande bakterier i deras naturliga miljöer kan man få större förståelse på antibiotikautvecklingen och hur snabbt vissa grupper av bakterier blir resistenta och vad det bero på. Det finns enormt många olika resistensegenskaper bland bakterier vilket ger de viktiga konkurrensfördelar (Rios *et al.* 2016). Eftersom många mikroorganismer producerar antibakteriella ämnen förekommer resistenta bakterier i naturliga miljöer.

Antibiotikaresistens uppstår genom mutationer av bakteriens DNA (Rios *et al.* 2016), och när antibiotikaresistenta bakterier släpps ut i naturen från sjukhus och jordbruk kan spridningen av antibiotikaresistents öka i ekosystemen (Deredjian *et al*. 2011). Resistens kan också överföras mellan bakteriestammar och mellan olika bakteriearter genom genöverföring vilket kan leda till att flera sjukdomsframkallande bakterier blir resistenta mot antibiotika. Infektioner som orsakas av resistenta bakterier har blivit ett allt större problem och eftersom resistens hos bakterier leder till bakterier som överlever behandling är det viktigt att forskare undersöker utvecklingen och kommer fram till slutsatser om vad det här kan betyder för framtiden (Deredjian *et al*. 2011). Användningen av antibiotika har selekterat för resistenta bakterier och skyndat på utvecklingen av resistens. Selektering för antibiotikaresistens kan också ske på grund av föroreningar med antibiotikarester, t.ex. ekosystem förorenade med avloppsvatten. Antibiotikaresistenta bakterier kan sprida sig snabbt mellan sjuka patienter på sjukhus och globalt genom resande och handel. Om man kan fördröja resistensutvecklingen kan det ge forskare mer tid att utföra flera studier så att nya behandlingsmetoderna kan utvecklas bättre och vara mer säkra innan de används på människor (Torres-Barceló *et al.* 2016).

Det finns studier som tittar på hur resistensutveckling ser ut kortsiktigt men det är svårt att hitta studier som undersöker hur situationen kan se ut om tjugo år (Torres-Barceló *et al.* 2016). Idag diskuterar man olika hypoteser. Men det är en stor utmaning att utreda vilken effekt bakteriofager kommer att ha på resistensutveckling. Om det stämmer att bakteriofager påverkar antibiotikaresistens långsiktigt, är hypotesen att det kommer leda till att resistens mot antibiotika utvecklas långsammare. En annan möjlighet är att bakteriofager inte påverkar resistens till den grad många forskare hoppas på, vilket betyder att man kommer behöva söka efter andra metoder för att behandla infektioner. Det är viktigt att på ett kritiskt sätt kunna tolka de vetenskapliga studier som gjorts de senaste åren inom det här området. De senaste åren har forskning fokuserat mer på bakteriofager som lösningen på antibiotikaresistens. Genom att undersöka och tolka de olika resultaten av dessa studier kan man komma fram till om bakteriofagterapi är en rimlig behandlingsmetod i framtiden.

Framgångsrika studier med bakteriofager

Under de senaste åren har det genomförts många studier som visar att bakteriofager kan utnyttjas för att behandla svåra infektioner i samband med antibiotikaresistenta bakterier (Betts *et al.* 2013, Torres-Barceló *et al.* 2014, Torres-Barceló *et al.* 2016). De flesta av dessa studier har genomförts i labbmiljöer med provrör och cellkulturer men på senare år har det varit mer vanligt att genomföra studier på människor. Den här uppsatsen fokuserar mer på de studier som inte utförts på människor där fokuset istället ligger på resultatet av bakteriofager på antibiotikaresistensutveckling. Ett försök från 2016 använde en bakteriofag-cocktail för att eliminera *Pseudomonas aeruginosa* (Alves *et al.* 2016). *P. aeruginosa* är stavformade, gramnegativa aeroba jordbakterier som är känd för att orsaka sjukhus-relaterade sjukdomar som t.ex. kronisk lunginflammation i -patienter med cystisk fibros, samt många vårdrelaterade infektioner (Drenkard 2003). Den här bakterien är också känd för att bilda biofilm i lungorna eller infekterade sår vilket försvårar behandling ytligare (Alves *et al.* 2016). Studien visade att bakteriofag-blandningen dödade 95 % av bakterien och hindrade bakteriell tillväxt samtidigt som den tog bort biofilm.

En biofilm är ett kluster av mikroorganismer, i det här fallet bakterier som gemensamt bildar en skyddande yta vilket i många fall försvårar behandling. Den är ett organiserat ekosystem uppbyggd av högt hydratiserade exopolysackarider där näring kan transporteras från en cell

till den andra med hjälp av kanaler. Biofilm kan antingen bildas av en bakterieart eller ett samhälle med flera olika bakteriearter. Forskning om effekten av bakteriofager på biofilm är viktigt eftersom biofilm är en viktig del av infektionsprocessen (Gabisoniya *et al.* 2016). De flesta mikrobiella infektioner bildar biofilm och det är därför viktigt att fortsätta studera bakteriofag-cocktails på bakterier. Tidigare studier betonar vikten av bakteriofag-cocktails på olika biofilmmodeller eftersom framgången av bakteriofagterapi kan vara beroende av olika faktorer (Alves *et al*. 2016). Forskare som har utfört studier på biofilmer har konstaterat att bakteriofag-cocktails mot *P. aeruginosa* kan ge nya möjligheter i behandling av infektioner som involverar biofilm, och som ersättare för antibiotika (Alves *et al.* 2016).

De senaste åren har flera studier fokuserat på bakteriofagernas förmåga att ta sig in i biofilm och infektera bakterier (Fu *et al.* 2010, Gabisoniya *et al.* 2016). Användningen av bakteriofag-cocktail för att döda bakterier och kommer a förbi biofilm har redan gett bra resultat och i framtiden är förhoppningen att bakteriofager kan användas ihop med antibiotika för att avbryta bildning av biofilm och döda bakterier (Fu *et al.* 2010, Pires *et al.* 2011, Alves *et al.* 2016). Appliceringen av bakteriofager till biofilm ger tillgång till de celler som befinner sig djupare in i biofilmen. Förutom att döda bakterier har forskning fokuserat på att studera resistensutveckling i biofilm. Behandling med både bakteriofager och antibiotika tillsammans visar att utvecklingen av resistens hos bakterier i biofilm sker långsammare. Efter en tid ökar resistens igen och ser ut att bero på hur behandlingen sker. Genom att studera bakteriofagterapi i biofilm kan forskare lära sig mer om hur resistens utvecklas i en biofilm, och hitta de bästa metoderna som skulle fördröja resistens.

Sökandet efter bakteriofager

Innan man ska kunna studera bakteriofager för att undersöka deras förmåga att påverka resistens måste man hitta dem. Man kan oftast hitta bakteriofager i samma miljöer som bakterier eftersom bakteriofager behöver bakterier för att föröka sig. Det innebär att man kan hämta bakteriofager från reningsverk, avlopp och andra platser där bakterier brukar finnas. Nyligen provade en forskningsgrupp nya metoder för att samla bakteriofager från reningsverk och avlopp och hitta nya bakteriofager (Mattila *et al.* 2015). Resultatet visade att de nya metoderna för att hitta bakteriofager som kunde infektera *P. aeruginosa* fungerade tillräckligt väl för att kunna utnyttjas i framtida studier. Samtidigt upptäckte de att det var svårare att hitta bakteriofager till andra bakteriearter, som t.ex. *Staphylococcus aureus* (Mattila *et al*. 2015). Det tyder på att det krävs olika metoder för att söka efter bakteriofager och att det beror på vilka sorts miljö bakterien lever på. Det är viktigt att leta efter nya bakteriofager som passar till bakteriofagterapi eftersom bakterier med tiden ofta utvecklar resistens mot en specifik typ av bakteriofag (Mattila *et al.* 2015). Ett annat problem är att inte alla bakteriofager av olika skäl utnyttjas inom bakteriofagterapi. Ny teknik för att hitta bakteriofager beror mycket på bakteriearten som man söker efter. Det är viktigt att fortsätta leta efter nya metoder för att hitta bakteriofager, särskilt om forskare ska försöka svara på frågor om bakteriofagernas förmåga att påverka antibiotika.

Kombinerad behandling med bakteriofager och antibiotika

Kombinationsterapier går ut på att döda infektioner med hjälp av två eller flera olika metoder som t.ex. antibiotika samt bakteriofager. Kombinations-terapier med bakteriofager och antibiotika har diskuterats under flera år men i nuläget vet ingen om samhället borde satsa på kombinationsterapier eftersom det är osäkert hur länge kombinationsbehandling skulle fungera innan resistens återigen blir ett problem (Torres-Barceló *et al.* 2014). Det finns frågetecken kring bakteriofagers effekt på antibiotikaresistens och om användning av bakteriofager ensam eller ihop med antibiotika som t.ex. Streptomycin på lång sikt kan hindra

resistens. Det finns också frågan om bakteriofager verkligen kan förbättra behandling med antibiotika.

Det finns studier som stödjer hypotesen att kombinationsterapier kan leda till att bakterier tar mer tid på sig att utveckla resistens mot antibiotika (Torres-Barceló *et al*. 2014, Jo *et al*. 2016, Chan *et al*. 2016). Anledningen kan vara att bakteriofager och antibiotika fungerar på olika sätt för att döda bakterier. Bakterier är därför tvungna att kämpa mot både antibiotika och bakteriofager med hjälp av olika mekanismer. En mutation som ökar chansen för överlevnad mot antibiotika kan ha motsats effekt och göra det svårare för bakterierna när de kommer i kontakt med bakteriofager. Olika cellulära funktioner leder till att en kombination av mutationer kanske krävs för att cellen ska överleva. En mutation som hjälper bakterier att överleva en bakteriofaginfektion kan möjligtvis leda till att bakterierna återigen blir känsliga för antibiotika. Om bakteriofager används ensamma mot bakterier kan det också påverka antibiotikaresistensen. Bakterien är tvungen att anpassa sig för att överleva i en miljö med bakteriofager. När antibiotika sedan tillsätts vid ett senare tillfälle kommer bakterierna återigen att vara känsliga mot antibiotika och kan därför dödas med hjälp av antibiotika. Det betyder att vi kan vända på antibiotikaresistensutvecklingen, åtminstone i vissa fall.

Framgångsrika studier med kombinerade behandling leder i vissa fall till minskad antibiotikaresistens (Knezevic *et al.* 2013, Torres-Barceló *et al.* 2014, Jo *et al.* 2016). Mycket beror dock på hur antibiotika och bakteriofager administreras och vid vilken tidpunkt de tillsätts till bakterier. Olika studier stödjer hypotesen att hur behandlingar med bakteriofager och antibiotika sker är viktigt för ett bra resultat och även påverkar hur snabbt bakterier utvecklar resistens. När en grupp forskare kombinerade behandling med antibiotika och bakteriofager fick de ett resultat som sa att kombinerad behandling gav en synergistiskt hämmande effekt på bakteriernas antal och tillväxt samt att resistensen minskade, jämfört med när och mindre resistens än när de bara använde en av behandlingarna (Torres-Barceló *et al*. 2014). Det betyder att kombinationsbehandling med antibiotika och bakteriofager dödar bakterier samtidigt som det reducerar problemet med resistens. Mängden av antibiotika var inte lika viktigt som hur de applicerade bakteriofagerna/antibiotika. Om antibiotika applicerades efter bakteriofagerna under perioden då bakteriofagerna har största effekt kunde tillväxten minskas drastiskt.

Det betyder att det finns ett visst sätt att applicera bakteriofagerna och antibiotika som kan förbättra slutresultatet. Samtidigt observerade forskare att om de tillsatte antibiotika efter 24 timmar hade antibiotika mindre effekt på bakterierna eftersom bakteriella populationer hade återhämtat sig. Den här mekanismen kan ha att göra med evolutionär räddning (’’evolutionary rescue’’) vilket innebär att populationer anpassar sig tillräckligt snabbt för att halta sjunkande populationsstorlekar och hindra utrotning (Torres-Barceló *et al*. 2016). En större förståelse för populationsdynamiken och evolutionen av bakteriella populationer i kombination med bakteriofager kan öka chansen att bakteriofagterapier kan komma att fungera effektivt i framtiden (Torres-Barceló *et al*. 2014). Det inkluderar en större inblick om hur bakteriofager fungerar och hur bakteriofager anpassar sig till antibiotikaresistenta bakterier.

Många studier har kommit fram till slutsatsen att bakteriofager kan påverka antibiotikaresistens genom att försämra bakteriens förmåga att utveckla resistens ((Torres-Barceló *et al.* 2014)) Kortsiktigt har studier visat att resistenta bakterier blir färre med kombinerade antibiotiska behandlingar (Chait *et al*. 2007, Michel *et al*. 2008). Tyvärr finns det andra studier som antyder på motsatsen. Nämligen att kombinationsterapi med bakteriofager och antibiotika kan tillsammans påskyndar utvecklingen av antibiotikaresistens

samtidigt som bakterier också kan utveckla resistens mot bakteriofager ((Hegreness *et al.* 2008, Hosseinidoust *et al.* 2013)). Under försökets gång kan bakterier förlora sin antibiotikaresistens på grund av bakteriofagerna, men efter en längre tid kan bakterier återigen blir resistenta mot antibiotika och möjligtvis bakteriofagerna också. Det är den här utvecklingen som flera andra forskare har börjat studera. Genom att få ökad förståelse för hur resistensutveckling fungerar för bakterier kan behandlingsmetoder förbättras. Om en viss behandling fungerar bara kortsiktigt måste samhället satsa på alternativa metoder.

Bakteriofager mot resistenta bakterier

En studie som forskare utförde på *S. aureus* visade positiva resultat (Jo *et al*. 2016), nämligen att kombinationsterapi fungerar på antibiotikaresistenta *S. aureus*. Studien visade den synergistiska effekten av bakteriofager och antibiotika på hämningen av bakteriell tillväxt. Resultatet betyder två saker: att i framtiden kan bakteriofager kombineras med antibiotika för att behandla infektioner och att mindre antibiotika behövs för att behandla infektioner när man kombinerar de två behandlingarna (Jo *et al*. 2016). Det viktigaste med denna studie är att bakterien som testades var antibiotikaresistent och trots det, fungerade behandlingen (Jo *et al*. 2016). De testade både antibiotika-känsliga bakterier och antibiotikaresistenta bakterier och oavsett vilken grupp fungerade kombinationsbehandlingen (Jo *et al*. 2016). Detta indikerar att antibiotikaresistenta bakterier påverkas av behandlingen. Upptäckten betyder att kombinationsbehandlingen kan fungera på antibiotikaresistenta bakterier och att bakteriofager kan påverka antibiotikaresistens på lång sikt när bakteriofager och antibiotika används tillsammans (Jo *et al*. 2016). Det är möjligt att en av anledningarna till detta kan vara att mindre antibiotika krävs när man använder denna behandling för att behandla infektioner. De som utförde studien tyckte att resultatet tyder på att uppkomsten av antibiotikaresistens och bakteriofagresistens i framtiden kan minskas på grund av denna behandling (Jo *et al*. 2016). Författarna poängterar också att framtida studier krävs för att bättre förstå mekanismerna involverade i denna process.

Det finns olika sätt att undersöka resistensutvecklingen; en studie fokuserade på att studera bakteriofag-resistens mekanismer i *Flavobacterium psychrophilum* genom att granska bakteriens genom både innan och efter den hade utvecklat resistens (Castillo *et al*. 2015). Genom att studera förändringar i arvsmassan kan forskare få ökad kunskap om hur resistensutveckling i bakterier fungerar. Ett annat sätt att studera resistens-utvecklingen är genom att observera vad som händer när bakterier kommer i kontakt med bakteriofager. Forskare som studerat *P. aeruginosa* tittade på hur bakteriofager driva diversifiering (förändring av arvmassan hos bakterien) av *P. aeruginosa* och leder till nya generationer av bakteriofagresistenta bakterier (Hosseinidoust *et al*. 2013).

För att kunna studera resistens mot antibiotika är det viktigt att studera både individuella bakterieceller samt populationer. Det har funnits några studier som har fokuserat på resistens på populationsnivå (Betts *et al.* 2013, Torres-Barceló *et al.* 2014, Alves *et al.* 2014), men det krävs studier på individuell nivå för att få en bättre bild på bakteriers resistens mot antibiotika och bakteriofager. Andra viktiga faktorer är den långsiktiga samt kortsiktiga effekten på bakterier efter kombinationsbehandling med bakteriofager och antibiotika. Kortsiktigt kan kombinationsterapi fungera utmärkt för att kontrollera populationsstorleken men långsiktigt kommer populationen att växa igen när resistens ökar.

I en undersökning som publicerades år 2015 visade det sig att det fanns flera faktorer som påverkade den selektiva effekten på antibiotika av bakteriella populationer (Torres-Barceló *et al*. 2016). I studien kombinerades antibiotika med bakteriofager för att studera sambandet

mellan minskade populationsstorlek på bakteriella populationer av *P. aeruginosa* och mängden antibiotika som de blandade med bakteriofager. När mängden antibiotika ökade var resultatet att populationsstorleken drastiskt minskade, samtidigt som anpassningspotentialen minskade. Anpassningspotentialen är tiden det tar för populationen att anpassa sig till de nya förutsättningarna med antibiotika och bakteriofager. Om den ökar tar bakterierna mer tid på sig att vänja sig och populationens storlek, sjunker snabbt och tar mer tid att återhämta sig. Så småningom börjar vissa celler visa tecken på resistens då de inte påverkas i högre grad av antibiotikan. Forskarna kom fram till att höga doser av antibiotika fungerade genom att döda bakterier samtidigt som behandlingen visade att de hade hittat ett sätt att förlänga bakteriers anpassning till ändrade förutsättningar. Det är viktigt att påpeka att de bara använde en sorts bakteriofag och att olika bakteriofager och andra bakterier kan ge ett annat resultat. Därför krävs flera studier i det här området.

Det är omöjligt att förutsäga vad som kommer att hända utanför laboratoriet. De flesta laboratorieförsök utförs under kontrollerade former och det finns väldigt få humanförsök. Om bakteriofager kan fördröja resistensutveckling kan det ge samhället mer tid att studera dessa metoder, samtidigt som forskare undersöker nya sätt att kombinera bakteriofager med antibiotika för att förbättra behandling. De flesta forskare är överens om att antibiotikaresistens förmodligen inte kan förhindras, men att det är möjligt att bakteriofagterapi kan ha en positiv effekt genom att sakta ner utvecklingen av antibiotikaresistens bland bakterier (Torres-Barceló *et al*. 2016).

Vad evolutionsteori säger om kombinationsterapi

Evolutionsteori förutsäger att en kombination av terapier kan vara mer effektivt för att förebygga eller begränsa evolutionen av antibiotikaresistens (Hosseinidoust *et al*. 2013, Betts *et al*. 2013). En studie från 2014 riktade uppmärksamhet till teorier om evolution genom att själv basera sin studie på iden om att kombinationen av antibiotika och bakteriofager kunde ha betydelse för populationer av *P. aeruginosa* utifrån ett evolutionärt perspektiv (Torres-Barceló *et al*. 2014). Studien gick ut på att kombinera bakteriofagterapi med antibiotikabehandling för att undersöka resistensutveckling hos bakterier. Författarna observerade att bakterieantalet reducerades samtidigt som det tog mer tid innan bakterien utvecklade resistens mot antibiotika och bakteriofagerna oberoende av antibiotikados. En kombination av antibiotika och bakteriofager ledde också till att det krävdes mindre antibiotika för att döda bakterierna. Antibiotikados kan ha en viktig effekt på evolutionen av resistens, och de olika mekanismer som ligger bakom kan skilja sig mellan höga respektive låga doser. Höga antibiotikadoser kan faktiskt leder till snabbare resistensutveckling än lägre doser (Torres-Barceló *et al.* 2014). Efter att antibiotika och bakteriofager har blivit tillsatt till bakterier kommer en period då den bakteriella populationen minskar. Så småningom kommer populationen att växa igen eftersom en del av cellerna är resistenta mot både bakteriofager och antibiotika och att dessa celler får mer utrymme att växa.

Mycket kan bero på hur antibiotika och bakteriofager administreras. Om metoden görs inkorrekt kan det sluta med att frekvensen för antibiotika- och bakteriofagresistensen faktiskt ökar. ’’Inkorrekt’’ betyder, till exempel att antibiotika och bakteriofager tillsätts samtidigt till bakterien och resistensen initialt ökar så fort att behandlingen inte fungerar långsiktigt. I studien från 2014 ökade inte frekvensen för antibiotikaresistens när behandlingen bestod av både antibiotika samt bakteriofager (Torres-Barceló *et al*. 2014). Det kan delvis förklaras med att forskarna var försiktiga med hur de administrerade antibiotikan. Genom att inte vänta för länge med att tillsätta antibiotika kunde de undvika att populationer återhämtat sig. Om antibiotika tillsattes samtidigt som bakteriofager var det mindre effektivt. Detta berodde

förmodligen på att antibiotikan hindrade bakteriofagerna från att vara verksam tack vore skadorna till bakteriers membranreceptorer. *P. aeruginosa* blir resistenta mot bakteriofager samtidigt som bakteriofager driver diversifiering av *P. aeruginosa* och ger upphov till bakteriofagresistenta varianter med nya fenotyper som skiljer sig från de tidigare generationer. Under flera kombinationsterapier har forskare observerat fenomen med resistens mot antibiotika och bakteriofager för att kunna komma fram till metoder där de kan förhindra resistens eller åtminstone fördröja resistensutveckling (Torres-Barceló *et al*. 2014, Chan *et al*. 2016).

Studien som tidigare nämndes från 2016 visade att kombinationen av bakteriofager och antibiotika gjorde mer än att bara döda bakterier (Jo *et al*. 2016). Kombinationsterapin användes för att döda både antibiotika-känsliga (SAs) bakterier och antibiotikaresistenta bakterier (SAR). Forskarna studerade den synergistiska effekten på bakteriofager och fem olika antibiotika, ciprofloxacin, polymyxin, tetracycline, cefoxitin och chloramphenicol mot SAR samt SAs i nästan dödliga doser. Kombinationsterapin fungerade i båda fall trots resistensen från SAR-gruppen. Bakteriofagerna förbättrade den bakterie-dödande effekten av antibiotika på ett koncentrationsberoende sätt. Den här studien visade flera saker. Nämligen att höga doser av antibiotika stimulerar produktionen av bakteriofager och öka bakteriofagernas skadliga effekt på bakterier. Den bakterie-dödande effekten av bakteriofager påverkades positivt av förändringarna i tillståndet av värdcellerna som utsätts för antibiotika. Antibiotikan påverkade bakteriecellerna på ett sätt som gjorde de mer känsliga för bakteriofagerna och ledde till att mer bakterier dog än i kontrollgruppen. Samtidigt visade resultaten att bakteriofagerna och antibiotika kunde tillsamman fördröja utvecklingen av resistens. Förmodligen på grund av förändringarna till bakteriecellerna i respons till kombinationen av antibiotika och bakteriofager. Bakteriers anpassning till bakteriofagerna gjorde dom mer känsliga för antibiotika och tvärtom.

Liknande samband har upptäckts med andra studier som utförts de senaste åren. I en annan studie från 2016 gjorde en forskargrupp något liknande och resultaten visade att bakteriofag-urval gav en’’Trade-off’’ i *P. aeruginosa* varigenom utvecklingen av bakteriell resistens mot bakteriofager ändrade bakteriens cellmekanism, nämligen utflödespumpmekanismen (Chan *et al*. 2016). Trade-offs (avvägningar) i evolutionsbiologi uppstår när en fördelaktig förändring i en egenskap är länkat till en skadlig förändring i en annan egenskap. Det ledde till ökade känslighet för läkemedel från flera klasser av antibiotika. Bakteriofager representerar ett nytt sätt att döda bakterier där bakteriofager tvingar bakterien att anpassa sig och som resultat blir mer känsliga till traditionella antibiotika. På så sätt kan vi förlänga livslängden på våra nuvarande antibiotika och potentiellt minska förekomsten av antibiotika-resistenta infektioner (Chan *et al*. 2016). Egentligen är det här ingenting nytt. Evolutionsteori säger att sannolikheten att bakterier blir resistenta mot både antibiotika och bakteriofager är lägre än om bara antibiotika används ((Torres-Barceló *et al*. 2014).

Bakteriell resistens mot bakteriofager

Bakteriofagresistens innebär att bakterier utvecklar resistens mot bakteriofager. Tyvärr kan bakterier bli resistenta mot bakteriofager precis som mot antibiotika, vilket ibland sker när bakterien plockar upp och integrerar DNA från omgivningen i sitt eget genom (horisontell överföring) (Sahota *et al*. 2015). Horisontell genöverföring sker då gener överförs mellan olika bakterier, vilket kan leda till spridningen av gener som t.ex. ger resistens mot antibiotika. Eftersom det finns en så stor variation av bakteriofager kan det i många fall finnas flera bakteriofager till en bakterieart. På samma sätt som med antibiotikaresistens har en

lösning varit att kombinera ett flertal olika bakteriofager och hoppas att bakterierna inte är resistenta mot alla (Torres-Barceló *et al*. 2014, Sahota *et al*. 2015). Genom att använda kombinationsterapi mot bakterier kan risken för utveckling av antibiotikaresistens minskar drastiskt (Michel *et al*. 2008).

Bakterier har förmågan att utveckla resistens mot bakteriofager på samma sätt som de utvecklar resistens mot antibiotika, men till skillnad från antibiotika kan bakteriofager motverka resistenta bakterier genom att själv anpassa sig (Essoh *et al.* 2013). Bakteriofager kan ha existerat lika länge som bakterier och har därför utvecklat och anpassat sig till bakterier under mycket lång tid. Detta betyder att bakteriofager är ett evolutionärt hållbar alternativ till antibiotika, eventuellt med färre problem med resistens (Mattila *et al.* 2015).

Innan människor använde antibiotika och bakteriofager i medicinskt syfte kunde bakterier utveckla resistens som ett naturligt sätt att överleva, precis som att den naturliga antibiotikaresistensen var ett sätt att skydda sig och överleva i miljöer innehållande antibiotikaproducerande organismer, såsom svamp (Chan *et al*. 2016). Bakterier har alltså naturlig förmåga att utveckla resistens mot både antibiotika och bakteriofager. Hur snabbt det sker beror på många faktorer som t.ex. vilka bakterier det handlar om. Kortsiktigt kan forskare använda sig av bakteriofager för att behandla bakteriella infektioner men långsikt måste samhället titta på andra alternativ eftersom bakteriofager med tiden utvecklar resistens mot bakterier. Genom att kombinera olika bakteriofager och använda genteknik för att utveckla bättre bakteriofager kan det vara möjligt att fördröja resistensutveckling men det finns idag inget sätt att hindra utvecklingen (Torres-Barceló *et al*. 2014, Chan *et al*. 2016)

Eftersom bakterier blir resistenta mot både bakteriofager och antibiotika är det bättre att fortsätta studera bakteriofagterapi för att ta reda på andra metoder och utveckla de behandlingsmetoder som redan existerar. Man behöver inte helt utesluta antibiotika- och bakteriofagbehandling utan kan istället forska mer med tekniken. Tack vare bakteriofager och nya metoder kan antibiotika kanske användas igen i framtida behandlingar med tidigare resistenta bakterier. I vissa fall kan bakterier kanske återigen bli känsliga mot antibiotika. Men det är viktigt att följa de riktlinjer som samhället har för att undvika spridningen av resistenta bakterier.

Ny teknik för att utnyttja bakteriofager

Ny teknik har lett till bättre metoder för att hitta bakteriofager och studera dem. Genteknik kan användas för att förbättra deras förmåga att infektera och döda bakterier samtidigt som behandling går ut på att samarbeta med antibiotika och fördröja resistensutveckling. Ett exempel på ett nytt verktyg som kan assistera forskare är HostPhinder. Den här tekniken hjälper användaren att hitta eller förutse en bakteriofagers bakteriella värd genom att granska en bakteriofagers genom (Villarroel *et al*. 2016). Metoden grundar sig på antagande att bakteriofager med liknande genetiska information har större sannolikhet att ha samma bakteriella värd.

Det finns många sätt som forskare kan förbättra prestationen hos bakteriofager för att göra dem mer effektiva. Ett sätt att öka effektivitet baseras på selektion för vissa starka drag hos bakteriofagerna (Betts *et al*. 2013). När forskare arbetar med bakteriofager kan de använda sig av naturliga metoder som leder till att bakteriofager anpassar sig till att rikta sig in på vissa bakterier. Det här kan utföras med hjälp av seriepassage, vilket innebär att bakterier eller virus odlas i upprepningar t.ex. genom att flytta bakteriofager från en miljö till en annan och

de vaxer över en längre tid tills att de har anpassat sig på sättet som är önskad. Efter en tid kommer bakteriofager ha rätt profil för att kontrollera bakteriella populationer. På grund av större populationsstorlek, korta generationstiden och okomplicerade metoder för odling av bakteriofager kan forskare använda sig av metoder för att selektera särskilda gener och få fram vissa viktiga egenskaper. Genom att förbättra bakteriofagernas förmåga att attackera bakterier kan vi få bättre kontroll av bakteriell tillväxt (Betts *et al*. 2013). En studie visade att det var möjligt att infektera och döda olika kolonier av bakterier med hjälp av bakteriofager som de själva hade odlat och manipulerat. Bakteriofagerna hade även en större spektrum av värdorganismer (''host range'') och en större effekt på bakterier vilket skulle innebära att vissa evolutionära egenskaper kan bli kontrollerad i laboratoriska miljöer (Betts *et al*. 2013). Studier i samevolution är viktigt för att kunna utveckla bättre behandling mot infektioner. Det är viktigt att förstå hur bakteriofager och bakterier har anpassat sig till varandra.

En viktig faktor är hur en behandling av infektioner går till rent tekniskt. Om bakteriofager och antibiotika tillsätts samtidigt kommer behandlingen möjligen inte att vara lika framgångsrik som om bakteriofager administreras vid en annan tidpunkt relativt till antibiotikan (Torres-Barceló *et al*. 2014). Bakteriofager påverkar bakteriecellen på ett annat sätt än antibiotika. En mutation som hjälper bakterien att överleva antibiotika kan ha negativa konsekvenser för bakterien om bakterien sedan utsätts för en bakteriofaginfektion. Bakterien är tvungen att anpassa sig till både antibiotika och bakteriofager (Torres-Barceló *et al*. 2014, Torres-Barceló *et al*. 2016).

Ny teknik för att hitta bakteriofager är något som institutioner kommer att behöva om de vill kunna använda bakteriofagterapi som en möjlig behandlingsmetod. Förutom att hitta bakteriofager i reningsverk och avlopp kan det vara bättre att lägga fokus på sjukhus och sjuka patienter. Många av de bakterierna som går att hitta på sjukhus kan vara resistenta mot bakteriofager och antibiotika, därför är det viktigt att fokusera på just de här bakterierna. Bakteriofager brukar befinna sig i närheten av de bakterier som de infekterar, vilket betyder att många bakteriofager kan befinna sig på sjukhuset (Mattila *et al.* 2015). Det är centralt att det finns kunskaper om vilken typ av bakterie som är orsaken till infektionen för att kunna få fram den korrekta bakteriofagen. En möjlig lösning är att använda sig av genteknik för att ändra arvsmassan på bakteriofagen så att den infekterar flera olika typer av bakteriearter. Ibland måste viruset administreras via blodet och kroppen kan då reagera genom att bilda antikroppar mot viruset. Långsiktigt gör det att vissa bakteriofager inte kan utnyttjas av samma patient mer än en gång. Den enda lösningen är att låta forskare fortsätta söka efter nya bakteriofager till samma bakteriearter och kombinera dem i behandlingar mot infektioner.

Diskussion

Bakterier som blivit resistenta mot antibiotika är ett växande folkhälsoproblem som orsakar ökad sjuklighet och dödlighet. Bakteriofager kan åtminstone vara en del av lösningen på det problemet. Bakteriofager påverkar antibiotikaresistens genom att försämra bakteriens förmåga att utveckla resistens. Det finns få biverkningar och flera tusen människor har behandlats med bakteriofager i framförallt Ryssland och Georgien (Abedon *et al.* 2011). Bakteriofager kan bli ännu effektivare i framtiden tack vore den tekniska utvecklingen. Ett initialt hinder är att övertyga alla kritiker att det är en ofarlig behandling. Kritik mot bakteriofager bygger ofta på okunskap om den långsiktiga effekten av bakteriofager på resistenta bakterier (Hosseinidoust *et al*. 2013). Idag finns det ny kunskap om bakteriofager och det är möjligt att börja använda bakteriofager för att behandla vissa infektioner. Om tio år kan forskare få fram ett stort antal fungerande preparat som kan användas mot antibiotikaresistenta bakterier. En fördel med den

här behandlingen är att det finns flera studier som visar hur bakteriofager kan attackera antibiotikaresistenta bakterier och delvis hindra utvecklingen av nya antibiotikaresistenta bakterier (Torres-Barceló *et al*. 2014, Torres-Barceló *et al*. 2016).

Det är viktigt att påpeka att inte alla studier pekar åt samma riktning. Det finns olika åsikter om hur kombinationen av antibiotika och bakteriofager leder till ökad resistens eller förbättra behandling mot infektioner. Flera studier har pekat på kombinationen av antibiotika och bakteriofager som en möjlig lösning till antibiotikaresistens utan att kunna svara på frågan om vad de långsiktiga konsekvenserna av sådana behandlingar kan komma att innebära för samhället (Knezevic *et al*. 2013, Alves *et al*. 2014, Torres-Barceló *et al*. 2016). I framtiden borde forskning kanske fokusera mer på hur en kombinations behandling ska se ut i verkligheten. Det kan innebära försök på människor och flera undersökningar på sjukhus.

Det är möjligt att bakteriofager inte kan lösa problemet med antibiotikaresistens, eftersom bakterier så småningom blir resistenta mot bakteriofager. Bakteriofager kan i så fall vara en kortsiktig lösning. Medan forskning pågår om nya metoder för att lösa antibiotikaresistens kan användning av bakteriofager fördröja utvecklingen av resistens som flera studier föreslår (Torres-Barceló *et al*. 2014, Jo *et al*. 2016, Chan *et al*. 2016). Det krävs förmodligen forskning om alternativa behandlingsmetoder som komplement till bakteriofagterapi, och samtidigt kan nya studier börja rikta sig på människor. Det krävs mer diskussion kring utvecklingen av antibiotikaresistens och bakteriofagerna roll i terapi. Slutsatsen är att bakteriofager är ett viktigt verktyg för behandlingen av antibiotikaresistenta och icke resistenta bakterier.

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till Karin Vickberg och Mårten för deras återkoppling och allmänna råd och Magnus Eklund för att han kan allt om biologi.

Referenser

Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG, Kutter EM. 2011. Phage treatment of human infections. Bacteriophage 1: 66–85.

Alves DR, Gaudion A, Bean JE, Esteban PP, Arnot TC, Harper DR, Kot W, Hansen LH, Enright MC, Jenkins ATA. 2014. Combined Use of Bacteriophage K and a Novel Bacteriophage To Reduce Staphylococcus aureus Biofilm Formation. Applied and Environmental Microbiology 80: 6694–6703.

Alves DR, Perez-Esteban P, Kot W, Bean J e., Arnot T, Hansen L h., Enright MC, Jenkins ATA. 2016. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses Pseudomonas aeruginosa biofilms under static and flow conditions. Microbial Biotechnology 9: 61–74.

Balarjishvili NS, Kvachadze LI, Kutateladze MI, Meskhi TS, Pataridze TK, Berishvili TA, Tevdoradze ES. 2015. New virulent bacteriophages active against multiresistant Pseudomonas aeruginosa strains. Applied Biochemistry and Microbiology 51: 674–682.

Barbu EM, Cady KC, Hubby B. 2016. Phage Therapy in the Era of Synthetic Biology. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 8: a023879.

Betts A, Vasse M, Kaltz O, Hochberg ME. 2013. Back to the future: evolving bacteriophages to increase their effectiveness against the pathogen Pseudomonas aeruginosa PAO1. Evolutionary Applications 6: 1054–1063.

Castillo D, Christiansen RH, Dalsgaard I, Madsen L, Middelboe M. 2015. Bacteriophage Resistance Mechanisms in the Fish Pathogen Flavobacterium psychrophilum: Linking

Genomic Mutations to Changes in Bacterial Virulence Factors. Applied and Environmental Microbiology 81: 1157–1167.
Chait R, Craney A, Kishony R. 2007. Antibiotic interactions that select against resistance. Nature 446: 668–671.
Chan BK, Sistrom M, Wertz JE, Kortright KE, Narayan D, Turner PE. 2016. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR Pseudomonas aeruginosa. Scientific Reports 6: 26717.
Deredjian A, Colinon C, Brothier E, Favre-Bonté S, Cournoyer B, Nazaret S. 2011. Antibiotic and metal resistance among hospital and outdoor strains of Pseudomonas aeruginosa. Research in Microbiology 162: 689–700.
Drenkard E. 2003. Antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa biofilms. Microbes and Infection 5: 1213–1219.
Essoh C, Blouin Y, Loukou G, Cablanmian A, Lathro S, Kutter E, Thien HV, Vergnaud G, Pourcel C. 2013. The Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa Strains from Cystic Fibrosis Patients to Bacteriophages. PLOS ONE 8: e60575.
Frimmersdorf E, Horatzek S, Pelnikevich A, Wiehlmann L, Schomburg D. 2010. How Pseudomonas aeruginosa adapts to various environments: a metabolomic approach. Environmental Microbiology 12: 1734–1747.
Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. 2010. Bacteriophage Cocktail for the Prevention of Biofilm Formation by Pseudomonas aeruginosa on Catheters in an In Vitro Model System. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 54: 397–404.
Gabisoniya TG, Loladze MZ, Nadiradze MM, Chakhunashvili NK, Alibegashvili MG, Tamarashvili NG, Pushkina VA. 2016. Effects of bacteriophages on biofilm formation by strains of Pseudomonas aeruginosa. Applied Biochemistry and Microbiology 52: 293–297.
Hegreness M, Shoresh N, Damian D, Hartl D, Kishony R. 2008. Accelerated evolution of resistance in multidrug environments. Proceedings of the National Academy of Sciences 105: 13977–13981.
Hosseinidoust Z, Ven TGM van de, Tufenkji N. 2013. Evolution of Pseudomonas aeruginosa Virulence as a Result of Phage Predation. Applied and Environmental Microbiology 79: 6110–6116.
James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E deLancey, Secor P, Sestrich J, Costerton JW, Stewart PS. 2008. Biofilms in chronic wounds. Wound Repair and Regeneration 16: 37–44.
Jo A, Ding T, Ahn J. 2016. Synergistic antimicrobial activity of bacteriophages and antibiotics against Staphylococcus aureus. Food Science and Biotechnology 25: 935–940.
Knezevic P, Curcin S, Aleksic V, Petrusic M, Vlaski L. 2013. Phage-antibiotic synergism: a possible approach to combatting Pseudomonas aeruginosa. Research in Microbiology 164: 55–60.
Mattila S, Ruotsalainen P, Jalasvuori M. 2015. On-Demand Isolation of Bacteriophages Against Drug-Resistant Bacteria for Personalized Phage Therapy. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy 1271.
Michel J-B, Yeh PJ, Chait R, Moellering RC, Kishony R. 2008. Drug interactions modulate the potential for evolution of resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences 105: 14918–14923.
Pires D, Sillankorva S, Faustino A, Azeredo J. 2011. Use of newly isolated phages for control of Pseudomonas aeruginosa PAO1 and ATCC 10145 biofilms. Research in Microbiology 162: 798–806.
Rios AC, Moutinho CG, Pinto FC, Del Fiol FS, Jozala A, Chaud MV, Vila MMDC, Teixeira JA, Balcão VM. 2016. Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. Microbiological Research 191: 51–80.

Sagona AP, Grigonyte AM, MacDonald PR, Jaramillo A. 2016. Genetically modified bacteriophages. 8: 465–474.
Sahota JS, Smith CM, Radhakrishnan P, Winstanley C, Goderdzishvili M, Chanishvili N, Kadioglu A, O'Callaghan C, Clokie MRJ. 2015. Bacteriophage Delivery by Nebulization and Efficacy Against Phenotypically Diverse Pseudomonas aeruginosa from Cystic Fibrosis Patients. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 28: 353–360.
Torres-Barceló C, Arias-Sánchez FI, Vasse M, Ramsayer J, Kaltz O, Hochberg ME. 2014. A Window of Opportunity to Control the Bacterial Pathogen Pseudomonas aeruginosa Combining Antibiotics and Phages. PLOS ONE 9: e106628.
Torres-Barceló C, Franzon B, Vasse M, Hochberg ME. 2016. Long-term effects of single and combined introductions of antibiotics and bacteriophages on populations of Pseudomonas aeruginosa. Evolutionary Applications 9: 583–595.
Verheust C, Pauwels K, Mahillon J, Helinski DR, Herman P. 2010. Contained use of Bacteriophages: Risk Assessment and Biosafety Recommendations. Applied Biosafety 15: 32–44.
Villarroel J, Kleinheinz KA, Jurtz VI, Zschach H, Lund O, Nielsen M, Larsen MV. 2016. HostPhinder: A Phage Host Prediction Tool. Viruses 8: 116.

[**Bör människor använda bakteriofager och genmodifierade bakteriofager**]: etisk bilaga

Freja Sörenby

Självständigt arbete i biologi 2016

Möjliga risker med bakteriofager

Min uppsats handlar om bakteriofagers långsiktiga påverkan på antibiotikaresistens. Under de senaste åren har forskning fokuserat allt mer på bakteriofager och genmanipulerade bakteriofagers eventuella framtida roll inom sjukvården. Eftersom jag undersöker möjligheterna mad att kombinera antibiotika och bakteriofager, är det viktigt att skriva om potentiella risker med den här tekniken. Min huvudsakliga etiska frågeställning är: bör människor använda bakteriofager och genmodifierade bakteriofager? Här gör jag en samlad bedömning och försöker besvara min frågeställning.

Contra-argument bakteriofager

Vanliga bakteriofager har generellt färre risker för människor än antibiotika, och är därför att föredra (Verheust *et al.* 2010). Bakteriofager finns redan i naturen och är programmerad för att attackera bakterier; de brukar därför inte orsaka skador på människoceller (Pirnay et al 2015). Men det betyder inte att det inte fortfarande finns vissa risker med bakteriofager. Bakteriofager kan bära farliga virulens faktorer som de kan överföra till bakteriella populationer och orsakar mänskliga sjukdomar. Virulens faktorer kan påverka olika stadium i bakteriella infektionsprocessen t.ex. bakteriell adhesion (*Streptokocker mitis*), eller bakteriell invasion av mänskliga vävnaden (Grupp A *Streptokocker*) (Verheust *et al.* 2010). Bakteriofager kan också höja bakteriell resistens i serum och fagocytos (*E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) eller förändra bakteriens känslighet till antibiotika (*S. pyogenes*) genom att överföra resistens gener med gentransduktion. De här exemplen visar att sekvens-analys av hela bakteriofaggenom är ett viktigt steg i riskbedömning.

Pro-argument bakteriofager

De huvudsakliga argumentet som talar för användningen av bakteriofager är att bakteriofagterapi ger färre biverkningar än antibiotika och att bakteriofager inte attackerar människans naturliga bakteriella flora (Alves *et al.* 2016). När bakteriofager har dödat bakterien och infektionen är behandlat försvinner bakteriofager av sig själv. Eftersom forskare har visat att bakteriofager i många fall kan behandla infektioner bättre än andra behandlingar och med färre biverkningar än antibiotika kan det leda till att fler liv räddas.

Pro- och contra-argument genmodifierade bakteriofager

Det finns många fördelar med genmodifierade bakteriofager (GM-bakteriofager) då de hjälper forskare att förbättra funktionen av naturliga bakteriofager, vilket t.ex. leder till att GM-bakteriofager kan infektera snabbare och mer effektivt än de annars skulle göra (Sagona *et al.* 2016). Trots alla fördelar finns det risker vilket leder vissa människor till att ifrågasätta om det är en bra ide att använda sig av tekniken. Miljörörelsen kämpar dagligen med att sätta stopp för olika forskningsprojekt som rör GMO (genmodifierade organismer). Vissa människor tror att GMO möjligen kan utsätta samhället för okända risker för miljö och hälsa (Verheust *et al.* 2010, Barbu *et al.* 2016). Det är därför viktigt att bedöma vilka risker som finns för samhället, och att ha etiska reflektioner över riskerna, för att bestämma om fördelarna med GMO väger tyngre än riskerna som samhället kan utsätta sig för.
Om GM-bakteriofager släpps ut i miljön på grund av dåligt kontroll eller en olyckshändelse kan det leda till allvarliga ekonomiska och sociala följder. GM-bakteriofager kan sprida sig i

naturen och påverkar ekosystemet. Det är framför allt de långsiktiga konsekvenserna vid användning av GM-bakteriofager som anses oklara. När det gäller konsekvenser för människor så tyder majoriteten av den publicerade forskningen på att det inte leder till större hälsorisker. Det finns vissa risker för eventuell genspridning från GM-organismer och det är okänt om det finns långsiktiga effekter. Vissa risker kanske beror på bakteriofagernas egenskaper, vilket betyder att man måste studera varje enskild bakteriofag i detalj för att kunna förstå riskerna.

Slutsats

Jag anser att samhället bör fortsätta använda GMO och bakteriofager i medicinska sammanhang. Det finns många fördelar med vanliga bakteriofager och GM-bakteriofager trots riskerna. Det krävs tydliga regler och riktlinjer för företag och offentlig sektor att följa och samhället har ett ansvar att skydda miljö och naturen från möjliga risker förknippad med GMO. Mot bakgrund av mina kunskaper kan jag tänka mig fördjupa mig mer i GMO frågan.

Forskningningsetik

I min uppsats har jag endast använt mig av recenserade källor från vetenskapliga artiklar för att säkerställa en hög vetenskaplig kvalitet. Mina källor är tillförlitliga, påståenden stöds av originalreferenser och jag citerar bara vetenskapliga källor. Jag har redovisat olika perspektiv på ett öppet och ärligt sätt så att beskrivningen av ämnet är nyanserat. Jag har angett källor överallt i texten och är tydligt i texten med vad som är mina åsikter och andras åsikter.

Referenser

Alves DR, Perez-Esteban P, Kot W, Bean J e., Arnot T, Hansen L h., Enright MC, Jenkins ATA. 2016. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses Pseudomonas aeruginosa biofilms under static and flow conditions. Microbial Biotechnology 9: 61–74.

Barbu EM, Cady KC, Hubby B. 2016. Phage Therapy in the Era of Synthetic Biology. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 8: a023879.

Sagona AP, Grigonyte AM, MacDonald PR, Jaramillo A. 2016. Genetically modified bacteriophages. 8: 465–474.

Torres-Barceló C, Arias-Sánchez FI, Vasse M, Ramsayer J, Kaltz O, Hochberg ME. 2014. A Window of Opportunity to Control the Bacterial Pathogen Pseudomonas aeruginosa Combining Antibiotics and Phages. PLOS ONE 9: e106628.

Verheust C, Pauwels K, Mahillon J, Helinski DR, Herman P. 2010. Contained use of Bacteriophages: Risk Assessment and Biosafety Recommendations. Applied Biosafety 15: 32–44.