

### **Therapie einer medikamentenresistenten Mykobakteriose mit Bakteriophagen**

**Die Überlebenschance einer Mukoviszidose-Patientin, die nach einer Lungentransplantation an einer disseminierten, medikamentenresistenten Mykobakteriose litt, waren gering. Daraufhin entwickelten Forscher eine Phagentherapie, indem sie gentechnisch-veränderte Bakteriophagen produzierten, die in der Lage waren, den Erreger *Mycobacterium abscessus* effektiv zu infizieren und zu lysieren. Unter Behandlung mit diesen intravenös verabreichten Phagen zeigten sich eine Heilung der durch *M. abscessus* hervorgerufenen Hautläsionen und eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome der Patientin.**

Bakteriophagen (im Folgenden kurz Phagen) sind Viren, die ausschließlich Bakterien infizieren und töten. Befallen Phagen ein Bakterium, so injizieren sie ihre Erbsubstanz (DNA oder RNA) in die Wirtszelle. Die Vermehrung der Phagen im Bakterium kann auf zwei Wegen erfolgen: Im lysogenen Zyklus wird die Phagen-Erbsubstanz in das Bakterien-Genom eingebaut. Infolgedessen wird bei der Vermehrung des Bakteriums die Phagen-Erbsubstanz ebenfalls repliziert, ohne dass die Wirtszelle geschädigt wird. Im lytischen Zyklus dagegen wird die Phagen-Erbsubstanz sofort abgelesen und eine Vielzahl von Phagen-Nucleinsäuren und Phagen-Proteinen produziert. Nach dem Zusammenbau neuer Phagenpartikel lysiert die Bakterienzelle, wodurch die neuproduzierten Phagen freigesetzt werden und Neuinfektionen auslösen können (vgl. NR 1/2011, S. 5).

Bereits kurze Zeit nach ihrer Entdeckung durch den frankokanadischen Mikrobiologen Félix Hubert d'Herelle (1873 – 1949) im Jahre 1915 wurden Bakteriophagen zu Therapiezwecken eingesetzt. Im Jahr 1919 isolierte d'Herelle Phagen, die gegen Geflügeltyphus wirkten, aus Hühnerkot und im selben Jahr wurde der erste Patient mit einer Phagentherapie erfolgreich von einer Ruhrerkrankung geheilt. In den folgenden Jahrzehnten wurden Phagenpräparate zur Bekämpfung von Infektionen in großem Maßstab hergestellt. Mit dem Aufkommen der Antibiotika nahm das Interesse an der Phagentherapie in der westlichen Welt stark ab. Weitere Gründe für den Niedergang der Phagentherapie waren die oftmals geringe Wirksamkeit der Phagenpräparate im Vergleich zu Antibiotika (es mussten massiv hohe Dosen an Bakteriophagen eingesetzt werden), gravierende Fehler bei den ersten therapeutischen Anwendungen (Behandlung von nicht-bakteriellen Erkrankungen) und Verunreinigungen der Phagenpräparate (z.B. mit Endotoxinen). Nur in der Sowjetunion wurde weiter an der Phagentherapie geforscht und neue Phagenpräparate entwickelt. Obwohl mittlerweile das Interesse an der Phagentherapie stark zugenommen hat, was auch mit der Zunahme der Antibiotika-Resistenzen in der westlichen Welt zusammenhängt, gibt es bislang nur wenige Phagenmedikamente auf dem Markt (vgl. NR 1/2011, S. 9). Die hohe Wirtsspezifität der Bakteriophagen (gewöhnlich infizieren Phagen nur eine bestimmte Bakterienart) macht eine Phagentherapie gegenüber einer Behandlung mit einem Breitband-Antibiotikum überlegen, denn nützliche Darmbakterien werden nicht beeinträchtigt.

Jetzt haben Forscher von der Pittsburgh Universität (UPIT, Pittsburgh, PA/USA) und des Great Ormond Street Hospitals (GOSH, London, UK) gentechnisch-veränderte Bakteriophagen entwickelt, mit denen eine nicht-tuberkulöse Mykobakteriose einer Mukoviszidose-Patientin erfolgreich behandelt wurde. Die 15 Jahre alte Patientin war infolge ihrer Mukoviszidose-Erkrankung auf eine Lungentransplantation angewiesen. Darüber hinaus war die Patientin seit Jahren chronisch mit *Pseudomonas aeruginosa* und *Mycobacterium abscessus* infiziert und seitdem mit entsprechenden Antibiotika behandelt worden. Nach einer komplikationslosen Lungentransplantation wurden der

Patientin Immunsuppressiva und verschiedenen Antibiotika verabreicht, doch der Zustand des Mädchens verschlechterte sich rapide, sodass die Antibiotikatherapie abgesetzt werden musste. Innerhalb einer Woche begannen sich die Wundnähte und inneren Organe zu entzünden und auf der Haut bildeten sich Abszesse. Nach sieben Monaten wurde die Patientin mit der Diagnose einer disseminierten und medikamentenresistenten nicht-tuberkulösen Mykobakteriose entlassen. In den folgenden Wochen bildeten sich 20 zusätzliche Abszesse an verschiedenen Körperstellen und Bereiche der Operationswunde zeigten Anzeichen von Wundheilungsstörungen.

Da die langfristige Überlebenschance der Patientin als sehr gering eingeschätzt wurde, entschlossen sich die Ärzte des GOSH in Zusammenarbeit mit Forschern des UPIT, eine Phagentherapie zu entwickeln. Dazu wurde eine Kollektion von mehr als 10 000 Phagen, die mithilfe vom *Mycobacterium smegmatis* isoliert worden waren, auf deren Infektiosität gegenüber dem aus der Patientin isolierten Stamm von *M. abscessus* (GD01) getestet. Es wurden drei Phagen (Muddy, Zoey und BPs) identifiziert, die in der Lage waren, GD01 zu infizieren. Davon war Muddy der einzige Phage, der GD01 effektiv vernichten konnte. Zoey infizierte und lysierte GD01 mit reduzierter Effektivität. Nach Entfernen eines Gens für einen Repressor der Transkription wurde eine lytische Variante von Zoey (Zoey $\Delta$ 45) erhalten. Die lytische Variante des dritten Phagen, BPs $\Delta$ 33HTH, die bereits früher gentechnisch hergestellt worden war, infizierte GD01 ebenfalls sehr schlecht. Die Forscher konnten jedoch eine Mutante (BPs $\Delta$ 33HTH-HRM10) isolieren, die GD01 effektiv infizierte. Mit einem aus den drei Phagen Muddy, Zoey $\Delta$ 45 und BPs $\Delta$ 33HTH-HRM10 bestehenden Cocktail konnten kultivierte GD01-Mykobakterien nicht überleben.

Aufgrund der erfolgreichen *in vitro*-Versuche wurde die Patientin schließlich mit dem Phagen-Cocktail alle 12 Stunden über 32 Wochen lang behandelt (intravenöse Dosierung:  $10^9$  PFU pro Phage pro Injektion). Die Phagentherapie wurde von der Patientin ohne signifikante Nebenwirkungen gut vertragen. Nach einem Monat der Behandlung verbesserte sich der Zustand der Operationswunde und der Abszesse. Daraufhin wurde eine tägliche äußerliche Phagenbehandlung der Wunde und der Hautläsionen eingeleitet. In den nächsten sechs Monaten verbesserte sich der Allgemeinzustand der Patientin, die Operationswunde und die Abszesse zeigten Heilungsfortschritte, und Lungen- und Leber-Funktionen hatten sich verbessert. Der Erregerstamm GD01 konnte weder im Blutserum noch im Sputum zu keinem Zeitpunkt nach Einleitung der Phagentherapie nachgewiesen werden. Allerdings konnte *M. abscessus* noch von Abstrichen von langsam heilenden Abszessen kultiviert werden. Die Erreger waren jedoch weiterhin sensitiv gegenüber den Bakteriophagen.

Bereits einen Tag nach Behandlungsbeginn konnten Phagen im Blutserum nachgewiesen werden und in den folgenden Tagen wurden Phagentiter von mehr als  $10^9$  PFU/ml erreicht. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Phagen sich im Körper der Patientin vermehrten, indem sie die Mykobakterien infizierten und lysierten. Eine Woche nach Behandlungsbeginn sank die Konzentration der Phagen im Serum unter die Nachweisgrenze. Ferner zeigten Serumproben keine Anzeichen einer Phagenneutralisation, obwohl eine schwache Antikörperantwort gegen Phagenproteine bei ihnen festgestellt werden konnte.

Dies war der erste Einsatz von gentechnisch-veränderten Bakteriophagen zur Therapie einer Mykobakterien-Infektion beim Menschen. Unter der Phagentherapie zeigte sich eine deutliche Verbesserung. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass sich die Patientin auch ohne die Phagentherapie erholt hätte, obgleich Patienten mit ähnlichem Krankheitsbild normalerweise eine hohe Morbidität und Mortalität zeigen. Zwar wird die Patientin weiterhin unter Mukoviszidose

leiden, aber die erfolgreiche Lungentransplantation mit der erfolgreichen Phagentherapie zur Behandlung der *M. abscessus*-Infektion hat ihre Lebensqualität und Lebenserwartung deutlich verbessert. Da die Empfänglichkeit von *M. abscessus* für Phagen stark variiert, muss wohl für jeden einzelnen Patienten mit einer entsprechenden Mykobakterien-Infektion eine individuelle Phagentherapie entwickelt werden. Es sollte auch darauf hingewiesen werden, dass in der EU bislang mangels anerkannter klinischer Studien eine Phagentherapie nur im Rahmen eines Härtefallprogramms (sog. *Compassionate Use*) zugelassen werden kann.

[R. M. Dedrick et al., Nature Med. **25**, 730 (2019)]

*Priv.-Doz. Dr. Dietmar Steverding, Norwich, Großbritannien*