

Faagiravil on potentsiaali antibiootikumiresistentsete infektsioonide raviks

Helerin Eiche¹

Antibiootikumiresistentsus on üha suurenev globaalne tervishoiuprobleem. Haiguste ennetamise ja tõrje Euroopa keskuse (ECDC) hinnangul põhjustab antibiootikumiresistentsus Euroopa Liidus igal aastal enam kui 670 000 nakkust ja umbes 33 000 inimese surma (1). Üks võimalus antibiootikumiresistentseid infektsioone ravida on faagiravi. Faagiravis kasutatakse bakteriaalsete infektsioonide raviks bakteriofaage ehk faage – viiruseid, mis nakatavad bakterirakke ja paljunevad nendes, põhjustades sageli peremeesraku surma. Faagiravi on suuresti eksperimentaalne raviviis, kuivõrd Euroopa Liidus on ainult ühel faagipõhisel ravimil müügiluba. Siiski on avaldatud arvukalt haigusjuhtude kirjeldusi ja retrospektiivsete vaatlusuuringute tulemusi, mis viitavad faagiravi suurele potentsiaalile bakteriaalsete infektsioonide korral. Viimastel aastatel on faagidega korraldatud ka üha enam juhulikustatud kontrolluuringuid.

ANTIBIOOTIKUMIRESISTENTSUS

Antibiootikumide liigse kasutamise tõttu satuvad ravimijäägid või resistentsusgeenid keskkonda, kus need selektiivse survega põhjustavad resistentsete bakterite ellujäämise ja leviku (2). Hinnanguliselt suureneb antibiootikumiresistentsus Majandusliku Koostöö ja Arengu Organisatsiooni (OECD) riikides 2035. aastaks umbes kaks korda ja Euroopa Liidus kuni kolm korda võrreldes 2005. aastaga. Antibiootikumiresistentsus mõjutab olulisel määral tervishoiusüsteemide toimetulekut, põhjustades pikemaid haiglas viibimisi, rohkemat intensiivravi ja kallimate raviviiside vajadust. Hiljutises analüüsis täheldati, et antimikroobse (sh bakterid, viirused, seened ja parasiidid) resistentsuse iga-aastane kulu OECD riikides kokku ulatub 66

miljardi USA dollarini, millest tervishoiukulu moodustab umbkaudu 26,1 miljardit (3).

Antibiootikumiresistentsus võib olla bakterite sisemine omadus (nt kui bakteril puuduvad antibiootikumide toimimiseks vajaolevad struktuursed elemendid) või omandatud mutatsioonide või horisontaalse geeniülekanne teel (4). Enamasti on Gram-negatiivsed bakterid antibiootikumide suhtes resistentsamad, kuna nende rakukesta (seondumiskoht paljudele antibiootikumidele) ümbritseb väline membraan, mida paljud antibiootikumid ei ole oma suuruse tõttu võimelised läbima. Gram-positiivseid baktereid aga

iseloomustab kiirem resistentsuse teke (5). Antibiootikumiresistentsuse tekkel on erinevaid molekulaarseid mehhanisme, näiteks antibiootikumi rakusisesse kontsentratsiooni vähenemine, sihtmärkmolekuli muutumine või antibiootikumi inaktiveerimine (6).

Maaailma Terviseorganisatsiooni (WHO) andmetel on umbes 70% antibiootikumiresistentsetest nakkustest nosokomiaalsed ehk tervishoiuasutustes tekkivad nakkused (7). Hinnanguliselt on USAs umbes 3,2% ja Euroopa Liidus 6,5% kõigist nosokomiaalsetest nakkustest põhjustanud multiresistentsed bakterid (8, 9). Enamiku nosokomiaalsete nakkuste põhjustajaks on nn ESKAPE patogeeneid. ESKAPE on akronüüm kuue väga virulentse ja antibiootikumiresistentse bakteriaalse patogeeni kohta: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ja *Enterobacteriaceae spp.* (10).

WHO avaldas 2017. aastal nimekirja patogeeneidest, millele on esmatähtis leida uusi toimivaid ravimeid (vt tabel 1). Selles nimekirjas on esindatud kõik 6 ESKAPE patogeeni.

Euroopa Komisjon avaldas hiljuti antimikroobse resistentsuse leviku

Tabel 1. Maailma Terviseorganisatsiooni esmatähtsate patogeeneid nimekiri (7)

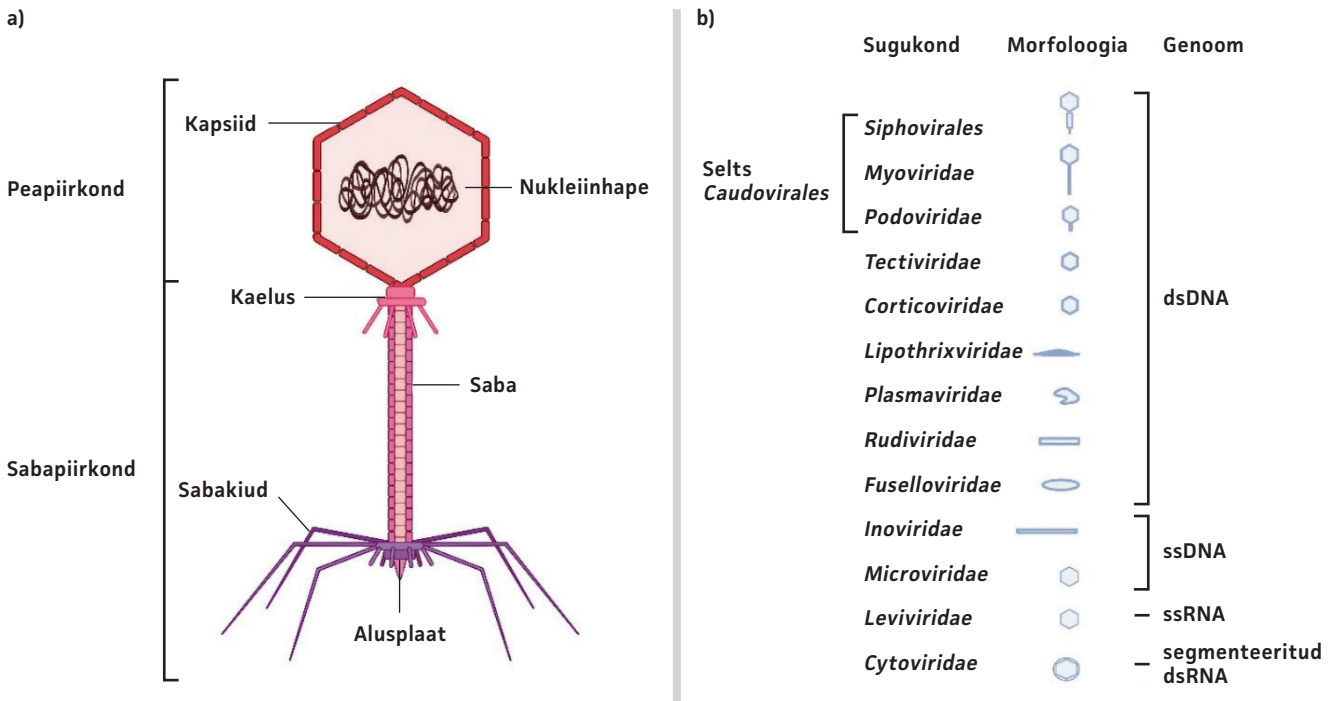
Kriitilised	Kõrge prioriteediga	Keskmise prioriteediga
<i>A. baumannii</i> *	<i>E. faecium</i> *	<i>S. pneumoniae</i>
<i>P. aeruginosa</i> *	<i>S. aureus</i> *	<i>H. influenzae</i>
<i>Enterobacteriaceae</i> *	<i>H. pylori</i>	<i>Shigella spp.</i>
	<i>Campylobacter spp.</i>	
	<i>Salmonellae spp.</i>	
	<i>N. gonorrhoeae</i>	

* ESKAPE patogeeneid

¹ Ravimiamet

Kirjavahetajaautor:
Helerin Eiche
helerin.eiche@ravimiamet.ee

Võtmesõnad:
bakteriofaag, faagiravi,
antibiootikumiresistentsus, bakteriaalne
infektsioon



Joonis 1. Faagi ehitus *Myoviridae* näitel (a) ja faagide klassifikatsioon (b) (20, muudetud).

vastase tegevusplaani, mille kohaselt tuleb eelkõige keskenduda antibiootikumide väär- ja liigkasutamise vähendamisele (11). Teisalt aga looakse meetmeid uute antimikroobsete ravimite väljatöötamise edendamiseks. Üks võimalus antibiootikumiresistentseid infektsioone ravida on faagiravi.

BAKTERIOFAAGIDE JA FAAGIRAVI DEFINITSIOON

Bakteriofaagid ehk faagid on viirused, mis nakatavad eranditult bakterirakke, paljunevad nendes ning põhjustavad sageli bakterirakude lagunemise ja surma. Faagide hinnanguline arvukus on 10^{31} – 10^{32} (12). Nad on kõige arvukam mikroorganismide rühm biosfääris ja neid esineb pea kõikjal keskkonnas, sh inimese ja loomade organismis.

Faagiravi on faagide kasutamine bakteriaalsete haiguste ja infektsioonide raviks. Euroopa Liidus on 2024. aasta novembri seisuga ainult ühel faagipõhisel ravimil (Stafal[®], registreeritud Slovakkias) müügiluba. Faagiravi kasutatakse eelkõige patsientidel, kellel on raskesti ravitavad ja/või antibiootikumiresistentseid infektsioone.

Paljudel juhtudel on tegu n-ö viimase võimaluse raviga, kui muud raviviisid on ammendunud.

FAAGIRAVI AJALUGU

Faagiravi ajalugu ulatub 20. sajandi algusesse ning raviviisi rajajaks peetakse prantsuse mikrobioloogi Félix d'Hérelle'i, kes avastas, et bakterikülvidel esinevaid laiike või tühje kohti (s.t faagilaike) tekitavad bakteriaalsed viirused. D'Hérelle võttis selliste viiruste nimetamiseks kasutusele termini „bakteriofaag“, mis otsetõlkes tähendab „bakterisööjat“ (kreeka keeles: *bakterion* – bakter; *phagein* – sööma) (13). D'Hérelle oli teadaolevalt ka esimene, kes kasutas faage ravieesmärgil. 1919. aastal kasutas ta Pariisi lastehaiglas faage edukalt neljal lapsel düsenteeria raviks (14). Ta jätkas faagiravi kasutamist 1920ndatel düsenteeria, koolera ja muhkkatku korral. 1931. aastaks oli Euroopasse ja Indiasse rajatud mitu faagiravi keskust (15).

Vaatamata edusammudele ei saavutanud faagiravi mitmel põhjusel läbimurret ning anti-

biootikumide kasutuselevõtu järel 1940. aastatel seda raviviisi lääne ühiskonnas enam ei kasutatud. Mõnes endise Nõukogude Liidu ja Ida-Euroopa riigis, näiteks Poolas ja Gruusias, aga kasutati faagiravi edasi (16, 17). Seoses antibiootikumiresistentse üha laialdasema levikuga on huvi faagiravi vastu viimasel aastakümnel üha suurenenud. Lisaks mitmele eksperimentaalset faagiravi võimaldavale teaduskeskusele on faagipõhiste ravimikandidaatide arendustegevusega alustanud Euroopa Liidus ka mitu farmaatsiaettevõtet.

BAKTERIOFAAGIDE BIOLOOGIA

Faagid on taksonoomiliselt erakordselt mitmekesine mikroorganismide rühm. 2007. aasta seisuga oli elektronmikroskoopiaga kirjeldatud üle 5500 erineva faagi, kuid praeguseks võib see arv olla juba üle 7000 (18). Faagide genoom võib olla nii ühe- kui kaheaheelaline DNA või RNA molekul (valdavalt siiski kaheaheelaline DNA) ning esineda kas lineaarse või rõngasmolekulina faagi kapsiidis. Faagi genoomi suurus varieerub

RAVIMITEAVE RAVIMIAMETILT

sõltuvalt liigist 3300 nukleotiidist kuni 500 000 aluspaarini (19).

Ligikaudu 96% faagidest kuulub seltsi *Caudovirales*, mis jaguneb kolmeks sugukonnaks vastavalt sabapiirkonna eripäradele: *myoviridae*, *siphoviridae* ja *podoviridae*. Need faagid koosnevad ikosaeedrilisest pea- ja sabapiirkonnast (vt joonis 1). Peapiirkonna moodustavad kapsiid ja selles paiknev nukleiinhape, milleks on alati kaheaheelaline DNA. Sabapiirkonna moodustavad kaelus, saba, sabakiud ja alusplaat. Sabapiirkond on oluline bakteriraku äratundmiseks, sellele kinnitumiseks ja faagi DNA sisestamiseks rakku. Faagi sabakiud määravad suuresti peremeesraku spetsiifilisuse (18).

Ülejäänud 4% faagidest on kuubikujulised, filamentsed või pleomorfsed ehk erisuguse suuruse ja kujuga. Enamik terapeutilist huvi pakkuvatest faagidest kuulub seltsi *Caudovirales* (nt T4, λ faag, T7), ent põhjalikult on uuritud ka mõningaid

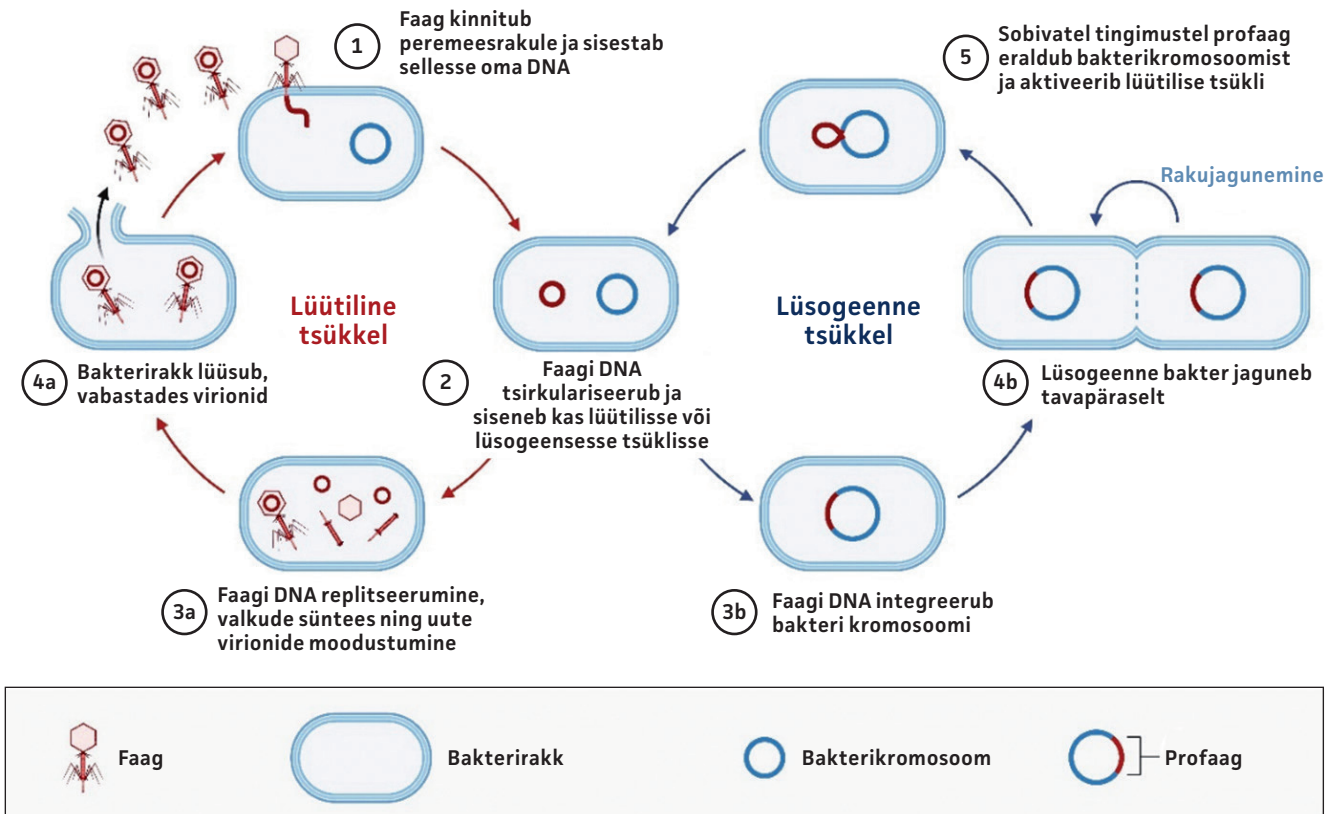
kuupjaid (nt φX174) ja niitjaid (nt M13) faage (18).

FAAGIDE ELUTSÜKKEL

Faagidel eristatakse kahte elutsükli – lüütiline ja lüsogeenne (vt joonis 1). Lüütilises tsüklis sisestab faag oma nukleiinhappe bakterirakku, mille tagajärjel algab varajane viiruse geeniekspressioon bakteriraku normaalse funktsiooni häirimiseks ja faagi genoomi paljundamiseks. Pärast piisava arvu genoomide sünteesi algab viiruse hiline geeniekspressioon, mille käigus moodustuvad viiruseosakesed ehk virionid. Hinnanguliselt võib 25–30 minuti jooksul moodustuda kuni 100 virioni, mis tähendab, et faagide populatsioon kasvab oluliselt kiiremini kui bakterite arvukus. Viimases etapis toimub valmis virionide vabanemine bakteriraku membraani lüüsimise teel, põhjustades selle surma. Rakust vabanenud faagid nakatavad järgmisi bakterirakke (21).

Ka lüsogeenne elutsükkel algab faagi nukleiinhappe sisenemisega bakterirakku. Seejärel aga ekspresseeruvad lüsogeensust määravad geenid, mille tagajärjel integreerub osa faagide genoom bakteriraku genoomi, osal aga jääb bakterirakku plasmiidina, mida nimetatakse fagemiidiks. Lüsogeenset faagi ja sellega nakatunud bakterirakku nimetatakse vastavalt profaagiks ja lüsogeeniks. Lüsogeenses tsüklis paljuneb faagi genoom samaaegselt bakterirakuga ja bakterirakud nakatumise käigus ei hukku. Faagile soodsate keskkonnatingimuste korral võib toimuda profaagi väljalõikamine bakteri kromosoomist ning lüütilise tsükli algatamine (22).

Osa faage on eranditult lüütilise elutsükliga, teistel aga esinevad vaheldumisi nii lüütiline kui ka lüsogeenne tsükkel. Viimaseid nimetatakse mõõdukateks faagideks (ingl *temperate phage*). Suure bakterite kontsentratsiooni korral aktiveerub mõõdukatel faagidel



Joonis 2. Faagi lüütiline ja lüsogeenne elutsükkel.

lüütiline tsükkel ning bakterite kontsentratsiooni vähenemisel aktiveerub lüsogeenne elutsükkel (21).

Faagiravi seisukohast on olulised eranditult lüütilise elutsükliga faagid, seda eelkõige nende võime tõttu kiiresti ja efektiivselt bakterirakke tappa. Mõõdukate faagide geenid võivad lüsogeenne konversiooni teel suurendada bakterite virulentsust. Profaag võib aktiveerumisel suurendada peremeesbakterite patogeensust või muuta need antibiootikumiresistentseks. Näiteks on teada, et *Corynebacterium diphtheriae* profaag põhjustab difteeria toksiini sünteesi, mille tagajärjel tekivad difteeria sümptomid (23). Ravi eesmärgil kasutatavad faagid peavad olema eranditult lüütilise elutsükliga. See ei tähenda, et looduslikult lüsogeenne elutsükliga faage ei ole võimalik raviks kasutada. Geenitehnoloogia abil on võimalik faage geneetiliselt

muundada, elimineerides neist lüsogeenset tsükli initsieerivad, antibiootikumiresistentsus- ja virulentsusgeenid (24).

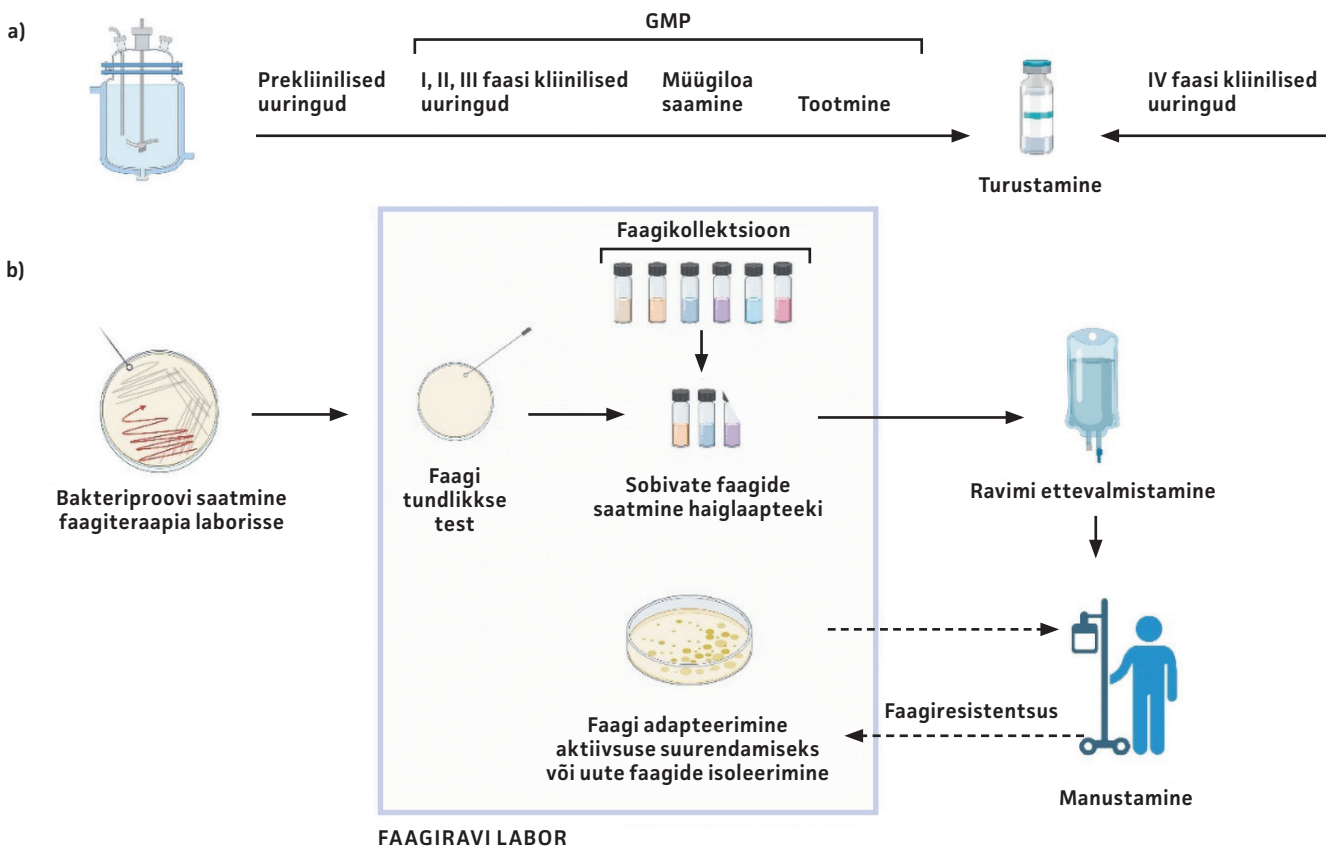
FAAGIRAVI VIISID

Ravi põhimõtte järgi võib eristada standardiseeritud ja individualiseeritud faagiravi (vt joonis 3a). Standardiseeritud ravi korral manustatakse patsiendile kindla kvalitatiivse ja kvantitatiivse koostisega faagiravimit. Ravimi toimeaineks võib olla kas üks või mitu faagitüve. Mitut faagitüve sisaldavat ravimit nimetatakse faagikokteiliks. Standardiseeritud faagiravimeid arendatakse eelkõige laiaspektriliste faagide puhul, millel on bakteriotsiidne mõju mitmetele bakteritüvedele. Seega sobivad need ravimid paljude patsientide raviks. Euroopasse on loodud mitu headele tootmistavadele vastavat faagide tootmistehast ning mitmed farmaatsiaettevõtted

tegelevad faagipõhiste ravimite arendamisega, korraldades üha enam juhuslikustatud kontrolluuringuid faagiravi ohutuse ja efektiivsuse hindamiseks (vt tabel 2) (25–27).

Individualiseeritud faagiravi eeliseks on konkreetsele haigustekitajale mõeldud faagide kasutamine ning võimalus erinevaid faagitüvesid kombineerida. Raviks sobiv faag või faagid valitakse faagikollektsioonist vastavalt faagi tundlikkuse analüüsile ning saadetakse seejärel haiglaapteeki lõpliku ravimi valmistamiseks (vt joonis 3b). Mõningatel juhtudel kasutatakse individualiseeritud faagiravis faagide adapteerimist (ingl *phage adaptation*, *phage training*) laboritingimustes, et suurendada faagide bakteriotsiidset toimet. Peamiselt kasutatakse seda meetodit ravi käigus tekkinud faagiresistentsuse korral (28–30).

Maailmas on mitmeid teadusasutusi, kus on loodud faagikol-



GMP – *good manufacturing practice*, hea tootmistava

Joonis 3. Standardiseeritud (a) ja individualiseeritud (b) faagiravi.

RAVIMITEAVE RAVIMIAMETILT

lektatsioonid, mida pidevalt uute faagitüvedega täiendatakse. Sellele vaatamata on individualiseeritud faagiravi üks suurimaid takistusi raviks sobivate faagitüvede puudumine faagikollektsioonis (31, 32).

INDIVIDUALISEERITUD FAAGIRAVI TÕHUSUS

Aastatel 2005–2024 avaldati teaduskirjanduses 65 haigusjuhu kirjeldust, mille puhul kasutati individualiseeritud faagiravi. Kõige sagedasemad näidustused olid kopsuinfektsioonid (sh tsüstiline fibroos), korduvad urotrakti infektsioonid, bakterieemia/sepsis, südame vasaku vatsakese abiseadmega seotud infektsioonid ning luu- ja liigeseinfektsioonid (sh osteomüeliit). Valdavas osas haigusjuhtude kirjeldustes raporteeriti kas haigustekitaja täielikku likvideerimist või patsiendi sümptomi(te) leevenemist.

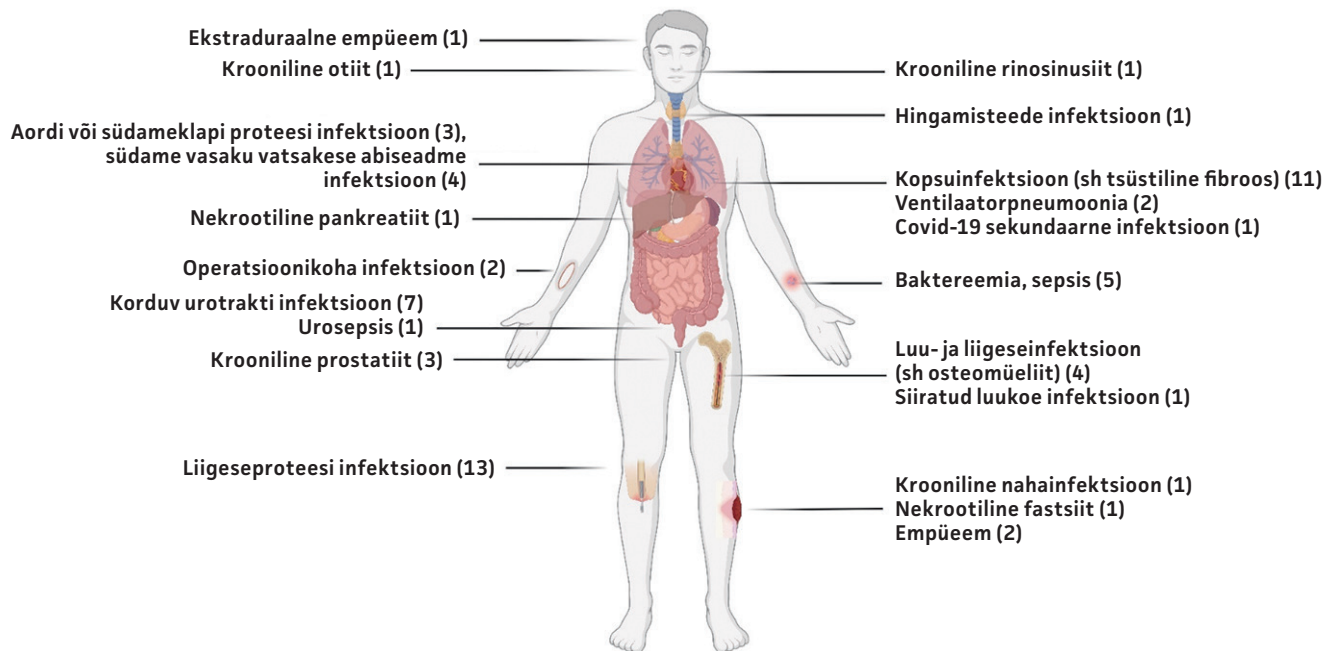
Lisaks haigusjuhtude kirjeldustele on mitmed teaduskeskused korraldanud retrospektiivseid vaatlusuuringuid, mille raames on hinnatud individualiseeritud faagiravi tõhusust. Weber-Dabrowska jt analüüsisid faagiravi tulemuslik-

kust 1307 patsiendil, kellel olid erinevad antibiootikumiresistentsed bakteriaalsed infektsioonid. Kõige sagedasemad näidustused olid kroonilised hingamisteede nakkused, mädanik, furunkul ja urotrakti infektsioonid. Peamised haigustekitajad olid *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* ja *Proteus spp.* Täielik bakterite eliminatsioon saavutati 1123-l (85,9%) ning ajutine sümptomite vähenemine 134 (10,9%) patsiendil. Raviefekt puudus täielikult kõigest 50 (3,8%) patsiendil (16).

Aastatel 2008–2010 sai Wrocławis faagiravi üksuses faagiravi 87 patsienti. Ravi näidustused olid ortopeedilised, hingamisteede ja pehmete kudede infektsioonid. Patogeense tüve täielikku elimineerimist ja kliinilist paranemist täheldati vastavalt 18,3%-l ja 21,6%-l patsientidest. Kõige suurem tõhusus saavutati *Enterococcus spp.* põhjustatud nakkuste ravis faagide sukaudsel või rektaalsel manustamisel, kus bakterite täielik eliminatsioon või kliiniline paranemine saavutati 65,7%-l patsientidest (33).

Aastatel 2018–2020 sai USAs asuvas innovaatiliste faagirakenduste ja -teraapia keskuses faagiravi 17 patsienti. Patsientide näidustused olid kopsuinfektsioonid tsüstilise fibroosiga ja siiratud kopsuga patsientidel, luu- ja liigeseproteesidega seotud infektsioonid, ventrikulaarsete abiseadmete tõttu tekkinud infektsioonid, korduvad urotrakti infektsioonid ja saastatud aordi transplantaadi põhjustatud korduv bakterieemia. Kõigi patsientide puhul kasutati faagiravi kombineeritult süsteemse antibiootikumraviga. Ravi osutus edukaks seitsmel patsiendil kümnest. Kahel juhul osutus ravi ebaefektiivseks ning ühel juhul ei olnud võimalik tulemusi tõlgendada, kuna patsiendi ravi katkestati enneaegselt uuringuga mitteseotud põhjustel. Ühel patsiendil tekkis ravi ajal palavik, vilisev hingamine ja hingamisraskused, mis võisid tuleneda faagipreparaadi kvaliteedi probleemist (31).

Green jt viisid läbi retrospektiivse vaatlusuuringu, mille käigus hinnati individuaalse faagiravi tõhusust 12 patsiendil, kellel eelnev antibiootikumiravi ei olnud tulemuslik.



Joonis 4. Faagiravi ravivaldkonnad 2005.–2024. aastal avaldatud haigusjuhtude kirjeldustes. Number viitab avaldatud haigusjuhtude arvule. Andmed pärinevad Pubmedist, otsingul kasutati parameetrid (*bacteriophage*) JA (*therapy*) JA (*case report*).

Faagiravi näidustused olid bakterieemia, urotrakti infektsioonid, südame vasakut vatsakest toetava abiseadmega või liigeseproteesiga seotud infektsioonid. Bakterite täielikku eliminatsiooni täheldati 42%-l (5/12) ning kliinilist paranemist 58%-l (7/12) patsientidest (34).

Pirnay jt vaatlusuuringu valimi moodustasid 2008.–2022. aastal Belgia kuninganna Astridi sõjaväehaigla (OAMH) väljastatud faagidega ravitud 100 esimest järjestikust patsienti, kellel raviti ühtekokku 114 raskesti ravitavat infektsiooni. Kõige levinumad näidustused olid alumiste hingamisteede nakkused, naha ja pehmete kudede nakkused ja ülemiste hingamisteede nakkused. 14 patsiendil esines lisaks veel teine infektsioon kas vereringes, kuse- teedes, nahas ja pehmetes kudedes või ülemistes hingamisteedes. Faagi-

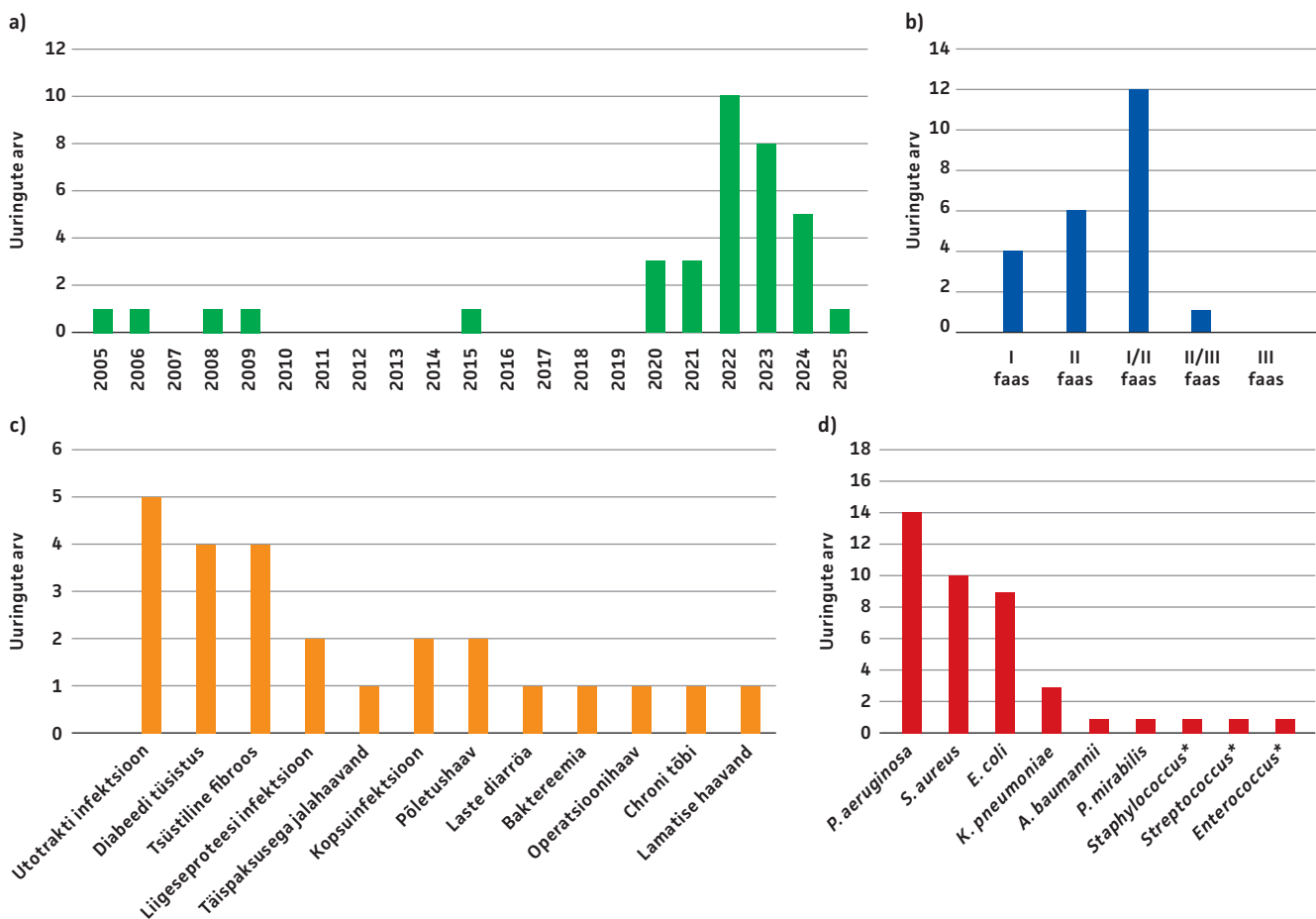
ravi kasutati ühtekokku 14 nakkuse raviks ning kõige sagedasemad haigustekitajad olid *P. aeruginosa* (49/100 patsiendist) ja *S. aureus* (39/100 patsiendist). 69% (79/114) infektsioonide puhul kombineeriti faagiravi standardse antibiootikumraviga. Kliinilist paranemist vähemalt ühe sümptomi osas ning sihtmärkbakterite täielikku likvideerimist täheldati vastavalt 77% (88/114) ja 61,3% (65/114) infektsioonide puhul. 8 patsiendi ravi efektiivsuse kohta ei saanud ravikeskustel tagasisidet (32).

Kuigi nii retrospektiivsete vaatlusuuringute kui ka haigusjuhtude kirjeldused on faagiravi tulemuslikkuse osas paljulubavad, tuleb neisse suhtuda siiski mõningase ettevaatlikkusega. Nendes uurin-gutes puuduvad kontrollrühmad, pimendamine ja juhuslikustamine,

mis vähendab andmete usaldusväärsust. Sageli on patsientidel kasutatud erinevaid manustamisviise, mis raskendab veelgi andmeanalüüsi ning tulemuste üldistamist. Lisaks põhinevad vaatlusuuringute ja haigusjuhtude efektiivsuse ja ohutuse hinnangud enamasti raviarsti subjektiivsel hinnangul, mitte standardiseeritud eeldefineeritud testidel, mistõttu ei saa teha lõplikke järeldusi ravitulemuslikkuse kohta erinevates patsiendipopulatsioonides.

KLIINILISED UURINGUD

Siiani on faagiravi vallas kliinilisi uuringuid läbi viidud vähe ja mitmed neist on ebaõnnestunud. Selle põhjuseks on olnud peamiselt probleemid uuringu ülsehituse või ravimpreparaadi kvaliteediga. Näiteks korraldati aastatel 2015–2019



Joonis 5. Ülevaade faagiravi kliinilistest uuringutest: a) alustatud kliiniliste uuringute arv aastate jooksul; b) juhuslikustatud kontrolluuringute (JKU) faasid; c) JKUde jaotumine haiguse/infektsiooni järgi; d) JKUde jaotumine haigustekitaja järgi. * Liik pole täpsustatud. Andmed pärinevad andmebaasist *clinicaltrials.gov*.

RAVIMITEAVE RAVIMIAMETILT

I ja II faasi kliiniline uuring Phagoburn, mille raames uuriti *P. aeruginosa* infektsiooniga põletushaavade patsientidel faagiravi ohutust ja efektiivsust võrreldes standardse antibiootikumiraviga. See uuring lõpetati ennetähtaegselt, kuna faagiravi saavatel patsientidel osutus ravi ebaefektiivseks. Selle põhjuseks oli ilmselt ravi ajal kasutatud

faagide liiga madal kontsentratsioon (10^2 PFU/ml), mis võis tuleneda kas ravimi tootmise või koostise probleemidest (35). Tõenäoliselt samal põhjusel ebaõnnestus ka Balgristi ülikoolihaiglas aastatel 2017–2018 korraldatud faagiravi efektiivsusuuring urotrakti infektsiooniga patsientidel, kellele oli plaanitud transuretraarne eesnäärme reseksioon (36).

Mõnevõrra paremad tulemused saadi Wrighti jt 2009. aastal korraldatud juhuslikustatud topeltpimedas I-II faasi uuringus, mille käigus analüüsiti kuuest faagist koosneva faagikokteili tõhusust *P. aeruginosa* põhjustatud kroonilise keskkõrvapõletiku ravis võrreldes platseeboga. Kliinilist paranemist ja *P. aeruginosa* arvukuse vähene-

Tabel 2. Faagiravi valdkonna juhuslikustatud kontrolluuringud. Andmed pärinevad andmebaasist *clinicaltrials.gov*

Faas	Disain	Haigus/infektsioon	Haigustekitaja	Sponsor	Staatus
I	J, K, P	Täispaksusega jalahaavand	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Edela piirkondlik haavaravi keskus (USA)	Lõpetatud
I-II	J, K, P	Tsüstilise fibroosiga seotud infektsioon	<i>P. aeruginosa</i>	Armata Pharmaceuticals	
I-II	J, K, P	Tsüstilise fibroosiga seotud infektsioon	<i>P. aeruginosa</i>	Yale'i Ülikool (USA)	
I-II	J, K, P	Diabeedi tüsistus	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>A. baumannii</i>	Technophage	
II	J, K, P	Kopsuinfektsioon	<i>P. aeruginosa</i>	Armata Pharmaceuticals	
NA	J, K, P	Laste diarröa	<i>E. coli</i>	Société des Produits Nestlé	
I-II	J, K, P	Põletushaav	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Pherecydes Pharma	
I-II	J, K, A	Urotrakti infektsioon	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Adaptive Phage Therapeutics	
II-III	J, K, P	Urotrakti infektsioon	<i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i>	Balgristi ülikoolihaigla (Belgia)	
I	J, K, P	Urotrakti infektsioon	<i>E. coli</i>	Baylori meditsiinikolledž (USA)	Veel ei värba
I-II	J, K, P	Urotrakti infektsioon	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	California Ülikool (USA)	
II	J, K, P	Liigeseproteesiga seotud infektsioon	<i>S. aureus</i>	Phaxiam	
II	J, K, P	Diabeedi tüsistus	<i>S. aureus</i>	Adaptive Phage Therapeutics	Värbamine
I	J, K, P	Baktereemia	<i>S. aureus</i>	Armata Pharmaceuticals	
I-II	J, K, P	Tsüstilise fibroosiga seotud infektsioon	<i>P. aeruginosa</i>	Riiklik allergia ja nakkushaiguste instituut (USA)	
II	J, K, P	Urotrakti infektsioon	<i>E. coli</i>	Locus Biosciences	
II	J, K, P	Liigeseproteesiga seotud infektsioon	<i>S. aureus</i>	Pherecydes Pharma	
I-II	J, K, P	Operatsioonihaav	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	MB PHARMA	
II	J, K, P	Diabeedi tüsistus	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>	Technophage	
I-II	J, K, P	Crohni tõbi	<i>E. coli</i>	Intralytix	
I-II	J, K, P	Tsüstilise fibroosiga seotud infektsioon	<i>P. aeruginosa</i>	BiomX	Aktiivne, ei värba
I	J, K, NA	Põletushaav	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Precisio Biotix Therapeutics	Andmed puuduvad
I-II	J, K, P	Lamatise haavand	<i>P. aeruginosa</i>	Precisio Biotix Therapeutics	
I-II	J, K, P	Diabeedi tüsistus	<i>S. aureus</i>	Nîmes'i ülikooli keskhaigla (Prantsusmaa)	

J – juhuslikustatud, K – kontrollitud, P – pimendatud, NA – pole kohaldatav

mist täheldati faagiravi saavatel patsientidel ($n = 12$), kuid mitte platseeborühmas ($n = 12$). Keskmiselt saavutati ravirühmas 21 kuni 42 päeva jooksul kolooniat moodustavate ühikute (ingl *colony forming unit*) vähenemine 80% võrra (37).

Teadmised bakteriofaagide bioloogiast ja farmakoloogiast on viimastel aastatel oluliselt täienenud ja see on viinud faagiravi valdkonna kiirele arengule ning seetõttu tehakse faagipõhiste ravimitega ka üha enam kliinilisi uuringuid (vt joonis 5).

2024. aasta novembri seisuga on andmebaasis *clinicaltrials.gov* registreeritud kokku 38 kliinilist uuringut, millest 24 on juhuslikustatud kontrolluuringud (JKU) (vt joonis 5). Valdav osa JKUsid on I või II faasi uuringud ning peamised ravivaldkonnad on urotrakti infektsioonid ($n = 5$), tsüstilise fibroosiga seotud nakkused ($n = 4$) ja diabeedi tüsistuste infektsioonid ($n = 4$). Kõige sagedamini uuritavad haigus-tekijad on *P. aeruginosa*, *S. aureus* ja *E. coli*.

FAAGIRAVI OHUTUS

Faagid nakatavad ja tapavad eranditult bakterirakke, mistõttu ei kujuta need inimesele otsest ohtu. Lisaks on faagid inimese mikrobiota loomulik osa – hinnanguliselt on inimese organismis faage umbes kümme korda rohkem kui baktereid (12, 38). Praeguseks on kogunenud palju andmeid selle kohta, et faagiravi on suhteliselt ohutu raviviis, mille puhul kõrvaltoimete risk ja nende raskusaste on üldiselt madalad (39).

Uytterbroek jt avaldasid 2022. aastal süstemaatilise ülevaateartikli, milles käsitleti faagiravi ohutust, tuginedes 51 teadusartiklile. Valimi moodustasid juhuslikustatud kontrolluuringud, vaatlus- ja kohortuuringud ning üksikud haigusjuhu kirjeldused (kokku 731 patsienti). Analüüsist selgus, et 7%-l patsientidest tekkis faagiravi käigus kõrvaltoimeid, mis olid enamasti kerged ja möödusid iseenesest pärast ravi lõppu. Sepsisega patsientide

rühmas oli suurem kõrge, kuid selle põhjuseks olid hingamis- ja südamepuudulikkus, mitte faagiravi. Juhuslikustatud kontrolluuringutes esines faagiravi saanud patsientidel kõrvaltoimeid vähem (21/277) kui kontrollrühmades – standardset antibiootikumiravi või platseebot saanud patsientidel (37/249) (40).

Pirnay jt vaatlusuuringus esines kõrvaltoimeid 15%-l (15/100) patsientidest. Nendest seitsmel oli kõrvaltoime seos ravimiga võimalik. Peamised kõrvaltoimed olid köhimine pärast ravimi inhalatsiooni, ebamugavustunne alakõhus, huulelööve, palavik, manustamispaiga punetus ja valu ning kõhulahtisus. Kõik need kõrvaltoimed möödusid iseenesest. Andmete vähesuse tõttu ei olnud võimalik kõrvaltoimete tekkeriski seost manustamisviisiga analüüsida (32).

Väheseid kõrvaltoimeid võib seostada eelkõige faagide kõrge spetsiifilisusega haigustekitaja suhtes. Faagid ei mõjuta negatiivselt kommensaalset mikrofloorat ega eukarüootseid rakke. Sellele vaatamata on mitmeid olulisi aspekte, millele faagiravi ohutuse seisukohast on oluline tähelepanu pöörata, näiteks patsiendil tekkida võib immuunvastus või bakteriaalsete endotoksiinide vabanemine ravi ajal.

Faagid võivad oluliselt mõjutada immuunsüsteemi rakke. Pikemaajalise faagiravi käigus tekivad sageli faagivastased antikehad, põhjustades faagide lüütilise aktiivsuse vähenemise ja mõnikord ka ravi ebaõnnestumise (41). Näiteks tekkisid ühel normaalse immuunsüsteemiga patsiendil pärast kahekuulist veenisest faagiravi neutraliseerivad antikehad, põhjustades *M. abscessus*'e tekitatud kopsuinfektsiooni ravi ebaõnnestumine (42). Pirnay jt analüüsisid 13 faagiravi saaval patsiendil faagide neutraliseerimist immuunsüsteemi poolt. Viiel patsiendil tekkis 6–35 päeva jooksul pärast ravi algust faagide neutraliseerimine, mida seostati eelkõige invasiivsete manustamisviisidega. Sellele vaatamata saavutati neljal

patsiendil viiest kliiniline paranemine ja haigustekitajast vabanemine (32). Pikemaajalise faagiravi puhul on soovitatav mõõta neutraliseerivate antikehade taset (43).

Teine potentsiaalne oht faagiravi kasutamisel on bakteriaalsete endotoksiinide vabanemine Gram-negatiivsetest bakteritest ravi käigus. Selle põhjuseks on faagide kiire toime bakteritele, mis võib põhjustada märkimisväärselt suure endotoksiinide vabanemise lühikese aja jooksul. Bakteriaalsed endotoksiinid võivad immuunrakkude (nt makrofaagide) pinnal aktiveerida Tolli-sarnaseid retseptoreid, põhjustades põletikueelsete tsütokiinide vabanemise. Selle tagajärjel võib tekkida põletik, palavik või harvadel juhtudel koguni septiline šokk (39). Kuna faage toodetakse bakterikultuurides, võivad bakteriaalsed endotoksiinid ravimisse sattuda ka faagide tootmise ajal. Seetõttu on faagipõhiste ravimite kvaliteedi kontrolli käigus muu hulgas oluline analüüsida ka endotoksiinide kontsentratsiooni.

FAAGI-ANTIBIOOTIKUMI SÜNERGISM JA ANTAGONISM

Varem on faage peetud eelkõige antibiootikumide alternatiiviks bakteriaalsete nakkuste raviks. Seetõttu on seni korraldatud juhuslikustatud kontrolluuringutes faagiravi kasutatud monoteraapiana. Viimastel aastatel on aga üks olulisi uurimissuundi faagide ja antibiootikumide omavaheline kombineerimine. Teaduskirjanduses on viiteid nii antibiootikumide ja faagide sünergiale kui antagonismile. Faagi-antibiootikumi sünergia puhul saavutatakse faagide ja antibiootikumide kombineerimisel suurem bakteriotiidne toime. Faagi-antibiootikumi antagonismi puhul aga ravi tõhusus faagide ja antibiootikumide kombineerimisel väheneb (44). Faagide ja antibiootikumide interaktsioonide uurimine on oluline ravistrateegiate optimeerimiseks ja ravitulemuste parandamiseks.

Faagi-antibiootikumi sünergia termini võtsid kasutusele Comeau jt, kes näitasid, et teatud antibiootikumide kasutamisel koos ϕ MFP faagidega tekkis uropatogeense *E. coli* külvile rohkem ja suurema diameetriga faagilaike kui ilma antibiootikumideta. Seda efekti nähti β -laktaamantibiootikumide kasutamisel, aga mitte teiste antibiootikumide (tetratsükliin ja gentamüsiin) puhul (45). Hiljem on mitmed teised uuringud näidanud, et peale faagilaikude suuruse mõjutavad antibiootikumid ka faagide bakterile kinnitumise kiirust, latentse faasi kestust ja ühes bakterirakus moodustunud virionide arvu (ingl *burst size*) (46, 47).

Ka kliinilistes katsetustes on täheldatud faagi-antibiootikumi sünergia. Bao jt kirjeldasid patsienti, kellel oli korduv ravimiresistentse *K. pneumoniae* põhjustatud urotrakti infektsioon. Patsiendile manustati kuuest faagitüvest koosnevat faagikokteili ja sulfametoksasool-trime-toprimi, sest eelnevalt läbi viidud *in vitro* eksperimendis põhjustas see kombinatsioon ravimiresistentse *K. pneumoniae* täieliku supressiooni enam kui 24 tunniks. Viiepäevase ravi järel saavutati haigustekitaja täielik eliminatsioon. Patsienti jälgiti veel kuus kuud pärast ravi ning selle aja jooksul korduvhaigestumist ei esinenud (48).

Schooley jt kirjeldasid haigusjuhtu, kus patsiendilt isoleeritud *A. baumannii* tüvi oli *in vitro* uuringus minotsükliini suhtes resistentne, ent faagide ja minotsükliini kombineerimisel oli patsiendi ravis sünergiline efekt (49).

Pirnay jt vaatlusuuringus kombineeriti 69% (79/114) infektsioonide puhul faagiravi antibiootikumraviga. Andmeanalüüsist ilmnes, et ilma antibiootikumita oli bakterite likvideerimine 70% ebatõenäolisem (riskide suhe = 0,3; 95% uv 0,127–0,749) (32).

Faagi-antibiootikumi sünergia molekulaarsed mehhanismid ei ole veel täpselt teada, kuid on püstitatud mitmeid hüpoteese. Näiteks on *P.*

aeruginosa'ga läbi viidud *in vitro* katsete põhjal oletatud, et faagide seondumine bakteri väljavoolupumpadega põhjustab muteerunud väljavoolupumbaga faagiresistentsete tüvede positiivset selektsiooni. Muteerunud väljavoolupump aga ei pruugi teatud antibiootikumide bakterirakust efektiivselt väljutada, mistõttu suureneb bakterite tundlikkus nende antibiootikumide suhtes (50).

Faagide ja antibiootikumide kombineerimisel tuleb siiski olla ettevaatlik, kuna teatud antibiootikumid võivad faagide lüütilist aktiivsust hoopis vähendada (51, 52). Enne ravi on soovituslik mõõta plaanitud faagide ja antibiootikumide kombinatsioonide potentsiaalset sünergia või antagonismi (43).

REGULATIIVSED ASPEKTIID

Faagipõhised ravimid klassifitseeruvad bioloogilisteks ravimiteks ja nende turustamiseks on vajalik müügiluba. 2024. aasta novembri seisuga on Euroopa Liidus müügiluba ainult ühel faagipõhisel ravimil. Selle üheks põhjuseks on praegune Euroopa Liidu ravimiregulatsioon, mis ei ole faagipõhiste ravimite jaoks sobilik. Faagid on oma peremeesrakude suhtes enamasti väga spetsiifilised ning üks faagitüvi on tavaliselt aktiivne ainult teatud bakteritüvede vastu. Ravimiregulatsioon aga sätestab, et nii uuringuravi kui ka müügiloaga ravimi kvalitatiivne ja kvantitatiivne koostis peavad olema eeldefineeritud. See tähendab, et ravi individualiseerimine vastavalt patsiendi vajadusele ei ole võimalik. Lisaks bakterid arenevad ja muutuvad aja jooksul, mistõttu tekivad ja hakkavad ringleva faagiresistentsed bakteritüved. Sellest tulenevalt on faagipõhiste ravimite koostist vaja aeg-ajalt uuendada, mis on töömahukas ja kallis protsess. Ka näiteks gripivii-ruste ja koroonaviiruste vastaste vaktsiinide koostist tuleb aeg-ajalt uuendada, ent nendele rakendub seaduses erand, mis võimaldab seda teha märkimisväärselt lihtsamalt.

Euroopa Komisjon on välja töötamas uut ravimiregulatsiooni, mis näeb faagipõhiste ravimite ette paindlikumat regulatiivset raamistikku, arvestades nende eripäradega. Faagipõhiste ravimite arendamise soodustamiseks on oluline, et uus õiguslik alus võimaldaks valida raviks sobivad faagid lähtuvalt konkreetse patsiendi vajadusest. Üks võimalus oleks ühe müügiloa raames anda heakskiit mitmele erinevale faagile, mille seast saaks valida toimivad faagid vastavalt patsiendi vajadusele. Sarnane lähenemine on juba lubatud loomadel kasutatavatel faagipõhistel ravimitel (53). Teise olulise aspektina peaks uus ravimiregulatsioon võimaldama muuta ravimi koostist lihtsustatud regulatiivse protseduuriga. Lisaks on vaja suuniseid kliiniliste uuringute läbiviimiseks, kuivõrd sageli on patsientide nakkused väga spetsiifilised ja see raskendab suuremahuliste kliiniliste uuringute tegemist.

Faagiravi valdkonna arengule aitavad kaasa ka teised institutsioonid. Näiteks avaldas EDQM (*European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare*) Euroopa farmakopöas (EF) hiljuti üldise peatüki 5.31 „*Phage therapy medicinal products*“, mis kirjeldab faagipõhiste ravimite tootmise ja kvaliteedikontrolli standardeid. See peatükk hõlmab ka haiglaapteegis valmistatavaid individualiseeritud faagipreparaate (54). Lisaks on EDQM koostamas faagide bioaktiivsuse määramise meetodite peatükki.

Euroopa Raviamet (EMA) on samuti astunud samme faagiravi valdkonna arendamiseks. 2023. aastal valmis kvaliteedijuhend faagipõhiste veterinaarravimite arendamiseks ja tootmiseks (53). Sarnane juhend on koostamisel ka inimestel kasutatavate faagipõhiste ravimite kohta. Selle eesmärk on anda ravimiarendajatele suuniseid kvaliteetse faagipreparaadi väljatöötamiseks ja valmistamiseks ning samuti müügiloa dokumentatsiooni kvaliteetiosa koostamiseks. Juhendit koostava töögrupi juht on Eesti

Ravimiameti müügilubade osakonna spetsialist ja EMA bioloogiliste ravimite töörühma liige Helerin Eiche.

Individualiseeritud faagiravi ei ole Euroopas ühtselt reguleeritud ning igal riigil on müügiloata faagipreparaatide kasutamise lubamiseks erinevad alused.

FAAGIRAVI KASUTAMINE EESTIS

Individualiseeritud faagiravi kasutamiseks Eestis on vaja taotleda Ravimiametilt müügiloata ravimi kasutamise luba. Kui lõplik faagipreparaat segatakse kokku haiglaapteegis, siis peab haiglaapteegil olema luba faagide käitlemiseks. See luba on vajalik eelkõige veendumaks, et apteegil on sobivad tingimused ning apteegipersonalil vajalikud oskused ja teadmised faagide käitlemiseks. Praegu on faagipõhiste ravimite käitlemise luba olemas TÜ Kliinikumi haiglaapteegil.

Eestis on faagiravi saanud üks patsient. 2024. aasta augustis kasutati dr Kaspar Tootsi eestvedamisel individualiseeritud faagiravi puusaliigese endoproteesiga patsiendil, kellel oli antibiootikumiresistentse *S. aureus*'e põhjustatud infektsioon. Patsiendile oli eelnevalt tehtud korduvalt operatsioone, mis aga haigusseisundit ei parandanud. Faagiravi osutus edukaks (55).

KOKKUVÕTE

- Üks võimalus ravida antibiootikumiresistentseid infektsioone on faagiravi, mis on eksperimentaalne raviviis. Euroopa Liidus on praegu ainult ühel faagipõhisel ravimil müügiluba.
- Kuna faagid on peremeesrakkude suhtes üldjuhul väga spetsiifilised, on efektiivseks faagiraviks tavaliselt vaja individualiseeritud ravi, mille puhul raviks sobivad faagid valitakse välja faagitundlikkuse testi alusel.
- Faagiravi on suhteliselt ohutu raviviis, mille puhul kõrvaltoimete tekkerisk on väike ja kõrvaltoimed kerged. Peamised riskid on seotud võimaliku immuunvas-

tuse tekke ning bakteriaalsete endotoksiinide vabanemisega.

- Faagiravi efektiivsust on peamiselt näidatud haigusjuhtude kirjeldustes ja retrospektiivsetes vaatlusuuringutes, kuid üha enam korraldatakse ka juhuslikustatud kontrolluuringuid.
- Paremaks ravitulemuseks kombineeritakse faagiravi sageli standardse antibiootikumraviga, kuna mitmed uuringud on näidanud faagi-antibiootikumi sünergia. Enne ravi on soovitatav faagide ja antibiootikumide koostoimet analüüsida, kuna mõningate kombinatsioonide korral võib ravi tulemuslikkus ka väheneda.

SUMMARY

Phage therapy has high potential for the treatment of antibiotic resistant infections

Helerin Eiche¹

Antibiotic resistance represents a growing and significant global health challenge. According to the European Centre for Disease Prevention and Control, antibiotic resistance leads to over 670,000 infections and approximately 33,000 deaths annually within the European Union (1). One promising approach to treating antibiotic-resistant infections is phage therapy. This therapeutic strategy involves the use of bacteriophages, or phages — viruses that specifically target and infect bacterial cells, replicating within them, and often leading to the destruction of the host cell.

Phage therapy remains largely an experimental treatment modality, with only one phage-based drug currently authorized within the

¹ State Agency of Medicines

Correspondence to:
Helerin Eiche
helerin.eiche@ravimiamet.ee

Keywords:
bacteriophage, phage therapy, bacterial infection

European Union. Due to the inherent host specificity of phages, effective phage therapy typically necessitates a personalized approach, wherein the selection of appropriate phages is guided by phage susceptibility testing.

Phage therapy is considered a relatively safe treatment with a low incidence of side effects, which are typically mild. The primary risks are associated with the potential for immune responses and the release of bacterial endotoxins. The effectiveness of phage therapy has primarily been demonstrated in case reports and retrospective observational studies, although an increasing number of randomized controlled trials are also being conducted.

To optimize treatment outcomes, phage therapy is frequently combined with standard antibiotic therapy, as numerous studies have demonstrated a synergistic effect between phages and antibiotics. It is essential to evaluate the interactions between phages and antibiotics prior to treatment, as the efficacy of certain combinations may be diminished.

The European Union legislation is currently undergoing revision, with the introduction of provisions designed to facilitate the development of phage-based therapeutics. Furthermore, several technical guidelines, either recently implemented or forthcoming, are set to provide comprehensive guidance for the development and manufacturing of phage-based products within the Union.

KIRJANDUS

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016–2020 [kodulehekül]. 2022. [vaadatud 15.11.2024] Saadaval: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Health-burden-infections-antibiotic-resistant-bacteria.pdf>.
2. Ventola L. The antibiotic resistance crisis. *Pharm Ther* 2015;40:277–83.
3. Organisation for Economic Co-operation and Development. Embracing a one health framework to fight antimicrobial resistance [kodulehekül]. 2023. [vaadatud 10.11.2024] Saadaval: <https://oe.cd/amr-onehealth>.
4. Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban N. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:320–30.

5. Chambers H, Deleo F. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:629–41.
6. Blair J, Webber M, Baylay A, Ogbolu D, Piddock L. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2015;13:42–51.
7. WHO. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [kodulehekülg]. 2017. [vaadatud 12.09.2024] Saadaval: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
8. Magill SS, O'Leary E, Janelle Sjt. Changes in prevalence of health care-associated infections in U.S. hospitals. *N Engl J Med* 2018;379:1732–44.
9. Suetens C, Latour K, Kärki T, et al. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: Results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Eurosurveillance* 2018;23:1–18.
10. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardiessi KR. Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Front Microbiol* 2019;10.
11. European Commission. Council recommendation on stepping up EU actions to combat antimicrobial resistance in a One Health approach (2023/CC 220/01) [kodulehekülg]. 2023. [vaadatud 15.11.2024] Saadaval: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32023H0622%2801%29>.
12. Suttle CA. Viruses in the sea. *Nature* 2005;437:356–61.
13. Summers W. Félix Hubert d'Herelle (1873–1949): History of a scientific mind. *Bacteriophage* 2016;6.
14. Chanishvili N. Phage therapy—history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res* 2012;83:3–40.
15. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris Jr J. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:649–59.
16. Weber-Dąbrowska B, Mulczyk M, Górski A. Bacteriophage therapy of bacterial infections: An update of our institute's experience. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2000;48:547–51.
17. Eliava Phage Therapy Center [kodulehekülg]. [vaadatud 20.11.2024] Saadaval: <https://eptc.ge/>.
18. Ackermann H-W. 5500 Phages examined in the electron microscope. *Arch Virol* 2007;152:227–43.
19. Fatfull G, Hendrix R. Bacteriophages and their Genomes. *Curr Opin Virol* 2011;1:1–7.
20. Matsuzaki S, Rashel M, Uhiyama J, et al. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother* 2005;11:211–9.
21. Howard-Varona C, Hargreaves KR, Abedon ST, Sullivan MB. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISME J* 2017;11:1511–20.
22. Lynch KH, Stothard P, Dennis JJ. Genomic analysis and relatedness of P2-like phages of the Burkholderia cepacia complex. *BMC Genomics* 2010;11.
23. Freeman V. Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *J Bacteriol* 1951;61:675–88.
24. Chen Y, Batra H, Dong J, Chen C, Rao V, Tao P. Genetic engineering of bacteriophages against infectious diseases. *Front Microbiol* 2019;10.
25. Poskin EL. Bacteriophages: Nature's remedy for tackling superbugs and antimicrobial resistance [kodulehekülg]. Open Access Government. [vaadatud 20.11.2024] 2023. Saadaval: <https://www.openaccessgovernment.org/article/bacteriophages-natures-remedy-for-tackling-superbugs-and-antimicrobial-resistance/166292/>.
26. Tecnofage. The company [kodulehekülg]. [vaadatud 17.11.2024] Saadaval: <https://technofage.pt/the-company/>.
27. Phaxiam Therapeutics. Our mission [kodulehekülg]. [vaadatud 17.11.2024] Saadaval: <https://phaxiam.com/en/contact-en/>.
28. Monferrer E, Domingo-Calap P. irus-host coevolution as a tool for controlling bacterial resistance to phage therapy. *J Biotechnol Biomed* 2019;2:96–104.
29. Laanto E, Mäkelä K, Hoikkala V, Ravantti J, Sundberg L. Adapting a phage to combat phage resistance. *Antibiotics* 2020;9.
30. Borin J, Avrani S, Barrick J, Meyer J. Coevolutionary phage training leads to greater bacterial suppression and delays the evolution of phage resistance. *PNAS*. 2021;118.
31. Aslam S, Lampley E, Wooten D, et al. Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the United States. *Open Forum Infect Dis* 2020;7.
32. Pirnay J, Djebbara S, Steurs G, et al. Personalized bacteriophage therapy outcomes for 100 consecutive cases: a multicentre, multinational, retrospective observational study. *Nat Microbiol* 2024;9:1434–53.
33. Międzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dąbrowska B, et al. Clinical aspects of phage therapy. In: Łobocka M, Szybalski W, editors. *Advances in Virus Research*. Academic Press; 2012:73–121.
34. Green SI, Clark JR, Santos HH, et al. A Retrospective, observational study of 12 cases of expanded-access customized phage therapy: production, characteristics, and clinical outcomes. *Clin Infect Dis* 2023;77:1079–91.
35. Jault P, Leclerc T, Jennes S, 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;19:35–45.
36. Leitner L, Ujmajuridze A, Chanishvili N, et al. Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Lancet Infect Dis* 2021;21:427–36.
37. Wright A, Hawkins CH, Ånggård 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;34:349–57.
38. Ashelford KE, Day MJ, Bailey MJ, Lilley AK, Fry JC. In situ population dynamics of bacterial viruses in a terrestrial environment. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:169–74.
39. Liu D, Van Belleghem JD, de Vries CR, et al. The safety and toxicity of phage therapy: A review of animal and clinical studies. *Viruses* 2021;13:1268.
40. Uyttebroeck S, Chen B, Onsea J, et al. Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2022;22:e208–e220.
41. Górski A, Międzybrodzki R, Borysowski J, et al. Phage as a modulator of immune responses: practical implications for phage therapy. *Adv Virus Res* 2012;83:47–71.
42. Dedrick RM, Freeman KG, Nguyen JA, et al. Potent antibody-mediated neutralization limits bacteriophage treatment of a pulmonary *Mycobacterium abscessus* infection. *Nat Med* 2021;27:1357–61.
43. Suh GA, Lodise TP, Tamma PD, et al. Considerations for the use of phage therapy in clinical practice. *Antimicrob Agents Chemother* 2022;66:1–36.
44. Gu Liu C, Green S, Min L, et al. Phage-antibiotic synergy is driven by a unique combination of antibacterial mechanism of action and stoichiometry. *MBio* 2020;11.
45. Comeau AM, Tétart F, Trojet SN, Prère MF, Krisch HM. Phage-antibiotic synergy (PAS): β -lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS One* 2007;2:8–11.
46. Ryan EM, Alkawarek MY, Donnelly RF, Gilmore BF. Synergistic phage-antibiotic combinations for the control of *Escherichia coli* biofilms in vitro. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012;65:395–8.
47. Uchiyama J, Shigehisa R, Nasukawa T, et al. Piperacillin and ceftazidime produce the strongest synergistic phage-antibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Virol* 2018;163:1941–8.
48. Bao J, Wu N, Zeng Y, et al. Non-active antibiotic and bacteriophage synergism to successfully treat recurrent urinary tract infection caused by extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:771–4.
49. Schooley R, Biswas B, Gill J, et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61.
50. Chan B, Sistrom M, Wertz J, Kortright K, Narayan D, Turner P. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Reports* 2016;6.
51. Van Nieuwenhuysse B, Van der Linden D, Chatzis O, et al. Bacteriophage-antibiotic combination therapy against extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection to allow liver transplantation in a toddler. *Nat Commun* 2022;13.
52. Abedon S. Phage-antibiotic combination treatments: antagonistic impacts of antibiotics on the pharmacodynamics of phage therapy? *Antibiot* 2019;8.
53. European Medicines Agency. Guideline on quality, safety and efficacy of veterinary medicinal products specifically designed for phage therapy. 2023. [vaadatud 14.11.2024]. Saadaval: <https://www.ema.europa.eu/en/quality-safety-efficacy-bacteriophages-veterinary-medicines-scientific-guideline#current-version-section>.
54. EDQM. Phage therapy active substances and medicinal products for human and veterinary use (5.31). *European Pharmacopoeia*. 11.6. Strasbourg: EDQM, 2024:1–4.
55. Tartu Ülikooli kliinikum. Kliinikumi ortopeediakliiniku ravimeeskond kasutas Eestis esmakordselt bakteriofaage puusaligese endoproteesiga seotud infektsiooni ravis [kodulehekülg]. 2024. [vaadatud 01.12.2024] Saadaval: <https://www.kliinikum.ee/kliinikumi-ortopeediakliiniku-ravimeeskond-kasutas-eestis-esmakordselt-bakteriofaage-puusaligese-endoproteesiga-seotud-infektsiooni-ravis/>.