Institut für Nutztierwissenschaften, Fachgebiet Infektions- und Umwelthygiene bei Nutztieren der Universität Hohenheim, Stuttgart

**Bakteriophagen – zurück in die Zukunft**

(Aus einem Vortrag zur 38. Arbeitstagung des Verbandes der Zootierärzte, Stuttgart 2018)

von

Wolfgang Beyer

Viren sind die häufigste auf unserem Planeten vorkommende biologische Entität – der Begriff Lebensform ist nach wie vor umstritten. Angaben zur Häufigkeit schwanken zwischen 1031 und 1032 *virus like particles*. Nach heutigem Wissen sind Bakteriophagen – oder kurz Phagen – ausschließlich Bakterien und Archaeen befallende Viren und ihre Vielfalt ist schier unendlich. Letzteres ist wohl eine Konsequenz aus der evolutionären Vergesellschaftung mit ihren Wirten und der enormen Replikations- und Mutationsrate. Man schätzt, dass auf der Erde jede Sekunde 2.5 x 1025 neue virale Genome entstehen können. Und dennoch wissen wir nur sehr wenig über ihre Daseinsformen, geschweige denn über ihre Rolle für das Leben auf der Erde. Spezialisten sprechen von der „*Dark Matter*“ der Biologie (Youle et al., 2012).

Im Jahr 1915 beschrieb ein britischer Mediziner und Bakteriologe, Frederick W. Twort (1877-1950), ein *„ultra-microscopic virus“* (kleiner als im Lichtmikroskop sichtbar), das als *transparent material* Bakterien zerstören konnte, sich ohne diese aber nicht vermehren ließ und darüber hinaus in Infektionsversuchen mit Labortieren keinerlei Pathogenität aufwies (Twort, 1915). Zwei Jahre später nannte Felix d’Herelle (1873-1949) diese Bakterienkiller Bakteriophagen und erkannte, dass sich diese als Therapeutikum gegen Ruhr auslösende Bakterien einsetzen ließen (D’Herelle, 1917). Später fand er weitere Phagen gegen Typhus, Cholera, Pest und andere Infektionskrankheiten. Bereits 1927 leitete er die erste Großkampagne einer Phagentherapie gegen Cholera, am Campbell Hospital in Calcutta. Tatsächlich wurden Phagenpräparate seit den 1920er Jahren weltweit erfolgreich eingesetzt. Im Zweiten Weltkrieg wurden sowjetische Soldaten an den Fronten mit am Eliava-Institut in Tbilisi produzierten „Tanklastwagen voll Phagen“ (Interview SWR2, 18.04.2018, Dr. M. Kutateladze, Eliava-Institut) gegen Wundbrand, Typhus und andere Seuchen behandelt. Heute ist das Institut in Tbilisi zum „Mekka“ der Phagentherapie geworden und Wissenschaftler, Mediziner und Pharmaproduzenten geben sich dort die Klinke in die Hand. Neben Forschungslaboren und der Phagenproduktion verfügt das Institut über ein Therapiezentrum, in dem zunehmend auch Patienten aus westlichen Ländern behandelt werden. Die Erfolgsrate der Behandlungen verschiedenster Infektionen mit Phagen wird mit 95-97 % beziffert. Dabei kann das Institut neben den kommerziell in jeder Apotheke verfügbaren 6 Standardmischungen auf eine Bank von tausenden verschiedener Phagen zugreifen. Das ermöglicht eine individualisierte Behandlung von Patienten. Die größte Errungenschaft des Eliava-Instituts besteht demnach nicht darin, für fast jeden bakteriellen Erreger einen Phagen zu besitzen sondern zu jeder Zeit für jeden Patienten den jeweils effektiven Phagen anwenden zu können.

Bakteriophagen stehen nun bereits seit 100 Jahren im Fokus medizinischer und biotechnologischer Forschung und Entwicklung, sei es als antibakterielles Agens zur Bekämpfung menschlicher, tierischer oder auch pflanzlicher Infektionen, zur Beseitigung bakterieller Kontaminationen in der Lebensmittelkette sowie als Gegenstand oder Vehikel molekularbiologischer Forschung. Dabei wurde zunehmend deutlich, dass die lytische Aktivität und damit die Zerstörung von Bakterien eher nicht die eigentliche Lebensweise beider Partner darstellt. Vielmehr geht man davon aus, dass die Lebensgemeinschaft und damit die Coevolution von Bakterien und ihren Phagen das Lebenselixier aller Mikrobiome darstellt, ob in und auf lebenden Makroorganismen oder in den verschiedensten Umwelt-Biotopen der Erde. Jüngste Forschungsdaten zu einer als „aktive Lysogenie“ bezeichneten Lebensgemeinschaft von Phagen und Bakterien lassen uns eben erst eine vage Idee davon entwickeln, wie die ökologische, physiologische oder auch pathologische Rolle von Bakterien durch Phagen gesteuert wird, welche zum einen ganz wesentlich den Genaustausch zwischen den Mitgliedern eines Mikrobioms ermöglichen (horizontaler Gentransfer) und zum anderen über viele Generationen hinweg mit ihrem Wirt vergemeinschaftet bleiben, ohne ihm zu schaden (Feiner et al., 2015).

Diese als temperente Phagen bezeichnete Form eignet sich aufgrund ihrer Eigenschaften nicht für die therapeutische oder andere Anwendungen, welche auf die Eliminierung eines Bakteriums abzielen. Grundsätzlich ist daher jeder für die Anwendung vorgesehene Phage auf seine streng lytischen Eigenschaften zu prüfen. Dies geschieht heute neben den klassischen mikrobiologischen Methoden durch die Charakterisierung der entsprechenden genetischen Informationen. Aber auch dann ist der Erfolg am Patienten noch nicht automatisch gegeben. Phagen müssen physisch mit dem Erreger in Kontakt kommen. Das lässt sich im Reagenzglas einfach erreichen, nicht aber unbedingt auch im Patienten. Daher ist neben der Qualität einer Phagenpräparation die richtige Verabreichung essentiell für den Erfolg. Offensichtlich schwierig sind Anwendungen für systemische Infektionen, aber auch unter den physiologischen Bedingungen im Darm oder dem zentralen Nervensystem. Und, vorwiegend intrazellulär lebende und sich vermehrende Bakterien sind nur sehr schwer erreichbar. Dagegen eignen sich Phagen hervorragend für die Behandlung von Wundinfektionen, zur Vorbeugung von Infektionen nach einer Operation, für Keime auf der Haut, in der Blase oder den Atemwegen.

Die zunehmende Verbreitung humanpathogener Bakterien mit multiplen Resistenzen

gegen die in der Human- und Veterinärmedizin verwendeten Antibiotika führte zu einer Vielzahl von Initiativen mit dem Ziel, die Verwendung von Antibiotika in der Medizin und der Landwirtschaft zu reduzieren und neue antibiotisch wirksame Pharmaka zu entwickeln.

Letzteres gilt als zeitraubend und teuer. Phagen sind dagegen als Therapeutikum schon lange erfolgreich im Einsatz und offensichtlich eine Alternative oder auch ein Additiv zu Antibiotika. Die wesentlichen Vorteile der Phagenanwendung gegenüber Antibiotika als Therapeutikum bestehen in (1) der hohen Spezifität der Phagen für eine oder Teile einer Bakterienspezies, womit die Antibiotika-typische Zerstörung ganzer Mikrobiome vermieden wird, (2) im sich selbst vermehrenden und nach Eliminierung des Wirts auch selbst limitierenden Systems und (3) der nahezu unendlichen Verfügbarkeit und damit Ersetzbarkeit im Falle der Unwirksamkeit.

Institutionen wie das Eliava-Institut in Tbilisi (Georgien) und das Phagentherapie-Zentrum am Ludwik-Hirszfeld- Institut für Immunologie und Experimentelle Therapie der Polnischen Akademie der Wissenschaften (Breslau) haben langjährige Erfahrung im therapeutischen Einsatz von Phagen. Insbesondere in den Ländern der ehemaligen Sowjetunion war und ist die Phagentherapie Routine, während die westlichen Industrienationen nach 1945 auf den Einsatz von Antibiotika gesetzt hatten und die Phagen als natürliches Therapeutikum zunehmend in Vergessenheit gerieten. Nach Angaben des Europäischen Parlaments sterben ca. 25.000 Menschen pro Jahr in Europa an nicht behandelbaren Infektionen. Die Charité in Berlin schätzt, dass allein in Deutschland bis zu 4.000 Menschen jährlich an Infektionen mit multiresistenten Erregern sterben. Schätzungen für die Zukunft gehen von bis zu zehn Millionen Todesfällen pro Jahr aus (Deutscher Bundestag, 2017). Diese Zahlen und die damit verbundenen Schicksale sollten Grund genug sein, Zulassungsverfahren für Phagen in der Therapie auch in Deutschland intensiv zu prüfen. Die Herausforderung besteht darin, die Zulassungsverfahren dem Agens „Phage“ anzupassen, nicht umgekehrt. Ein sich selbst vermehrendes und evolvierendes Agens, also ein lebendes System, widerspricht allen aktuellen europäischen Regeln der Überwachung qualitativer und quantitativer Merkmale eines Therapeutikums. Dennoch ist der Einsatz von Phagen möglich und auch in Deutschland nicht verboten. Nach der Deklaration von Helsinki (WMA, 2013) können Ärzte nicht zugelassene Therapieverfahren als individuellen Heilversuch einsetzen. Nach dieser Regel werden seit Jahren Patienten am Phagentherapie-Zentrum in Polen erfolgreich behandelt. Ähnliche Einrichtungen gibt es auch in anderen europäischen Ländern. Seit Ende 2017 geht Belgien jedoch einen neuen Weg (Pirnay et al., 2018). Das Ziel ist die individualisierte Therapie von ausgewählten Patienten nach dem Magistralrezeptur-Verfahren. Unter einer *Formula magistralis* versteht man Arzneimittel, die nach Verschreibung durch einen Arzt von Apothekern individuell zubereitet werden. Sie werden im Gegensatz zu Fertigarzneimitteln nicht im Voraus produziert und sind nicht zulassungspflichtig. Jedoch werden die Zubereitungen von dafür anerkannten (Referenz-)Laboratorien auf zuvor intern festgelegte Qualitätskriterien geprüft. Es bleibt abzuwarten, ob sich weitere europäische Länder mit diesem Verfahren einverstanden erklären werden. Zumindest erscheint es aber sinnvoll, die Möglichkeit des Einsatzes von Phagen in der Veterinärmedizin nach dem Dispensierrecht für Tierärzte zu prüfen.

Wenn auch bei weitem noch nicht so beeindruckend wie in der Humanmedizin, so finden sich in der Literatur und den Medien doch hin und wieder Erfolgsnachrichten zur Phagentherapie oder Dekolonisierung bei Tieren bzw. zur Hygienisierung von Tierbeständen. Anwendungsgebiete sind z. B. Infektionen mit multiresistenten Erregern bei Haus- und Zootieren, Behandlungen von Mastitiden bei Milchrindern, die Bekämpfung von Fischkrankheiten oder auch der amerikanischen Faulbrut bei Bienen (Yolanda et al., 2011; Kittler et al, 2013; Jee et al., 2013; Tiwari et al., 2013; Doss et al., 2017; Scott et al., 2017).

Ein weiteres lohnenswertes Anwendungsgebiet für Phagen bietet sich entlang der Lebensmittelkette, von der Dekolonisierungen Lebensmittel liefernder Tiere (z. B. *Campylobacter* spp.in Hähnchen) bis zur Dekontamination von Fertigprodukten wie Käse, Fleisch oder Fisch. Tatsächlich werden entsprechende Phagenmischungen bereits eingesetzt, gegen Salmonellen, Listerien oder EHEC-Bakterien (Phageguard S und L, Fa. Micreos, Niederlande; ListShield™, SalmoFresh™ und Eco­Shield™, Fa. Intralytics, USA). Die Produkte Phageguard S und L sollen eine Reduktion von Bakterienkontaminationen von bis zu 3 log10 erreichen und sind in den USA, Kanada, Neuseeland und den Niederlanden bereits zugelassen bzw. im Zulassungsverfahren. Alle gelten als harmlos für Mensch, Tiere und Pflanzen. Die FDA hat diesen Produkten den sogenannten GRAS-Status (*Generally Recognized As Safe*) zugesprochen. Ein weiteres Produkt einer deutschen Firma gegen Kontaminationen mit EHEC-Bakterien wird derzeit durch die FDA geprüft.

Für die breite Anwendung von Phagen in Deutschland müssen die derzeit existierenden Unsicherheiten in Bezug auf medizinische Indikationen und Zulassungskriterien für Phagenprodukte beseitigt werden. Dafür ist eine intensive Zusammenarbeit und Weiterbildung von Medizinern, Pharmazeutischer Industrie, Zulassungsbehörden, Wissenschaft und nicht zuletzt der Politik erforderlich. Diesem Gedanken folgend fand im Oktober 2017 das erste deutsche Phagensymposium an der Universität Hohenheim statt, ausgerichtet vom Forschungszentrum für Gesundheitswissenschaften (FZG) der Universität Hohenheim. Mehr als 160 Wissenschaftler/innen aus 19 Ländern, darunter Spezialisten aus den führenden Institutionen der Phagenforschung und -anwendung, diskutierten über den Status quo und die Weiterentwicklung dieser Therapieform. Als ein erstes Ergebnis wurde das Nationale Forum Phagen (NFP) gegründet, dessen 1. Arbeitstreffen am 18. Juni 2018 in Hohenheim stattfand. Das Netzwerk versteht sich als eine Plattform für alle Fachleute auf dem Gebiet in Deutschland. Ziel des Forums ist die Verlinkung der vorhandenen Expertise auf dem Gebiet der Phagenforschung und -anwendung in den Natur- und Umweltwissenschaften, der Medizin, Pharmazie, Landwirtschaft sowie Ernährungs- und Sozialwissenschaften und die Vernetzung dieser Bereiche mit Wirtschaft, Zulassungsbehörden und Fördermittelgebern. Die Ergebnisse des Symposiums sowie der 1. Arbeitstagung des NFP finden sich auf den Internetseiten des FZG (<https://1st-german-phage-symposium.uni-hohenheim.de/en> und <https://nationales-forum-phagen.uni-hohenheim.de/das-nfp>).

**Literatur**

D’Herelle F (1917): Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. CR Hebd Seances Acad Sci D165 11: 373–375

Deutscher Bundestag (2017) Drucksache 18/12075, <http://dip21.bundestag.de/dip21/btd/18/120/1812075.pdf>

Doss J, Culbertson K, Hahn D, Camacho J, Barekzi N (2017): A Review of Phage Therapy against Bacterial Pathogens of Aquatic and Terrestrial Organisms. [Viruses](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371805/) 9: 50

Feiner R, Argov T, Rabinovich L, Sigal N, Borovok I, Herskovits AA (2015): A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria. Nature Rev Microbiol, 13: 641-650

Jee EH, Ji HKim, Sun YH, Casiano H. Choresca Jr., Sang PS, Jin WJ, Ji YC, Yong HP, Se CP (2013): Isolation and characterization of a Myoviridae bacteriophage against Staphylococcus aureus isolated from dairy cows with mastitis. Res Vet Sci 95: 758–763

Kittler S, Fischer S, Abdulmawjood A, Glünder G, Klein G (2013): Effect of Bacteriophage Application on *Campylobacter jejuni* Loads in Commercial Broiler Flocks, Appl Env Microbiol 79: 7525–7533

Pirnay JP, Verbeken G, Ceyssens PJ, Huys I, De Vos D, Ameloot C, Fauconnier A (2018): The Magistral Phage. Viruses 10: 64

Scott, T, Bryan B, Merrill D, Hilton JA, Payne AM, Stephenson MB, Hope S (2017): Bacteriophages as an alternative to conventional antibiotic use for the prevention or treatment of *Paenibacillus larvae* in honeybee hives. J Invertebrate Pathol 150: 94-100

Tiwari JG, Babra C, Tiwari HK, Williams V, Wet SD, et al. (2013) Trends in Therapeutic and Prevention Strategies for Management of Bovine Mastitis: An Overview. J Vaccines Vaccin 4: 176

Twort FW (1915): An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet 2: 1241–1243

WMA, World Medical Association, (2013): Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. doi:10.1001/jama.2013.281053.

Yolanda C, Silva J, Santos AL, Cunha A, Gomes NCM, Almeida A (2011): Bacteriophages with Potential for Inactivation of Fish Pathogenic Bacteria: Survival, Host Specificity and Effect on Bacterial Community Structure. Mar Drugs 9: 2236–2255

Youle M, Haynes M, Rohwer F (2012): Scratching the surface of biology’s dark matter. In: [Viruses: Essential Agents of Life](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-4899-6_4), ed. Günther Witzany (Springer Netherlands): p. 61-81

**Anschrift des Verfassers**

PD Dr. med. vet. habil. Wolfgang Beyer

Fachtierarzt für Mikrobiologie

Fachgebiet Infektions- und Umwelthygiene bei Nutztieren

Institut für Nutztierwissenschaften

Universität Hohenheim

Garbenstraße 30

D-70599 Stuttgart

Tel.: 0711-459-22429

wolfgang.beyer@uni-hohenheim.de