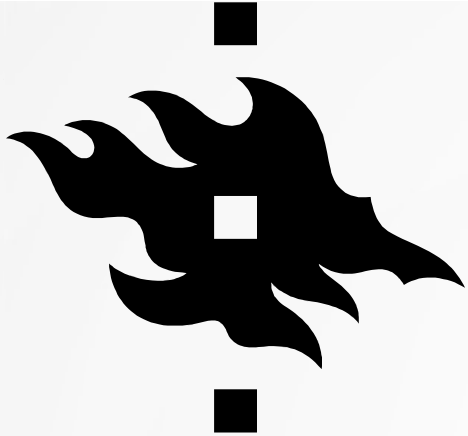


FAAGIHOITO BIOLOGISTEN UHKIEN TORJUNTAKEINONA

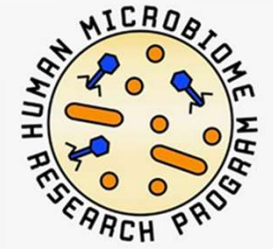
Saija Kiljunen, FT, Dosentti. Helsingin yliopisto, Lääketieteellinen tiedekunta

MATINE projekti 2500M-0183, 131 941 €

Tutkimuskausi 1.2.2025 – 31.12.2026 (1. vuosi)



DISCLAIMER



I, Saija Kiljunen, am currently affiliated with University of Helsinki as a University Researcher and serve as a Board Member and Chief Scientific Officer at PrecisionPhage Ltd. The views and opinions expressed in this presentation are solely my own and do not necessarily reflect the views or opinions of University of Helsinki or PrecisionPhage Ltd.

This presentation is intended solely for academic and informational purposes and should not be construed as an official statement or endorsement by University of Helsinki or PrecisionPhage Ltd.

Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or European Commission. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

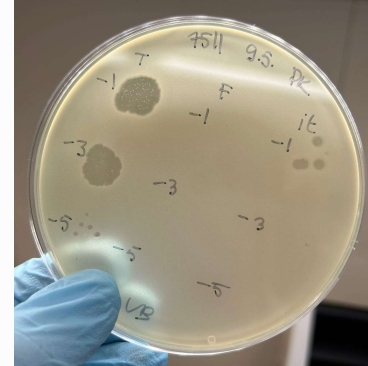
Thank you for your understanding and for considering the information presented herein within the context of my individual perspective.



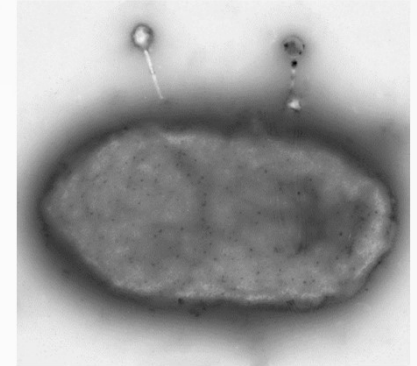
BAKTERIOFAGIT (FAAGIT)

- Viruksia, jotka infektoivat bakteereita
- Maailmassa $\sim 10^{31}$ faagia
- Faageja n. 10 x bakteerien määrä
- Kaikkialla, missä bakteerit kasvavat
- Erittäin kapea isäntäkirjo

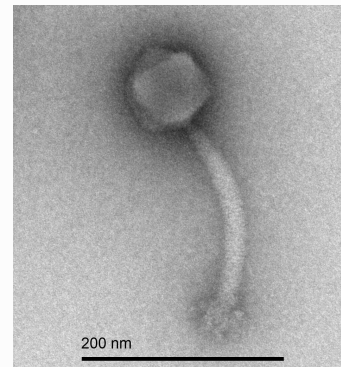
Kuva: Peppi Kareljärvi



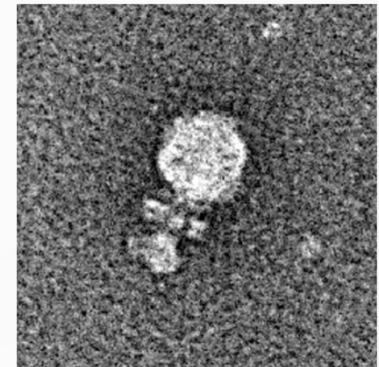
Faageja bakteerimaljalla



Φ R1-37 *Yersinia enterocolitica*-solun pinnalla



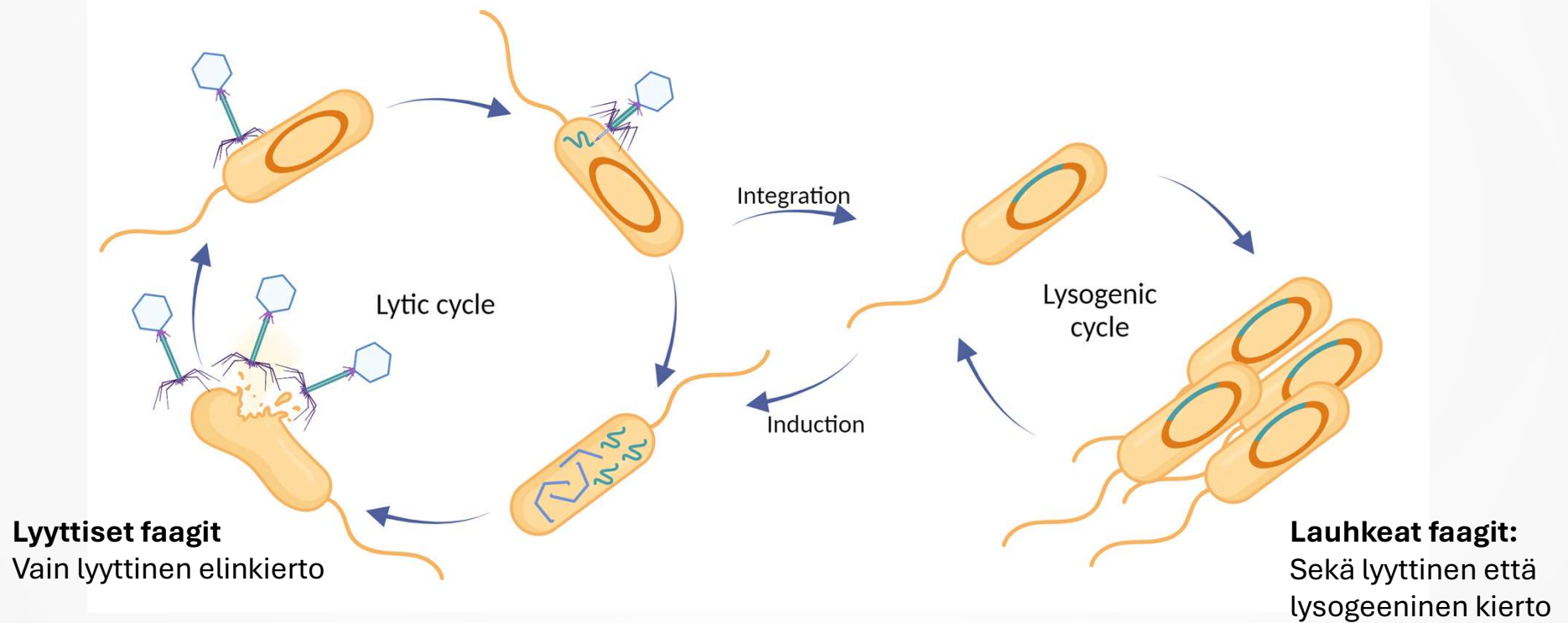
fRuSau02



Φ EBHT

HÄNNÄLLISTEN FAAGIEN ELINKIERTO

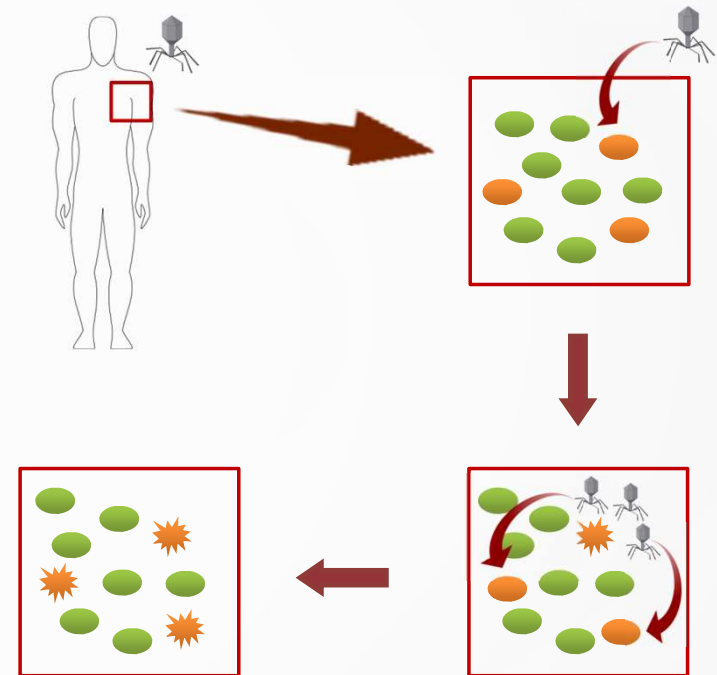
Figure created with BioRender.com





FAAGIHOITO

- Faagien käyttö bakteeri-infektioiden hoidossa
- Käytettiin paljon ~100 vuotta sitten
- Käyttö loppui Länsimaissa antibioottien tultua saataville, mutta jatkui aktiivisesti entisen Neuvostoliiton ja Itä-Euroopan maissa
- Hoitotarkoituksiin vain lyyttisiä faageja
- Bakteerien antibioottiresistenssi kasvaa => kiinnostus faagihoitoon nousussa
- Faagihoidon erityispiirteet huomioivaa lääkelainsäädäntöä ollaan kehittämässä Euroopan tasolla

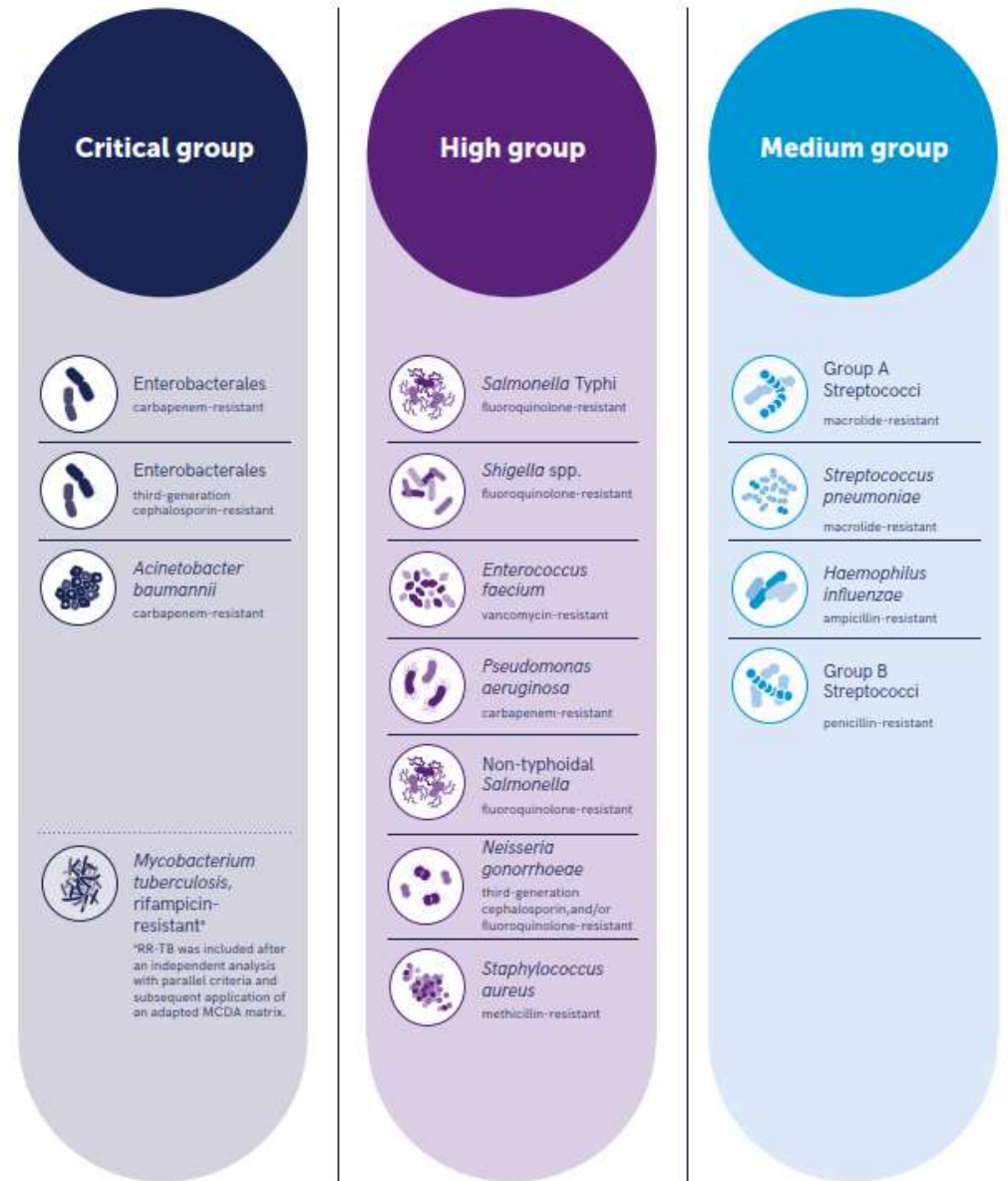




WHO BACTERIAL PRIORITY PATHOGEN LIST 2024

Bakteerit, joita vastaan Maailman terveysjärjestön mukaan tarvitaan kaikkein kipeimmin uusia hoitokeinoja

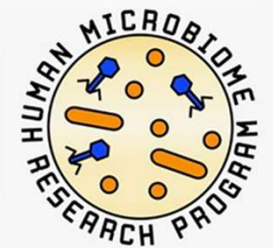
*Enterobacterales: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia*, and *Morganella*





Faagihoidon erityispiirteitä

- **Faageilla on kapea isäntäkirjo**
 - Faagihoidon sivuvaikutukset hyvin vähäisiä
 - Jokaiselle taudinaiheuttajabakteerille pitää löytää tehokas faagi
 - Vaikea lääkelainsäädännön kannalta
 - Kliiniset kokeet haastavia
- **Lisääntyvät hoidon aikana kohdebakteerissa**
 - Määrää elimistössä vaikea ennustaa
- **Muodostuvat proteiineista ja nukleiinihapoista**
 - Ei haitallisia yhdisteitä tai hajoamistuotteita



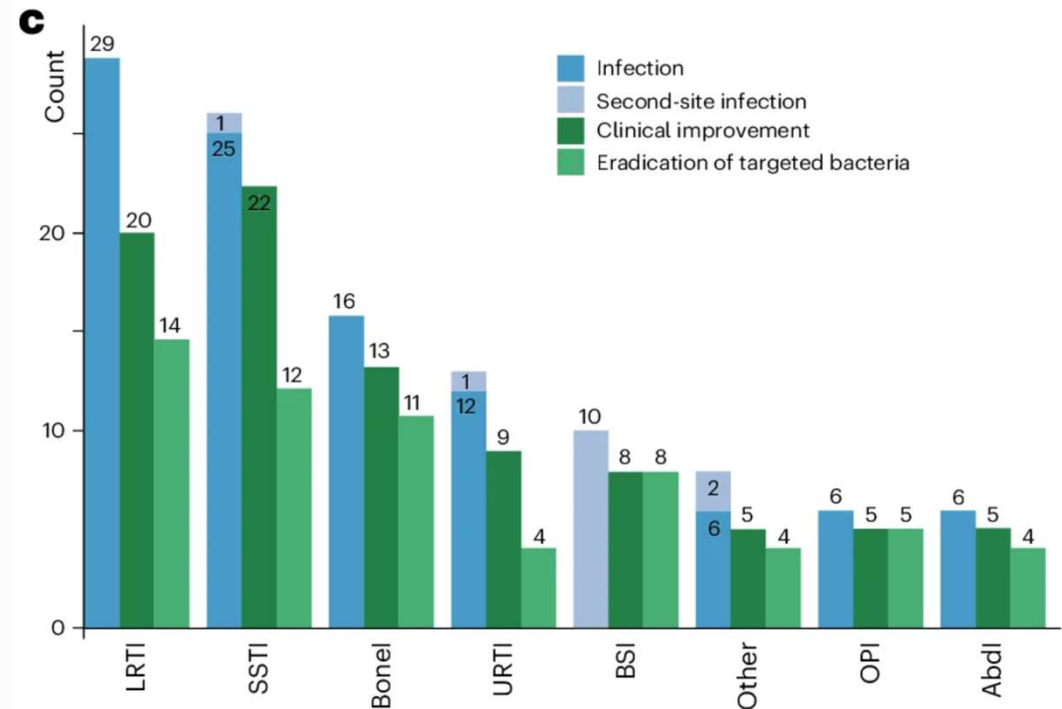


Faagihoidon teho

Tehon arviointi on joskus vaikeaa:

- Kaksoissokkoutettuja lääketutkimuksia vielä vähän, tulokset usein yksittäisistä tapauselostuksista
- Potilailla usein samanaikainen antibioottihoito
- “Mahdottomia” (kroonisia) infektioita, sekainfektioita
- Ero kliinisessä ja mikrobiologisessa tuloksessa
- Yksittäistapauksissa tarkoitus hoitaa potilasta, ei tehdä tutkimusta

J-P Pirnay *et al.* Nature Microbiology (2024):
Personalized bacteriophage therapy outcomes for 100 consecutive cases: a multicentre, multinational, retrospective observational study.



Kliininen hyöty 77.2 %, bakteerin häätö 61.3 %.



SOTILASLÄÄKETIEDE JA BAKTEERIT

Biologinen sodankäynti / Bioterrorismi

- Taudinaiheuttajan tahallinen levittäminen
- Mahdollista, mutta ei kovin todennäköistä
- Mahdollisia bakteereita
 - *Yersinia pestis* (rutto)
 - *Bacillus anthracis* (pernarutto)
 - *Brucella* spp (bruselloosi)
 - *Burkholderia mallei* ja *B. pseudomallei* (räkätauti, melioidoosi)

Haavainfektiot

- Vakava ongelma, antibioottiresistenssi vaikeuttaa hoitoa
- Lisää kuolleisuutta, pidentää hoitoaikoja
- Tyypillisiä aiheuttajia
 - *Staphylococcus aureus* (erit. MRSA)
 - *Klebsiella pneumoniae*
 - *Acinetobacter baumannii*
 - *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*



TUTKIMUSHANKKEEN TAVOITTEET

- Kehittää standardoituja ja turvallisia menetelmiä therapeutistien faagituotteiden valmistukseen
 - I. *Yersinia pestis* –bakteeria infektoiville faageille
 - II. Vaikeasti hoidettavia haavainfektioita aiheuttavien bakteerien, erit. *Klebsiella pneumoniae* ja *Acinetobacter baumannii*, faageille
- Testata, miten erilaiset haavanhoidossa käytettävät materiaalit (haavasidokset ja –geelit, bioaktiivinen lasi) toimivat faagien kuljetusvälineenä



KESKEISET YHTEISTYÖTAHOT

European Defence Fund –hanke RESILIENCE

European Strategic Alliance for research, development and innovation on Medical CounterMeasures against CBRN threats

- RA-2023: 1.11.2024 – 31.10.2027
- SP4: PHAGE, 17 organisaatiota 9 EU-maasta

Nina Lindfors, LT, Dos., Inge Salminen (HY, HUS)

- Bioaktiivinen lasi
- Bonalive, Turku





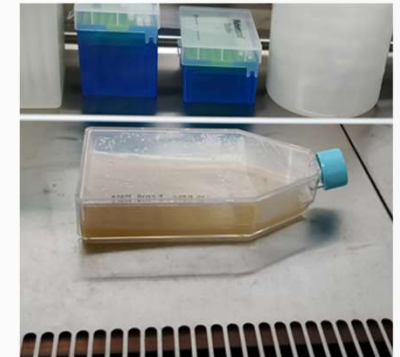
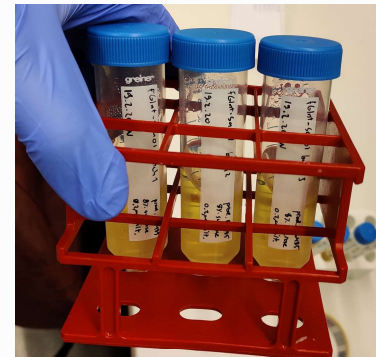
Tuloksia: *Y. pestis* faagien tuotto

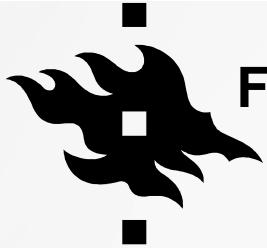
Tavoite: Löytää vaihtoehtoinen tuottobakteeri

- Kolme faagia: Φ A1122, fD1, L-413C
- Tuotto: Heikennetty *Y. pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* ja *Escherichia coli*
- Kasvatus (tuotto) nestemäisessä ja kiinteässä elatusaineessa

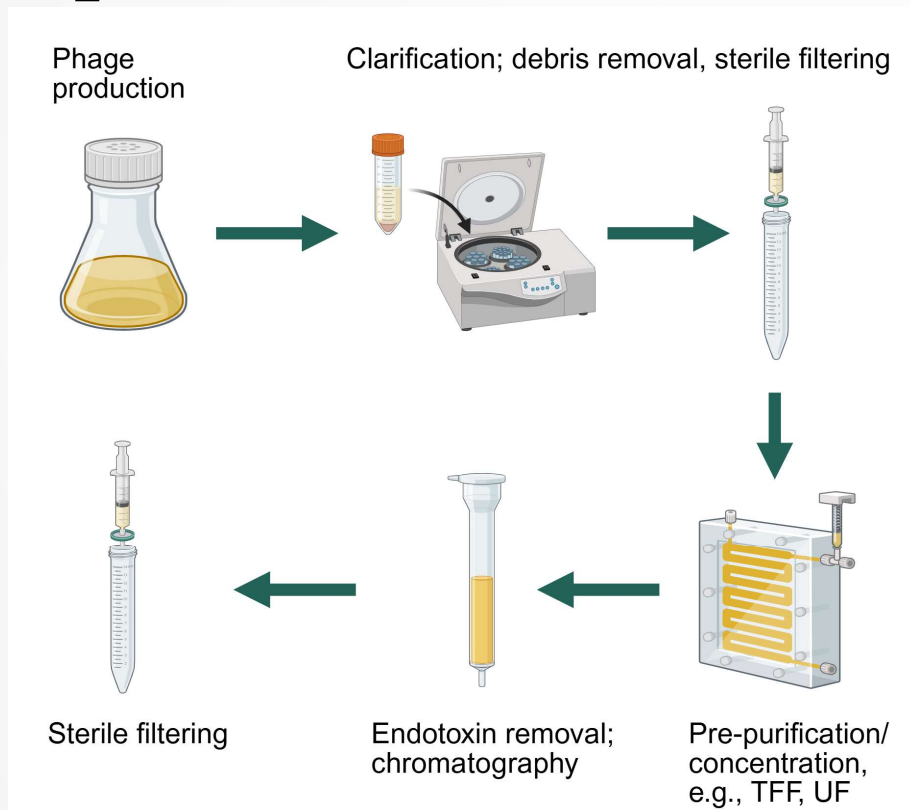
⇒ Jokaiselle faagille tunnistettiin sopiva vaihtoehtoinen tuottobakteeri

⇒ Kiinteä kasvatusalusta hieman parempi kuin nestemäinen





FAAGIEN PUHDISTUS JA LAATUANALYYSI



Faagien puhdistus

- **Tavoite:** Päästä eroon bakteeriperäisistä jäänteistä
- Monivaiheinen prosessi

Laatuanalyysi

- Steriilisyys
- Faagin pitoisuus (elinkyky)
- Endotoksiinipitoisuus – saattaa olla vaikea määrittää faagituotteista



TULOKSIA: PUHDISTUS + ENDOTOKSIININ MITTAUS

- **Haaste endotoksiinin mittauksessa:** Jotkut faagit sitoutuvat liukoiseen endotoksiiniin => tulos saattaa vääristyä
- Ovatko erityyppiset mittauskitit luotettavia faagien kanssa? => testataan 3 kittiä
- Kriteerit:
 - Rinnakkaisnäytteiden keskihajonta (CV)
 - Tunnetun endotoksiinimäärän lisäys – saanto?

=> Kittien välillä eroja

=> **Puhdistusmenetelmä toimii hyvin**; puhdistetun faagituotteen endotoksiinipitoisuus riittävän matala



TULOKSIA: FAAGIT JA BIOAKTIIVINEN LASI

- **Bioaktiivinen lasi S53P4 (Bonalive)**
- Käyttö luun korjauksessa (granula)
- Antibakteerisia ominaisuuksia
- Kolme muotoa: Jauhe, granula, kiekko (scaffold)
- **Tavoite:** Antibakteeristen ominaisuuksien tehostaminen faagien avulla
- **Tulos:** Synergistinen vaikutus *Staphylococcus aureus*- ja *Pseudomonas aeruginosa* –bakteereja infektoivien faagien kanssa
- **Jatkossa:** *Klebsiella pneumoniae*- ja *Acinetobacter baumannii* –spesifisten faagien testaus



TULOSTEN JATKOKÄYTTÖ JA HYÖDYNTÄMINEN

Faagien tuotto- puhdistus- ja QC-menetelmät

- Avoin julkaiseminen => kaikki faagituotteita valmistavat tahot voivat hyödyntää
- *Yersinia pestis* –faagit: Uusi EU-hakemus valmisteilla jatkokäytöstä

Faagien kuljetusmateriaalit

- Avoin julkaiseminen => laaja mahdollisuus hyödyntämiseen
- Materiaalien tuottajat saavat näkyvyyttä ja uusia käyttösovelluksia

Faagihoito yleensä

- Käyttö mahdollista “viimeisenä keinona” Helsingin julistuksen pohjalta
- European pharmacopoeia (07/2025): Yleinen ohjeistus faagituotteiden valmistamisesta
- European Medicines Agency (EMA) valmistelee sitovia ohjeita myyntiluvallisten faagituotteiden valmistukseen



KIITOS

Faagihoito-tutkimusryhmä, Helsingin yliopisto

Henni Tuomala, Sheetal Patpatia, Kira Ranta, Hanna Tiainen, Inge Salminen, Soile Pyykkö, Jasu Nyrövaara, James Kirk

Nina Lindfors (HY/HUS)

Bonalive

RESILIENCE PHAGE consortium



Funded by the
European Union



Puolustusministeriö
Försvarsministeriet
Ministry of Defence



Research Council
of Finland



HUS & HELSINGIN YLIOPISTO YHTEISTYÖSSÄ
HUS & HELSINGFORS UNIVERSITET I SAMARBETE
A COLLABORATION BETWEEN HUS & UNIVERSITY OF HELSINKI