



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



**Národní
plán
obnovy**

Příprava studijních materiálů studijního programu „Veterinární virologie“

Bakteriofágy v terapii bakteriálních infekcí ve vědě a výzkumu Bakteriofágy v terapii bakteriálních infekcí ve vědě a výzkumu

Doktorský studijní program Veterinární virologie

Fakulta veterinárního lékařství

Veterinární univerzita Brno

Vytvoření doktorského studijního programu „Veterinární virologie“ na Veterinární univerzitě Brno

Specifický cíl B: Tvorba nových studijních programů v progresivních oborech

Projekt NPO registrační číslo NPO_VETUNI_MSMT-16594/2022

Výstup č. 2, vazba na cíl projektu č. 2, volitelný indikátor U3



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Bakteriofágy v terapii bakteriálních infekcí ve vědě a výzkumu

Alois Čížek



Osnova prezentace

Terminologie

Charakteristika bakteriofágů

Životní cyklus bakteriofágů

Historie využití bakteriofágů k terapii

Kroky přípravy fágových suspenzí pro terapii

Kombinace antibiotické a fágové terapie



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

**MS
MT**
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Termín bakteriofág

Bakteriofág, také nazývaný fág nebo bakteriální virus, jakýkoli ze skupiny virů, které infikují bakterie

Bakteriofágy nezávisle na sobě objevili Frederick W. Twort ve Velké Británii (1915) a Félix d'Hérelle ve Francii (1917)

D'Hérelle vytvořil termín bakteriofág, což znamená „požírač bakterií“, aby popsal baktericidní schopnost agens

Bakteriofágy vedle bakterií infikují také jednobuněčné prokaryotické organismy známé jako archaea



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Charakteristika bakteriofágů

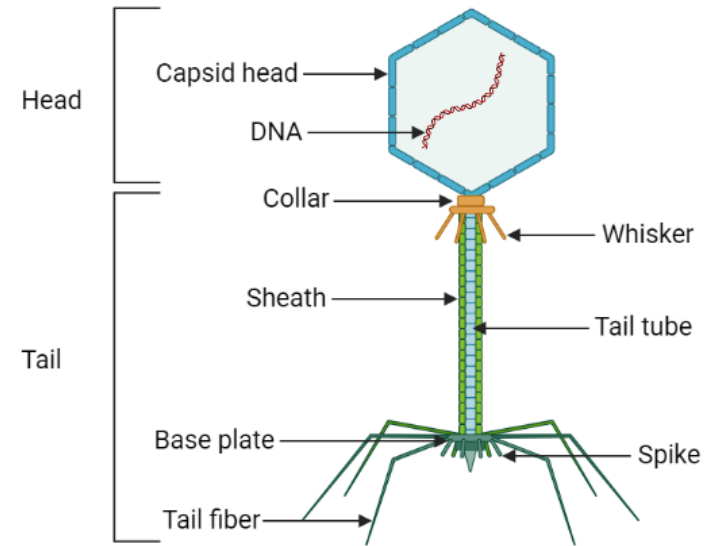
Existují tisíce druhů fágů, z nichž každý může infikovat pouze jeden typ nebo několik typů bakterií nebo archebakterií

Fágy jsou klasifikovány do čeledí virů; např. Inoviridae, Microviridae, Rudiviridae a Tectiviridae

Jako všechny viry jsou fágy jednoduché organismy, které se skládají z genetického materiálu (nukleové kyseliny) obklopeného proteinovou kapsidou

Nukleová kyselina může být buď DNA nebo RNA a může být dvouvláknová nebo jedno vláknová

Existují tři základní strukturální formy fága: ikosaedrická (20stranná) s bičíkem, ikosaedrická bez bičíku a vláknitá forma



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Životní cyklus bakteriofágů

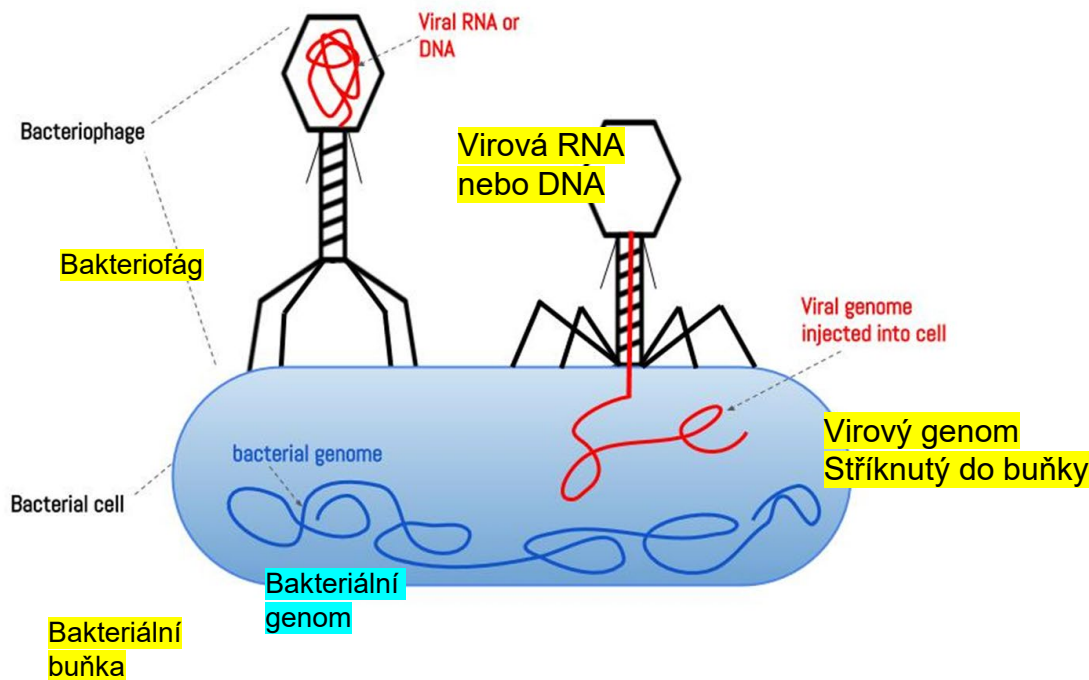


Diagram ukazuje, jak fág infikuje bakteriální buňku. Jakmile fág infikuje bakterii, převezme její buněčný aparát, aby zastavil svůj obranný mechanismus a syntetizoval nové fágové částice. Počet syntetizovaných fágových částic nakonec dosáhne bodu, kdy roztrhnou bakteriální buňku, což jim umožní uvolnit se do prostředí a infikovat nového hostitele.



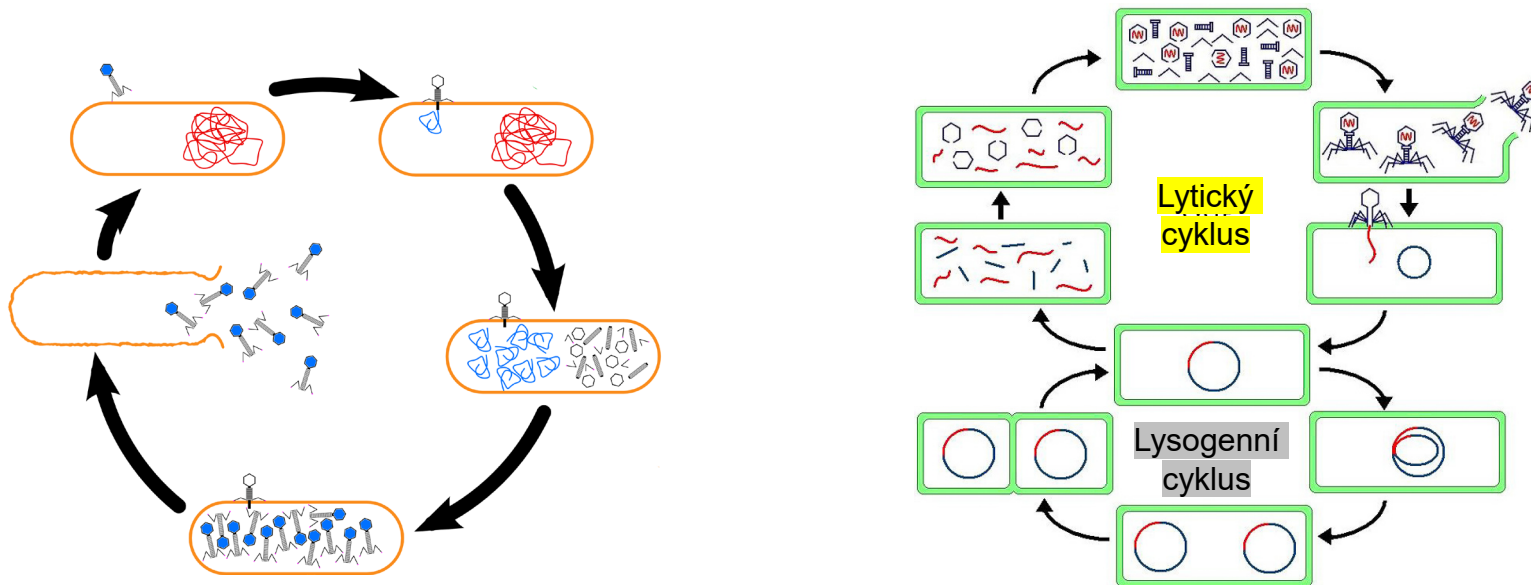
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Životní cyklus bakteriofágů



Během infekce se fág naváže na bakterii a vloží její genetický materiál do buňky. Poté fág obvykle následuje jeden ze dvou životních cyklů, lytický (virulentní) nebo lysogenní (mírný). Lytické fágy přebírají mašinerii buňky, aby vytvořily fágové komponenty. Poté rozruší hostitelskou buňku a uvolní nové fágové částice. Lysogenní fágy inkorporují svou nukleovou kyselinu do chromozomu hostitelské buňky a replikují se s ním jako s jednotkou, aniž by buňku zničily. Za určitých podmínek mohou být lysogenní fágy indukovány, aby následovaly lytický cyklus.



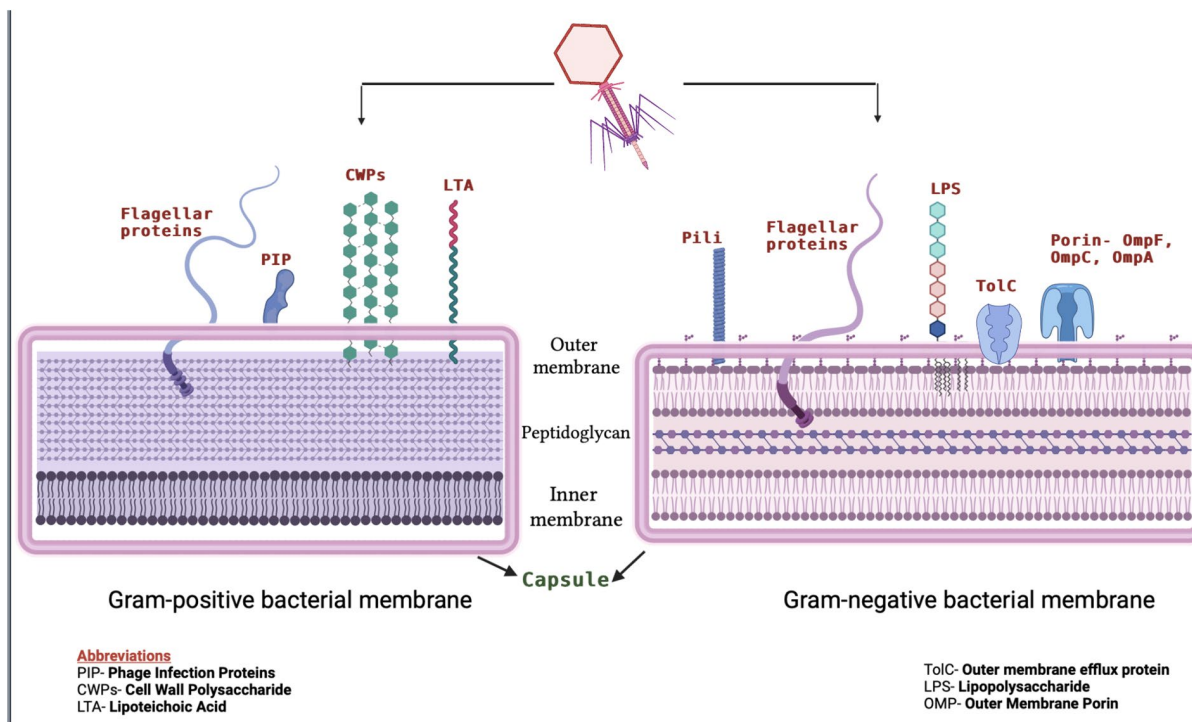
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Schematické znázornění bakteriofágových receptorů na povrchu Gram-positivních (vlevo) a Gram-negativních (vpravo) bakterií. Na obrázku jsou znázorněny virulentní složky spojené s povrchem buněk grampozitivních a gramnegativních bakterií, které slouží jako fágové receptory. Vlevo jsou znázorněny receptory pro grampozitivní bakterie, které zahrnují povrchově exponovanou LTA (kyselina lipoteichoová), PIP (proteiny fágové infekce) a CWPS (polysacharid buněčné stěny). LPS (lipopolysacharid) a CPS (kapsulární polysacharid) jsou dva povrchově asociované glykopolyмеры, které Gram-negativní bakterie (zobrazeno vpravo) mají jako některé ze svých primárních receptorů pro fágy. Bylo také objeveno, že řada proteinů vnější membrány, včetně porinů-OmpC, OmpF a TolC, slouží jako sekundární receptor pro fágy *Escherichia*, *Salmonella* a *Vibrio*.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Definice

Fágová terapie zahrnuje použití virů, které napadají bakterie k léčbě patogenních bakteriálních infekcí. Výhodou takových virů, známých jako bakteriofágy nebo fágy, je to, že se selektivně zaměřují na určité bakterie a ničí je, aniž by poškodily hostitelský organismus nebo jiné prospěšné bakterie, jako je střevní flóra, čímž se minimalizuje možnost komplikací. Většina terapií využívá lytické fágy, které převezmou mašinerii bakteriální buňky a následně buňku zničí.



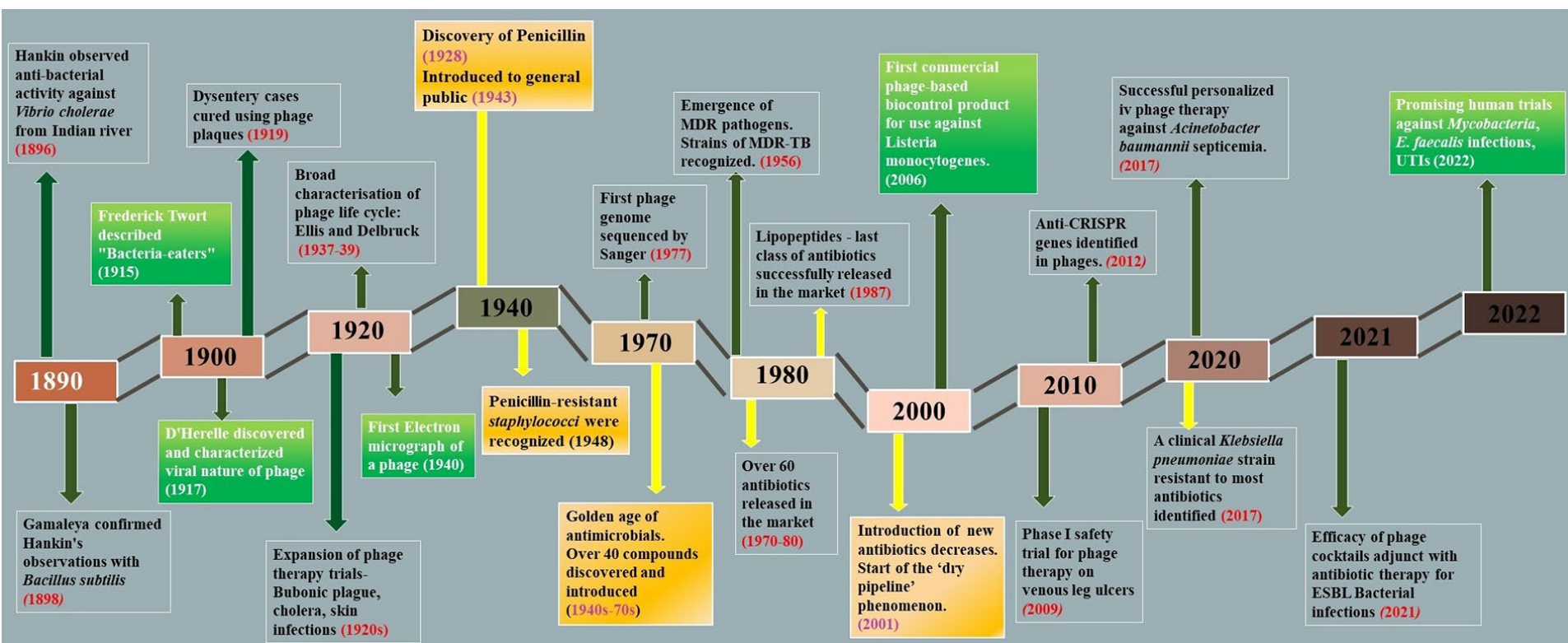
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Obrázek 1: Časová osa pozoruhodného vývoje v historii výzkumu fágů a fágové terapie. V rámečcích jsou znázorněny důležité milníky v oblasti výzkumu fágů a fágové terapie. Vysoké a nízké hodnoty v časové ose představují nárůst a pokles zájmu výzkumu o fágovou terapii. (BIOCELL 2023, 47(9), 1915-1930)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



K. pneumoniae značně odolná vůči lékům
testovaný s různými antibiotickými disky.
Plaky jsou z lysogenních fágů.

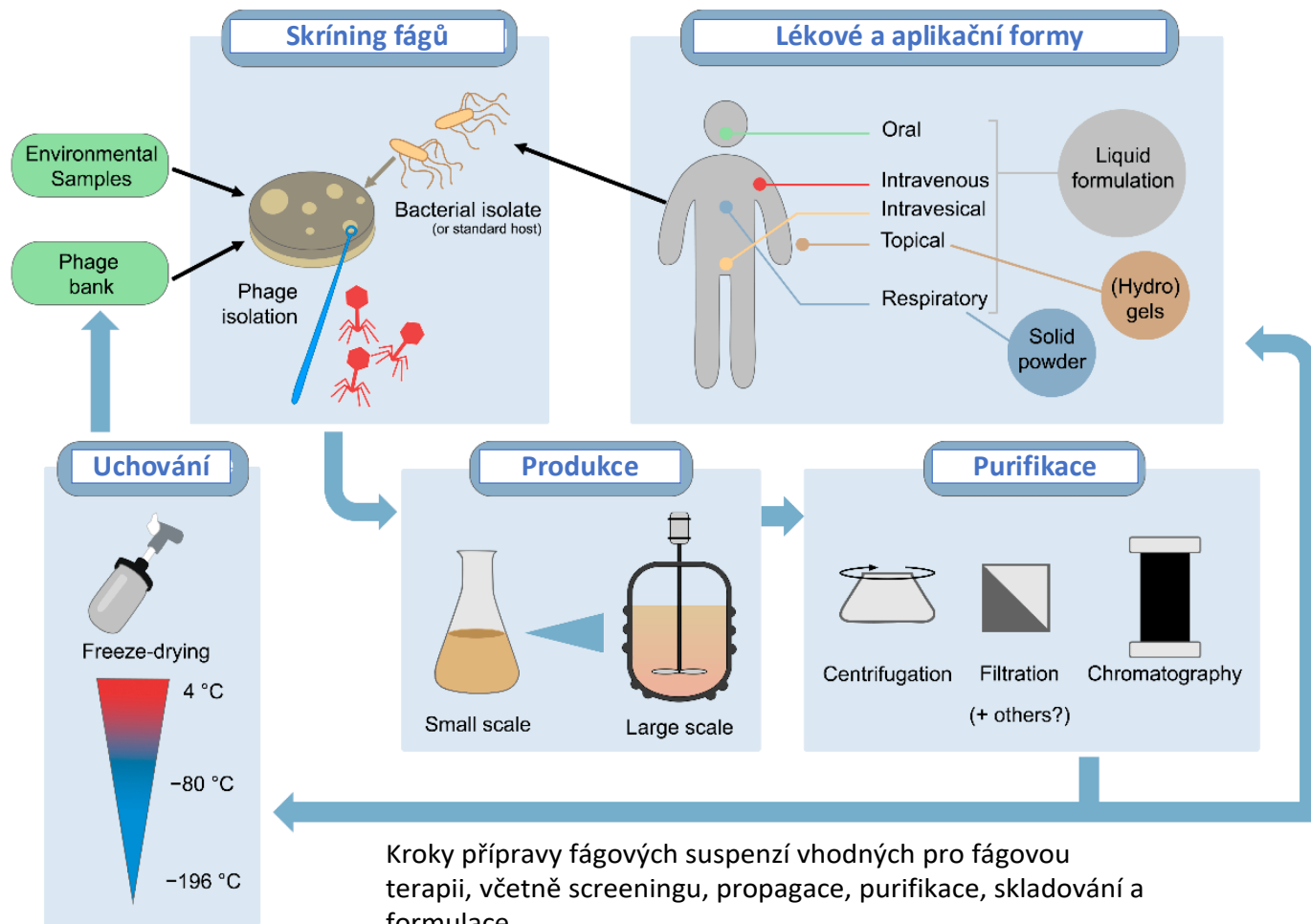


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

**MS
MT**
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

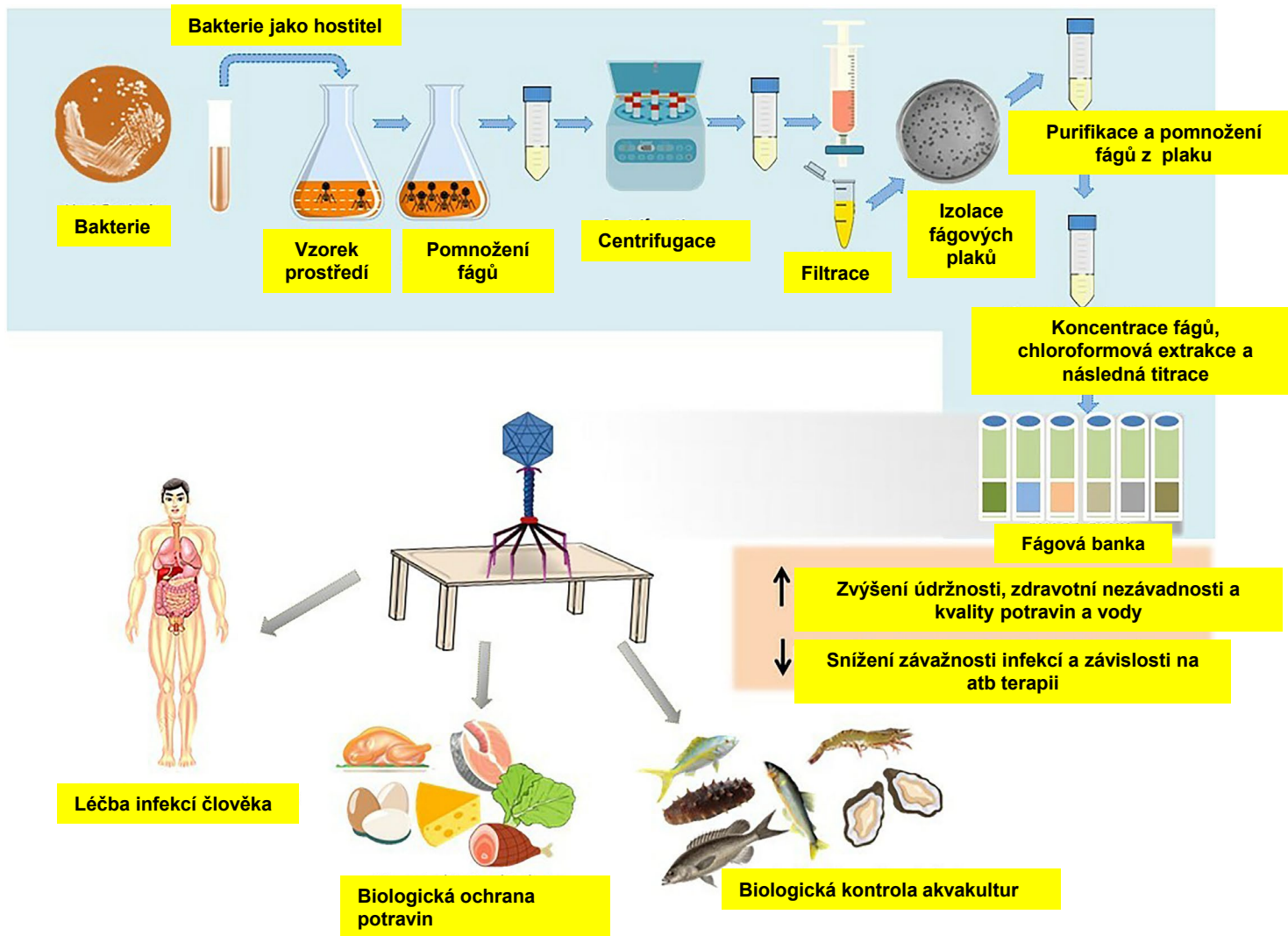


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



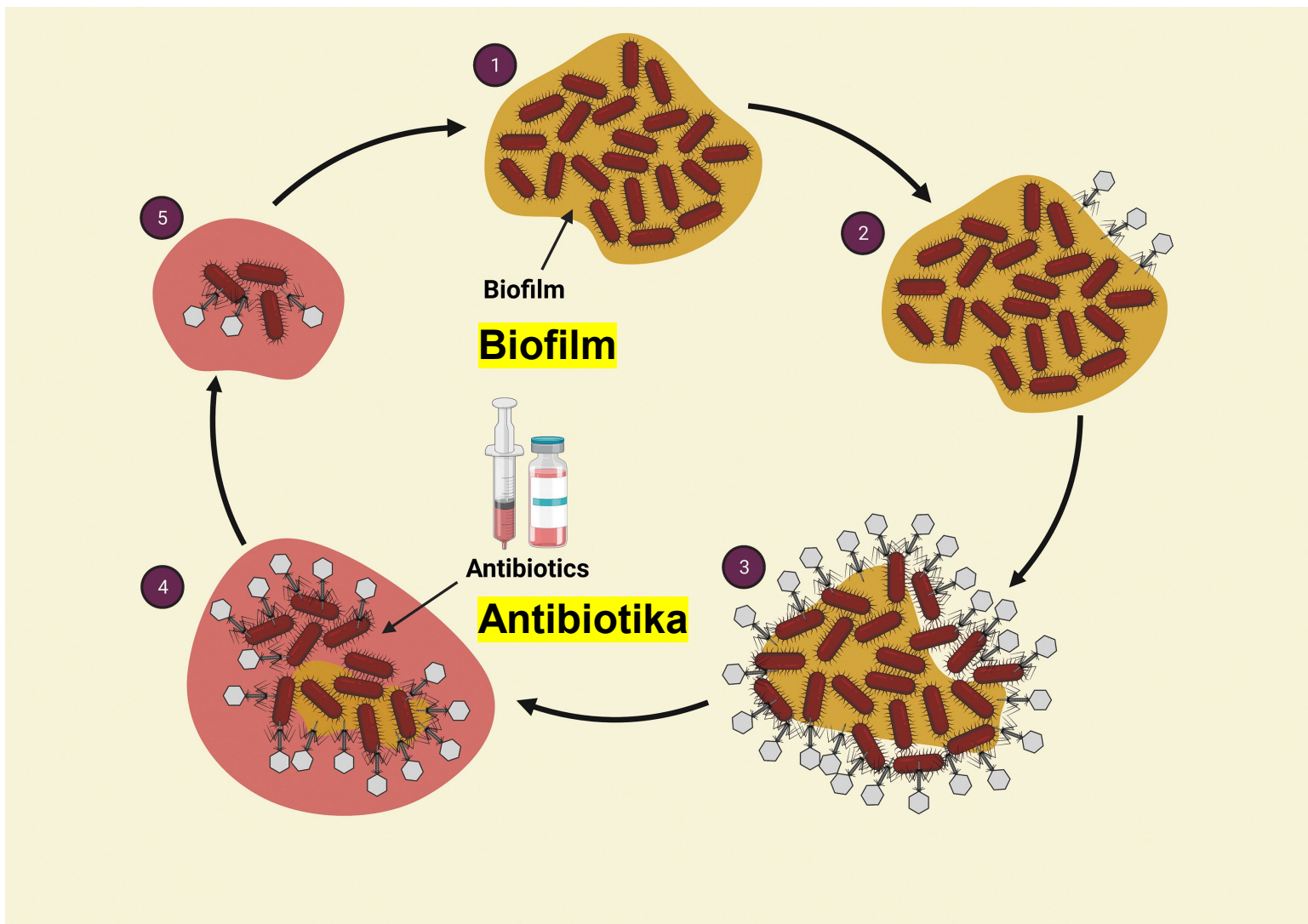
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Kombinace fágové a antibiotické terapie

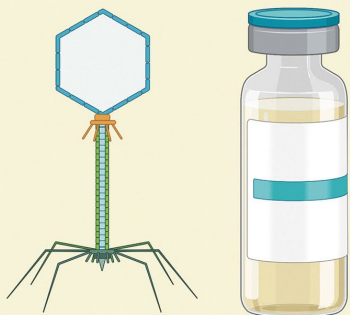


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

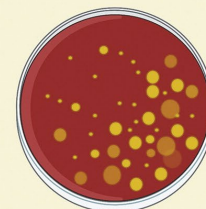
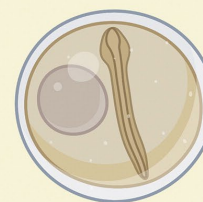
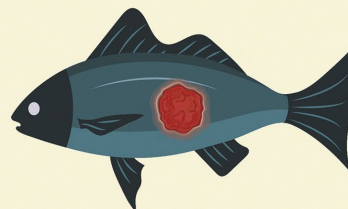
MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



Kombinace
antibiotika a
bakteriofágů...



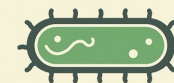
Využití kombinace *in vitro* a *in vivo*



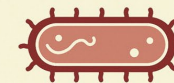
Antibiotická
rezistence



Antibiotická
citlivost....



Fágová
rezistence....



Fágová
citlivost....

- Tested in varying concentration (sub-MIC, MIC, >MIC) and order of treatment (simultaneous & sequential)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Porovnání antibiotické a fágové terapie

Rezistence

Antibiotická rezistence je stále častější kvůli nadužívání širokospektrých antibiotik.

Fágová rezistence je neobvyklá a lze ji obejít použitím koktejlu různých fágů.

Vývoj

Vývoj nového antibiotika může trvat několik let.

Získávání nových fágů může být provedeno během několika dnů nebo týdnů.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Bakteriofágy v terapii bakteriálních infekcí ve vědě a výzkumu

Alois Čížek

Ústav infekčních chorob a mikrobiologie
Fakulta veterinárního lékařství
VETUNI



Osnova prezentace

Terminologie

Charakteristika bakteriofágů

Životní cyklus bakteriofágů

Historie využití bakteriofágů k terapii

Kroky přípravy fágových suspenzí pro terapii

Kombinace antibiotické a fágové terapie



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

**MS
MT**
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Termín bakteriofág

Bakteriofág, také nazývaný fág nebo bakteriální virus, jakýkoli ze skupiny virů, které infikují bakterie

Bakteriofágy nezávisle na sobě objevili Frederick W. Twort ve Velké Británii (1915) a Félix d'Hérelle ve Francii (1917)

D'Hérelle vytvořil termín bakteriofág, což znamená „požírač bakterií“, aby popsal baktericidní schopnost agens

Bakteriofágy vedle bakterií infikují také jednobuněčné prokaryotické organismy známé jako archaea



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Charakteristika bakteriofágů

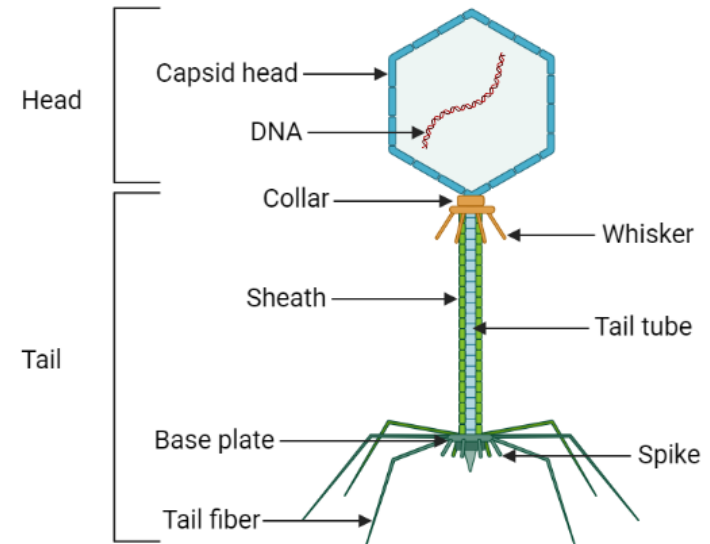
Existují tisíce druhů fágů, z nichž každý může infikovat pouze jeden typ nebo několik typů bakterií nebo archebakterií

Fágy jsou klasifikovány do čeledí virů; např. Inoviridae, Microviridae, Rudiviridae a Tectiviridae

Jako všechny viry jsou fágy jednoduché organismy, které se skládají z genetického materiálu (nukleové kyseliny) obklopeného proteinovou kapsidou

Nukleová kyselina může být buď DNA nebo RNA a může být dvouvláknová nebo jedno vláknová

Existují tři základní strukturální formy fága: ikosaedrická (20stranná) s bičíkem, ikosaedrická bez bičíku a vláknitá forma



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Životní cyklus bakteriofágů

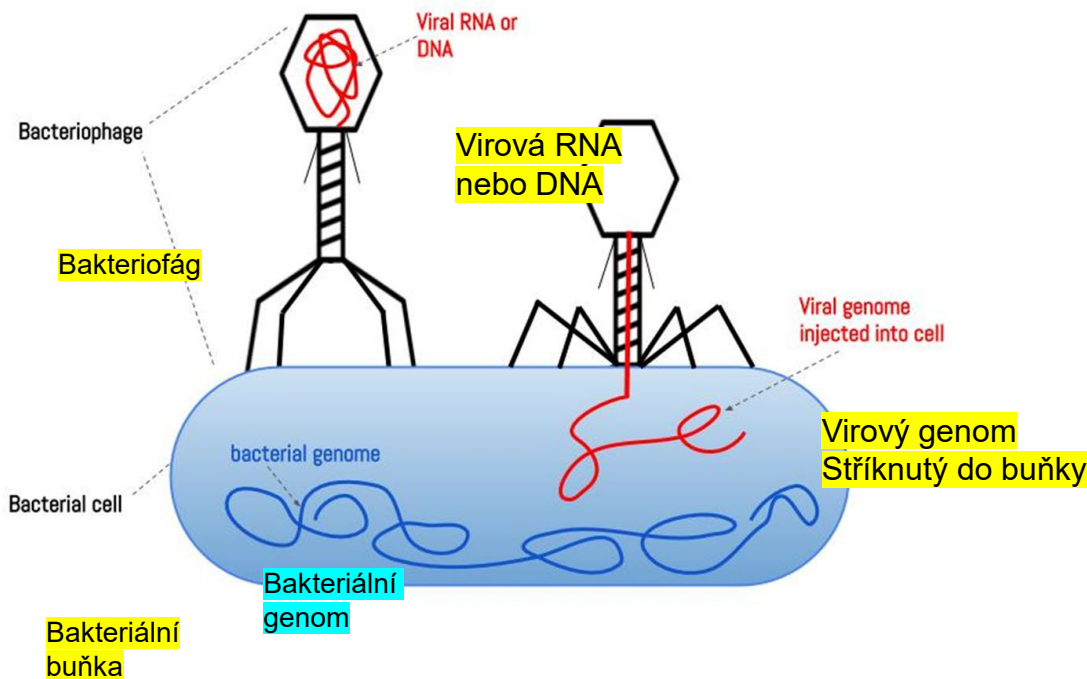


Diagram ukazuje, jak fág infikuje bakteriální buňku. Jakmile fág infikuje bakterii, převezme její buněčný aparát, aby zastavil svůj obranný mechanismus a syntetizoval nové fágové částice. Počet syntetizovaných fágových částic nakonec dosáhne bodu, kdy roztrhnou bakteriální buňku, což jim umožní uvolnit se do prostředí a infikovat nového hostitele.



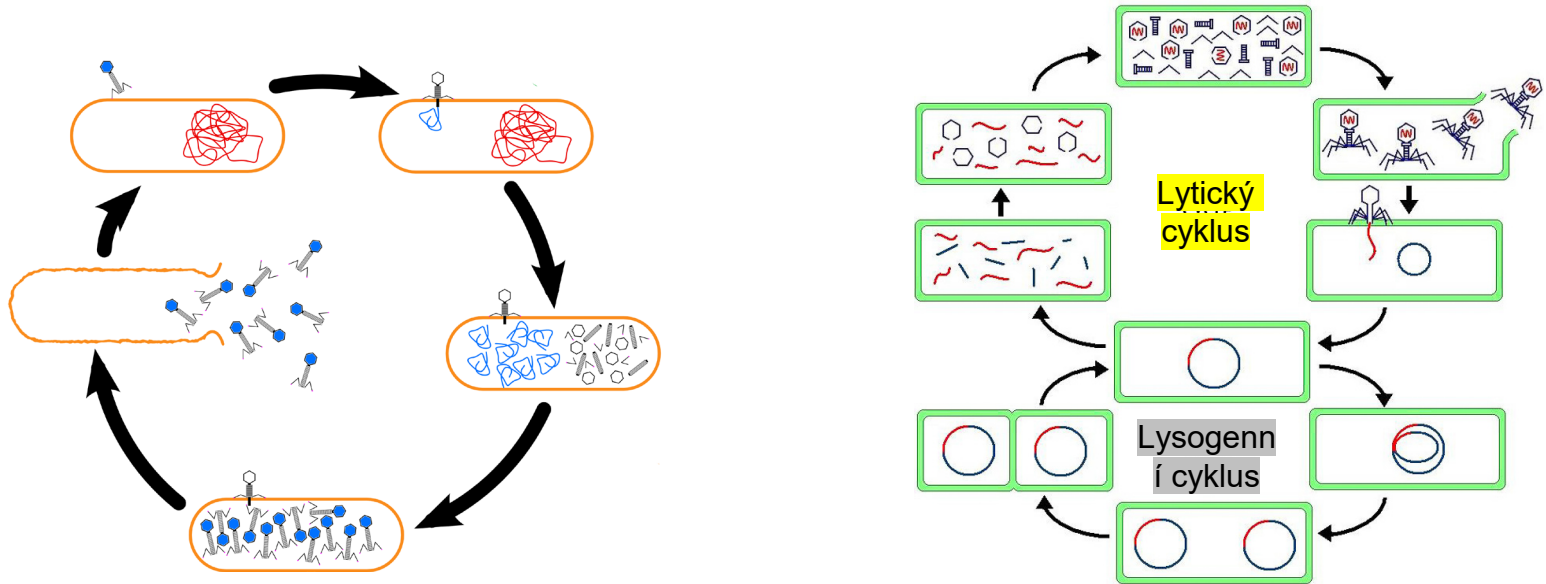
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Životní cyklus bakteriofágů



Během infekce se fág naváže na bakterii a vloží její genetický materiál do buňky. Poté fág obvykle následuje jeden ze dvou životních cyklů, lytický (virulentní) nebo lysogenní (mírný). Lytické fágy přebírají mašinerii buňky, aby vytvořily fágové komponenty. Poté rozruší hostitelskou buňku a uvolní nové fágové částice. Lysogenní fágy inkorporují svou nukleovou kyselinu do chromozomu hostitelské buňky a replikují se s ním jako s jednotkou, aniž by buňku zničily. Za určitých podmínek mohou být lysogenní fágy indukovány, aby následovaly lytický cyklus.



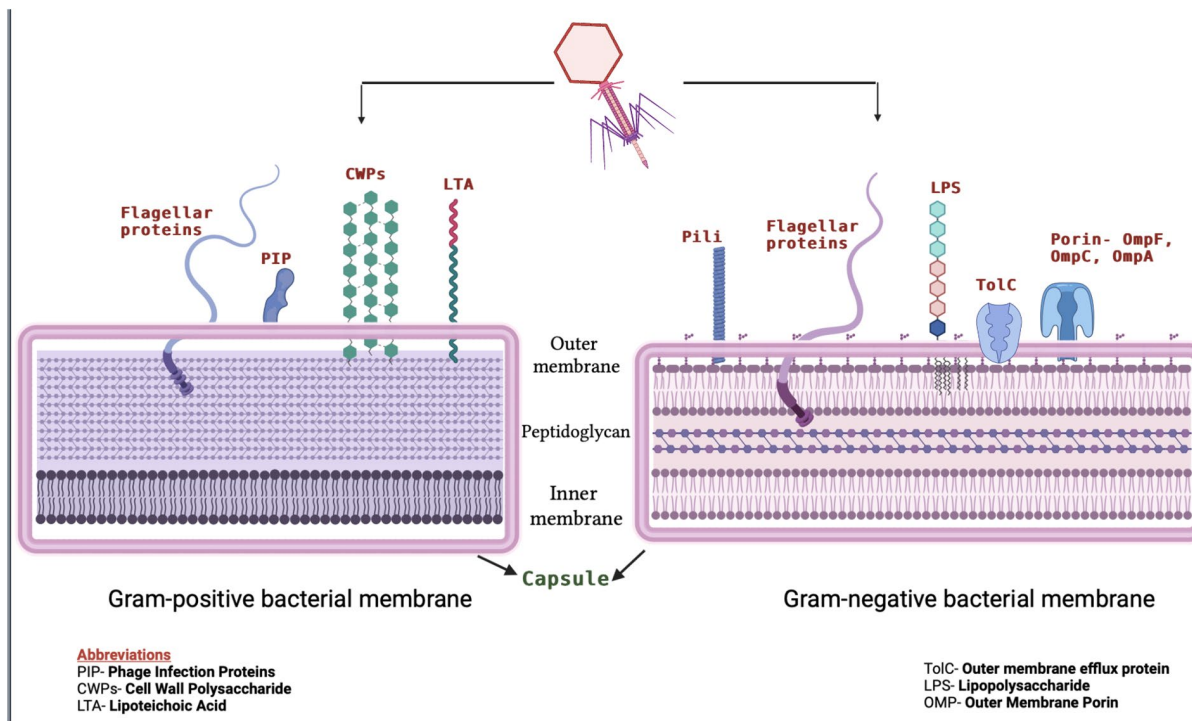
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Schematické znázornění bakteriofágových receptorů na povrchu Gram-positivních (vlevo) a Gram-negativních (vpravo) bakterií. Na obrázku jsou znázorněny virulentní složky spojené s povrchem buněk grampozitivních a gramnegativních bakterií, které slouží jako fágové receptory. Vlevo jsou znázorněny receptory pro grampozitivní bakterie, které zahrnují povrchově exponovanou LTA (kyselina lipoteichoová), PIP (proteiny fágové infekce) a CWPS (polysacharid buněčné stěny). LPS (lipopolysacharid) a CPS (kapsulární polysacharid) jsou dva povrchově asociované glykopolyмеры, které Gram-negativní bakterie (zobrazeno vpravo) mají jako některé ze svých primárních receptorů pro fágy. Bylo také objeveno, že řada proteinů vnější membrány, včetně porinů-OmpC, OmpF a TolC, slouží jako sekundární receptor pro fágy *Escherichia*, *Salmonella* a *Vibrio*.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Definice

Fágová terapie zahrnuje použití virů, které napadají bakterie k léčbě patogenních bakteriálních infekcí. Výhodou takových virů, známých jako bakteriofágy nebo fágy, je to, že se selektivně zaměřují na určité bakterie a ničí je, aniž by poškodily hostitelský organismus nebo jiné prospěšné bakterie, jako je střevní flóra, čímž se minimalizuje možnost komplikací. Většina terapií využívá lytické fágy, které převz mou mašinérii bakteriální buňky a následně buňku zničí.



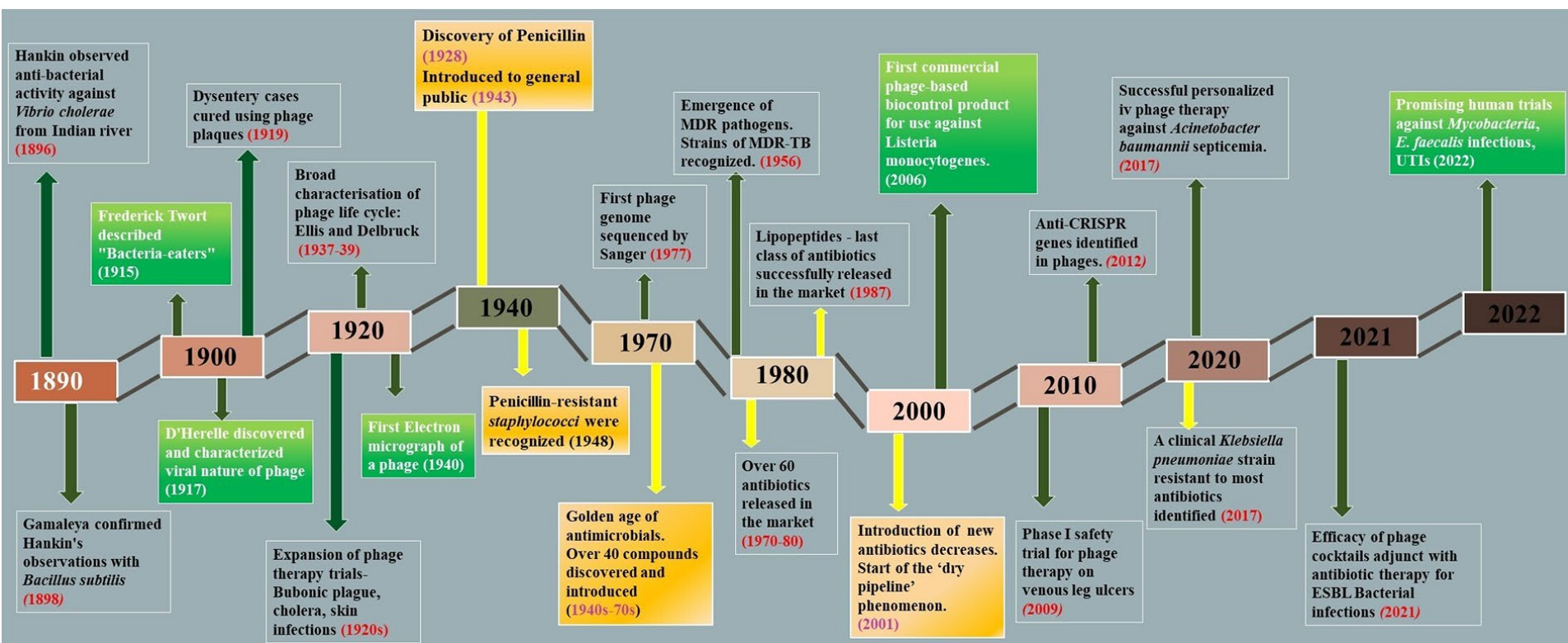
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠ
MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Obrázek 1: Časová osa pozoruhodného vývoje v historii výzkumu fágů a fágové terapie. V rámečcích jsou znázorněny důležité milníky v oblasti výzkumu fágů a fágové terapie. Vysoké a nízké hodnoty v časové ose představují nárůst a pokles zájmu výzkumu o fágovou terapii. (BIOCELL 2023, 47(9), 1915-1930)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



K. pneumoniae značně odolná vůči lékům
testovaný s různými antibiotickými disky.
Plaky jsou z lysogenních fágů.

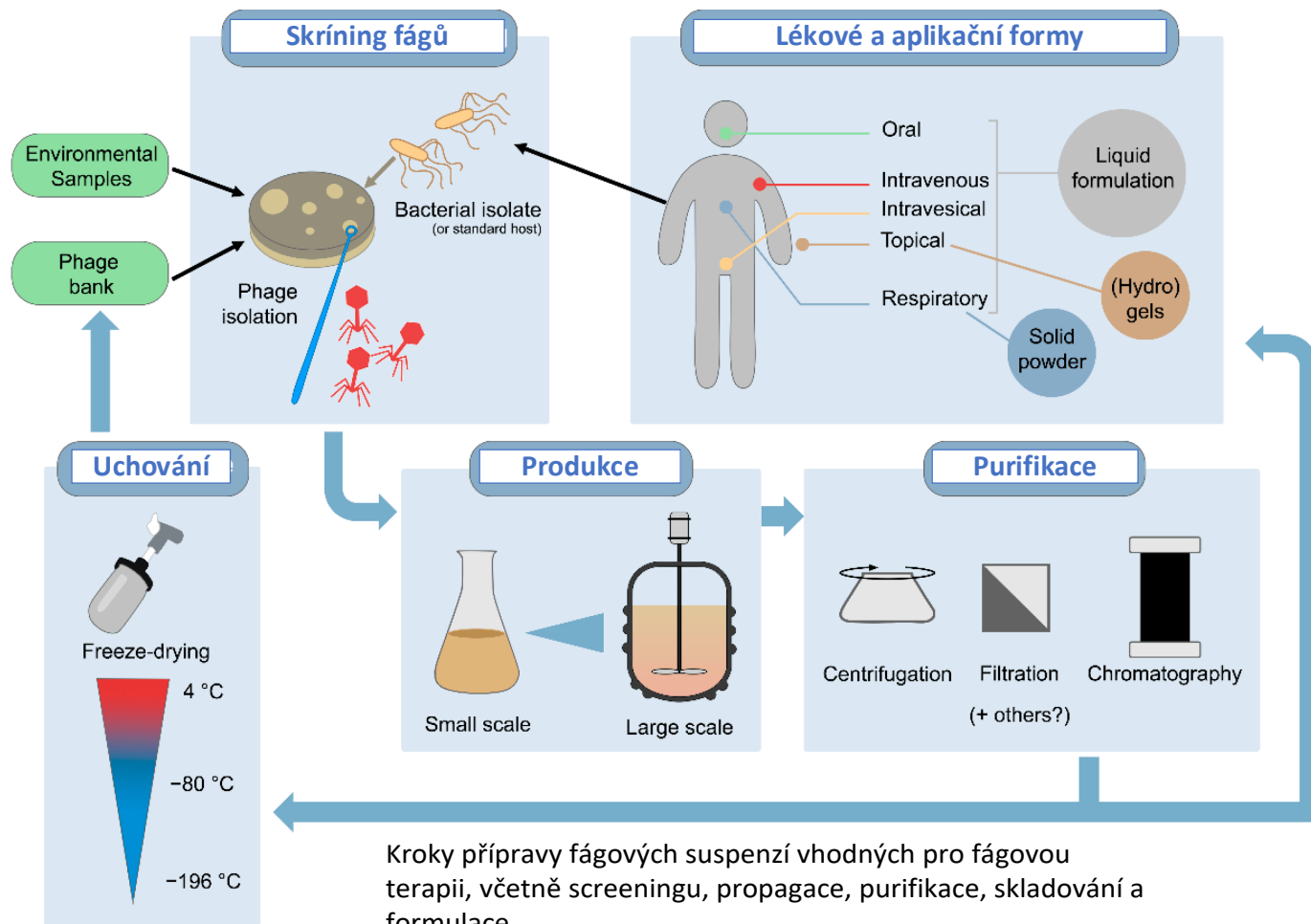


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

**MS
MT**
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

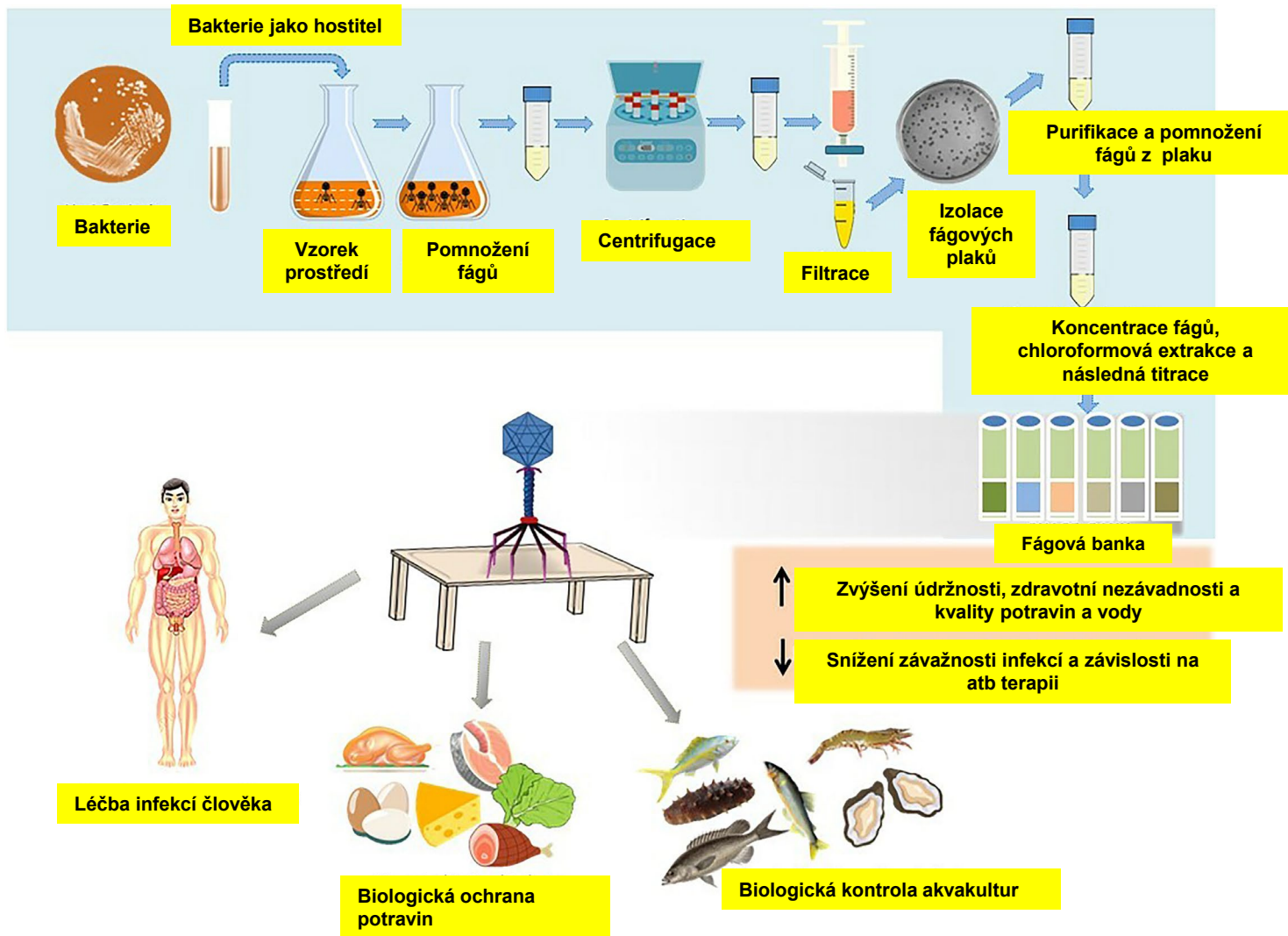


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



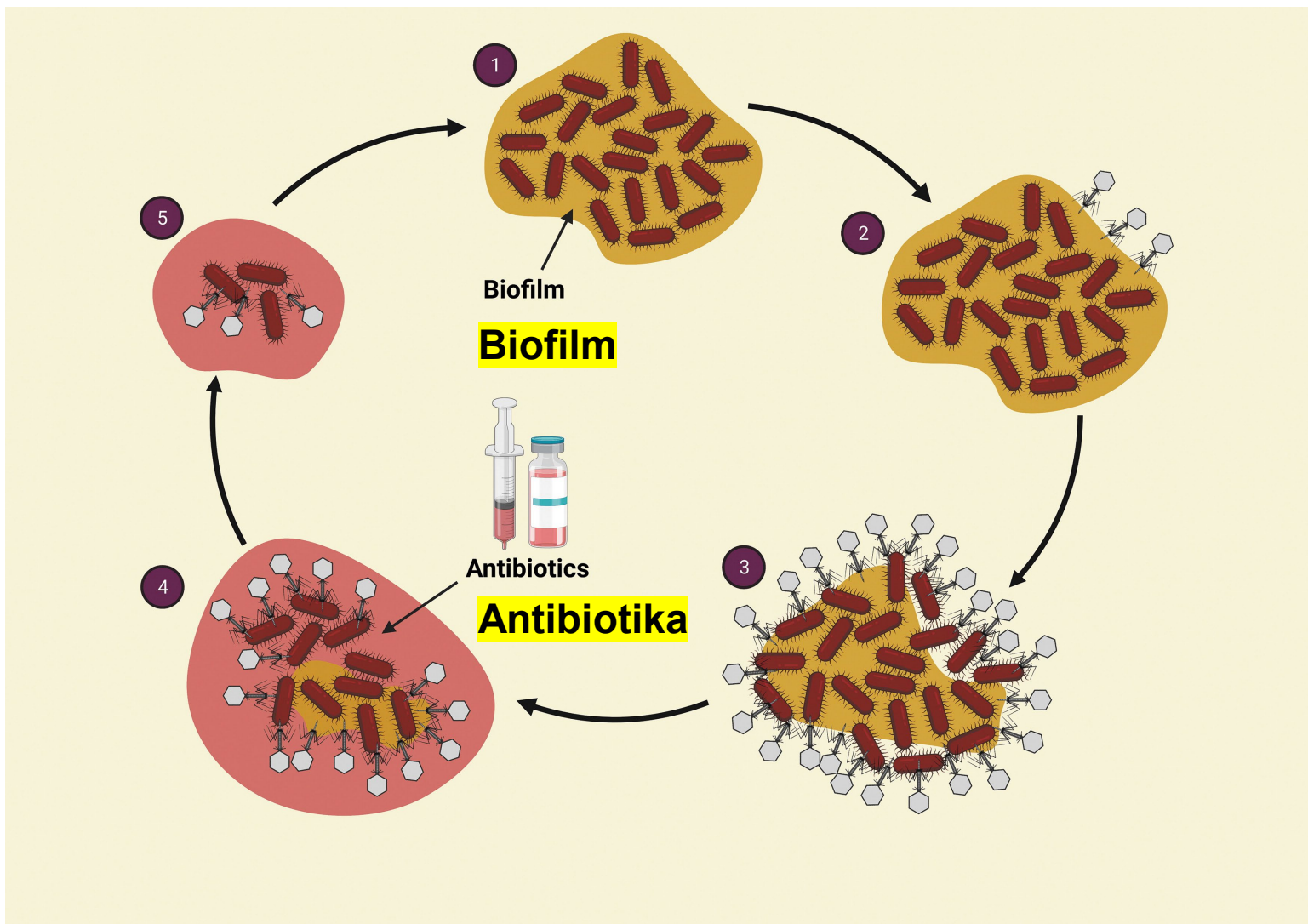
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Kombinace fágové a antibiotické terapie

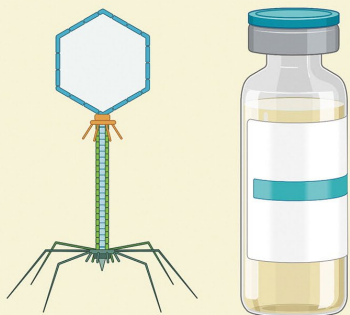


Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

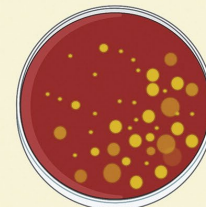
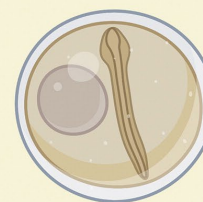
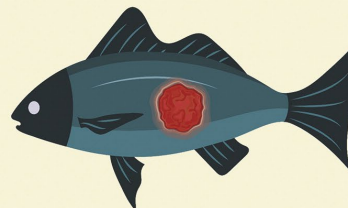
MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy



Kombinace
antibiotika a
bakteriofágů...



Využití kombinace *in vitro* a *in vivo*



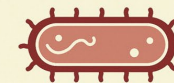
Antibiotická
rezistence



Antibiotická
citlivost....



Fágová
rezistence....



Fágová
citlivost....

- Tested in varying concentration (sub-MIC, MIC, >MIC) and order of treatment (simultaneous & sequential)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Porovnání antibiotické a fágové terapie

Rezistence

Antibiotická rezistence je stále častější kvůli nadužívání širokospektrých antibiotik.

Fágová rezistence je neobvyklá a lze ji obejít použitím koktejlu různých fágů.

Vývoj

Vývoj nového antibiotika může trvat několik let.

Získávání nových fágů může být provedeno během několika dnů nebo týdnů.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy