

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Využití fágové terapie v humánní medicíně

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Markéta Vajglová**
Osobní číslo: **C21239**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Využití fágové terapie v humánní medicíně**
Téma práce anglicky: **Bacteriophage Therapy in Human Medicine**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na fágovou terapii.
2. V úvodu práce se zaměřte na popis bakteriofágů, jejich obecnou charakteristiku a historické využití bakteriofágů.
3. Z odborných studií uveďte konkrétní příklady využití bakteriofágů v humánní medicíně.
4. Dále se ve studiích zaměřte na dosažené výsledky při použití bakteriofágů a jejich hodnocení příp. budoucnost jejich využití.
5. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 ve znění dodatku č. 2 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Petra Motková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Využití fágové terapie v humánní medicíně jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24.6.2024

Markéta Vajgllová

Poděkování

Chtěla bych poděkovat paní Ing. Petře Motřkové, PhD. za odborné vedení mé bakalářské práce a cenné rady, které mi pomohly tuto práci zkompletovat.

Anotace

Bakalářská práce se zaměřuje na využití a účinky fágové terapie v humánní medicíně. V této bakalářské práci je popsána morfologie bakteriofágů a jejich taxonomické rozdělení. Jsou zde popsány rizika a výhody fágové terapie a její účinky na imunitní systém. Práce obsahuje výsledky několika výzkumů hodnotících účinky fágové terapie při léčbě bakteriálních infekcí.

Klíčová slova

Bakteriofág, fágová terapie, bakteriální infekce, rezistence na antibiotika, fágový koktejl, fágový lyzát, biofilm

Title

Bacteriophage therapy in human medicine

Annotation

The bachelor thesis is focused on the use and effects of phage therapy in human medicine. This bachelor thesis describes the morphology of bacteriophages and their taxonomic distribution. The risks and benefits of phage therapy and its effects on the immune system are described. The thesis contains the results of several studies investigating the effects of phage therapy in the treatment of bacterial infections.

Key words

Bacteriophage, phage therapy, bacterial infection, antibiotic resistance, phage cocktail, phage lysate, biofilm

Obsah

Seznam ilustrací a tabulek	9
Úvod	11
1 Obecná charakteristika bakteriofágů	12
1.1 Objevení bakteriofágů	12
1.2 Morfologie bakteriofágů	13
1.3 Taxonomické rozdělení.....	14
2 Fágová terapie	15
2.1 Historie fágové terapie.....	16
2.2 Studie fágové terapie na zvířecích modelech.....	16
2.3 Rizika a výhody fágové terapie	18
2.3.1 Vliv fágů na imunitní systém.....	19
2.4 Izolace bakteriofágů pro fágovou terapii	20
2.4.1 Metody fágové izolace.....	21
2.5 Lytický cyklus	22
2.6 Lyzogenní cyklus	23
2.6.1 Terapie fágovým lyzátem	23
2.7 Lékařské a klinické výzkumy	24
2.7.1 Plicní infekce	24
2.7.2 Infekce gastrointestinálního traktu.....	25
2.7.3 Infekce ran	27
2.7.4 Infekce spojené se zdravotnickou péčí	28
2.8 Moderní přístupy k fágové terapii	28
2.8.1 Fágové proteiny	29
2.8.2 Fágy kombinované s antibiotiky	29
2.9 Aplikace bakteriofágových terapeutik	29
2.9.1 Fágový displej	30
2.9.2 Využití fágové terapie v onkologii.....	30
2.9.3 Využití fágové terapie k odstranění biofilmu tvořeného <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a metilicilin rezistentním <i>Staphylococcus aureus</i>	32

2.9.4 Využití fágové terapie při léčbě prostatitidy	33
2.9.5 Využití fágové terapie k léčbě infekce močových cest	34
2.9.6 Využití fágové terapie k léčbě salmonelózy	35
2.9.7 Léčba infekce rohovky pomocí bakteriofágů	36
2.9.8 Využití fágové terapie při léčbě zápalu plic.....	37
2.9.9 Využití fágové terapie v zubním lékařství	37
2.9.10 Využití fágové terapie při léčbě meningitidy	39
2.9.11 Využití fágové terapie pro léčbu mykobakteriálních infekcí	40
2.9.12 Využití fágové terapie při léčbě akné.....	41
2.9.13 Využití fágové terapie při léčbě bakteriální vaginózy.....	42
Závěr.....	43
Seznam použité literatury.....	44
Zdroje obrázků	60

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1: Bakteriofág (upraveno dle Leiman <i>et al.</i> , 2003)	14
Obrázek 2: Hodnocení lyze metodou dvouvrstevného agaru (Dvořáčková a kol., 2020)	27

Seznam použitých zkratek

<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
CBD	C-terminální buněčno-stěnová vazebná doména
CBP	chronická bakteriální prostatitida
CRP	C-reaktivní protein
DNA	deoxyribonukleová kyselina
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAD	N-terminální enzymová aktivní doména
ECM	extracelulární matrix
ESBL	širokospektré betalaktamázy
GIT	gastrointestinální trakt
HAI	Healthcare Associated Infection
HCC	hepatocelulární karcinom
ICTV	Mezinárodní výbor pro taxonomii virů
IG	imunoglobulin
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MRSA	meticilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
NF-KB	nukleární transkripční faktor kappa B
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PCN	perkutánní nefrostomie
PCR	polymerázová řetězová reakce
PFU	plaková tvořící jednotka
RNA	ribonukleová kyselina
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
spp.	druhy (species)
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
VRSA	vankomycin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>

Úvod

Fágová terapie je metoda léčby infekčních onemocnění způsobených bakteriemi, která využívá bakteriofágy, což jsou viry napadající bakterie. Fágová terapie má dlouhou historii sahající až do počátku 20. století. V té době byla používána k léčbě široké škály infekčních onemocnění, včetně zápalu plic, meningitidy a kožních infekcí. Popularita fágové terapie však v důsledku rozvoje antibiotik poklesla.

V posledních letech však zájem o fágovou terapii znovu vzrůstá. Důvodem je narůstající rezistence bakterií vůči antibiotikům. Antibiotika jsou jedny z nejdůležitějších léků používaných v humánní medicíně. Zachránily miliony životů a umožnily léčbu široké škály infekčních onemocnění. Nicméně nevhodné používání antibiotik a nadměrné používání v zemědělství vedly k tomu, že se bakterie staly odolnými vůči jejich účinku. Antibiotická rezistence představuje závažný problém pro veřejné zdraví a hrozí, že v budoucnosti budou infekční choroby těžko léčitelné. Fágová terapie se jeví jako slibná alternativa k antibiotikům. Fágy jsou specifické pro bakterie, které napadají, a proto je nepravděpodobné, že u bakterií vznikne vůči nim rezistence.

1 Obecná charakteristika bakteriofágů

Bakteriofágy byly objeveny už před více než 100 lety, ale jejich význam se teprve až teď začíná docenovat. Přitom sehrály klíčovou roli v rozvoji molekulární biologie a biotechnologií (Węgrzyn *et al.*, 2012). Řadí se mezi nejpočetnější a všudypřítomné mikroorganismy. Jejich hlavní úlohou je regulace a udržení dynamické bakteriální rovnováhy v ekosystémech. Tuto vlastnost získaly díky své vysoké specifčnosti. Bakteriofágy se velmi rychle replikují a mají dlouhou životnost. Neřadí se mezi mikroorganismy ohrožující zdraví člověka (Kutter and Sulakvelidze, 2005).

Bakteriofágy dělíme do dvou základních skupin. Virulentní fágy, které způsobují rozpad buněk a mírné fágy (někdy zvané jako temperované), které mohou zapříčinit lyzi buňky nebo se jejich genetická informace zapojí do chromozomu hostitelské buňky, a to má za následek, že nedojde k lyzi buňky, ale buňka infekci přežije (Domingo-Calap *et al.*, 2016).

Jedná se o viry napadající buňky bakterií. Lze je nalézt v půdě, vodě či ve výkalech. K terapeutickým účelům byly použity poprvé v Paříži v roce 1919. Tehdy je Felix d'Herelle aplikoval pacientům s dyzentérií. O výsledcích této studie, kterou provedl Felix d'Herelle nebyly publikovány články ve vědecké literatuře (Summers, 1999). První zmínka o aplikaci fágové terapie pochází až z roku 1921, kdy byla tato terapie úspěšně použita k léčbě onemocnění kůže způsobených stafylokoky u šesti pacientů (Lavigne and Robben, 2012).

Díky výzkumu bakteriofágů bylo zjištěno, že DNA je nositelem genetické informace, a že genetický kód je založený na trojicích nukleotidů. Dále bylo zjištěno, že exprese genů probíhá přes molekuly mRNA (Węgrzyn *et al.*, 2012).

1.1 Objevení bakteriofágů

Historicky první pozorování přenosného lytického agens, které je specificky aktivní proti bakterii *Bacillus anthracis* provedl ruský mikrobiolog Nikolay Gamaleya v roce 1898. V té době bylo však příliš brzy na spojení s dalším objevem, kdy Dmitri Ivanovsky v roce 1892 a Martinus Beijerinck v roce 1898 objevili nebakteriální patogen infikujícím tabákové rostliny.

Potenciál bakteriofágů pro léčbu infekcí byl rozpoznán po objevech Fredericka Tworta a Felixe d'Hérelle v roce 1915 a 1917 (Abedon *et al.*, 2011).

Felix d'Herelle byl francouzský mikrobiolog, který objevil bakteriofágy. Na základě experimentu, který započal v roce 1910, když studoval průjmové stavy sarančat, dokázal, že v kultuře původce průjmových stavů se vyskytují místa bez přítomnosti bakterií. Tuto skutečnost dokázal objasnit až v roce 1915, kdy testoval ortodoxnější formy úplavice

u hospitalizovaných vojáků v Paříži. Při tomto výzkumu d'Herelle vytvořil směs skládající se z přefiltrovaného vzorku z oblasti bez výskytu úplavice s kulturou obsahující původce úplavice. Vzniklá kultura vykazovala zakalení z důvodu přítomnosti bakterií. Tuto kulturu nechal přes noc inkubovat a druhý den ráno byla kultura bez zakalení. Tímto způsobem došel tedy k teorii, že tento jev nebyl způsoben infiltrovaným virem, ale virem, který napadá bakterii (d'Herelle, 2003).

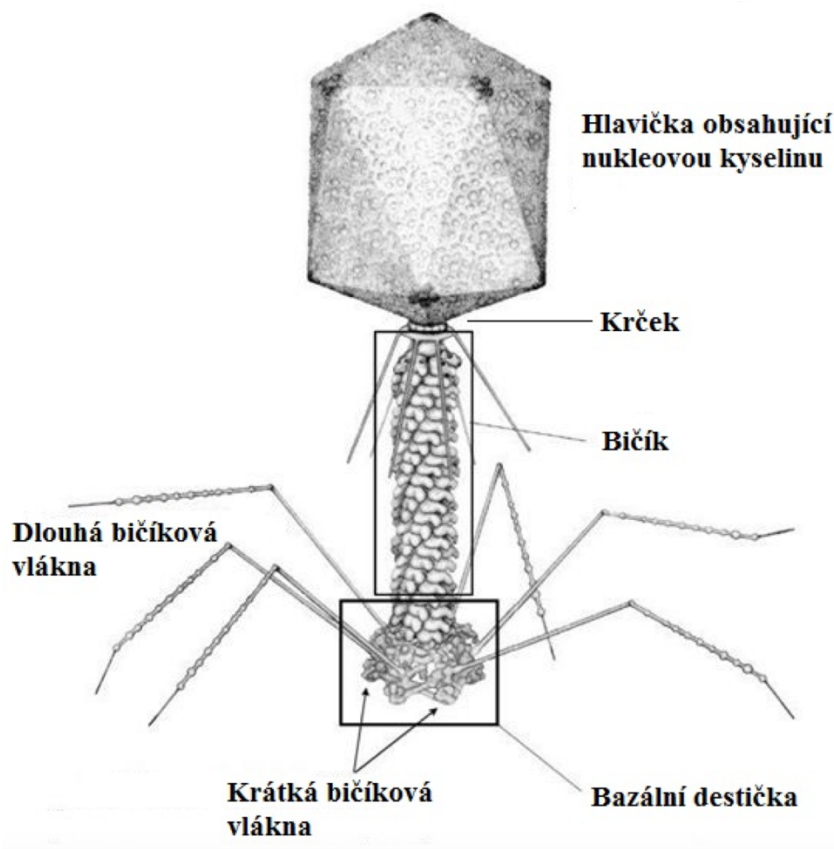
1.2 Morfologie bakteriofágů

Bakteriofágy obsahují vlastní nukleovou kyselinu (DNA nebo RNA), jak je znázorněno na obrázku 1, která je nezbytná pro jejich replikaci. Jejich genetická informace je uložena v proteinové kapsidě, která je ikosaedrického tvaru. Proteinová kapsida je pomocí krčku spojena s bičíkem, který je uložen v kontraktilní pochvě. Kontraktilní pochva slouží ke snadnější invazi fágové nukleové kyseliny do cytoplazmy hostitelské buňky. Na bičík navazuje hexagonální bazální ploténka s hroty. V bazální ploténce se nachází lysozym, což je enzym schopný porušit buněčnou stěnu bakterií. Z ploténky vybíhají bičíková vlákna, která slouží k uchycení na hostitelskou buňku (Harada *et al.*, 2018).

Bakteriofágy, stejně jako všechny viry, jsou klasifikovány Mezinárodním výborem pro taxonomii virů (ICTV) podle jejich morfologie a složení nukleové kyseliny. Fágy s dvouvláknovou DNA neboli *Caudovirales* tvoří 96 % všech pozorovaných fágů a rozdělují se do tří čeledí: *Myoviridae*, *Siphoviridae* a *Podoviridae*. Do čeledi *Myoviridae* se řadí fág T4. Tyto fágy mají charakteristickou strukturu kontraktilního bičíku (Lavigne *et al.*, 2009).

Vývoj fága T4 je řízen přesně koordinovanou subverzí hostitelské RNA polymerázy, která umožňuje iniciaci z různých tříd T4-specifických promotorů. Klíčovou roli v tomto procesu sehrává kaskádovitá syntéza regulačních prvků, které postupně modifikují transkripční aparát a zajišťují tak časovou koordinaci fágového vývojového programu. Obecně platí, že bakteriofágy využívají enzymy hostitele, ribonukleázy, pro zpracování a degradaci svých vlastních mRNA molekul. Analýza genomů několika příbuzných fágů T4 pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR) naznačuje, že gen *regB* je v některých z nich zachován. Přestože jeho přesná funkce a míra konzervovanosti mezi různými fágy vyžaduje další výzkum, zdá se pravděpodobné, že poskytuje selektivní výhodu pro růst fága v přirozeném prostředí. I když není pro přežití fága v laboratorních podmínkách nezbytný, dostupné údaje podporují tvrzení, že protein *regB* je posttranskripční regulátor během fáze před replikací, tedy, že *regB*

ovlivňuje účinnost translace mnoha genů důležitých pro počáteční fázi vývoje fága (Uzan, 2001).



Obrázek 1: Bakteriofág (upraveno dle Leiman *et al.*, 2003)

1.3 Taxonomické rozdělení

Rozlišují se bakteriofágy lytické (virulentní) a lysogenní. Virulentní bakteriofágy se rozmnožují uvnitř napadené bakteriální buňky, kdy po pomnožení dojde k destrukci hostitelské bakteriální buňky. Naproti tomu lysogenní bakteriofágy svůj genetický materiál integrují do genomu hostitelské bakteriální buňky, kde zůstávají nečinné. Následně dochází k replikaci společně s bakteriální genetickou informací a k přechodu z lysogenního cyklu na aktivní lytický cyklus (Domingo-Calap *et al.*, 2016).

Dále byly také popsány pseudolysogenní bakteriofágy. Tito bakteriofágové mohou být začleněni v hostitelské buňce v genomu ve formě tzv. profágů, anebo mohou být v buňce ve formě plazmidu (Domingo-Calap *et al.*, 2016).

2 Fágová terapie

Bakteriofágy mají širokou škálu využití. Používají se především v medicíně při léčbě bakteriálních infekcí. Lze je využít také v zemědělské výrobě a potravinářství. Ve fágové terapii se využívají hlavně fágy lytické jejichž hlavní schopností je usmrtit bakteriální buňku.

Terapeutické využití bakteriofágů bylo navrženo hned po jejich objevu, ale kvůli nejednoznačným výsledkům, a hlavně kvůli objevení penicilinu se tento způsob terapie v západních zemích nepoužíval (Summers, 2001). Z těchto důvodů nebyl žádný fágový produkt v první polovině 20. století licencován Evropskou agenturou pro léčivé přípravky ani Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv. Výjimky jejich použití se nacházejí zejména v zemích Gruzie, Polska a Ruska, kde fágovou terapii praktikují lékaři již řadu let (Parracho *et al.*, 2012). V Gruzii je dostupný fágový přípravek BT-Phage pro léčbu bakteriálních infekcí očí, či Listeria Phage pro léčbu infekce způsobenou bakterií *Listeria monocytogenes* (Klumpp and Loessner, 2013).

V USA je dostupný přípravek Staphage Lysate pro léčbu stafylokokových infekcí. Staphage Lysate je bakteriální lyzát získaný z kmenů *Staphylococcus aureus*. Jedná se o specifickou formu imunoterapie, která využívá fragmenty buněk stafylokoků ke stimulaci imunitního systému (Solomon *et al.*, 2018). Tyto fragmenty jsou zpracovány a aplikovány pacientům s cílem posílit jejich imunitní odpověď proti stafylokokovým infekcím. Bakteriální fragmenty obsažené v lyzátu jsou rozpoznávány jako cizorodé antigeny. To vede k aktivaci specifických imunitních buněk, zejména makrofágů a dendritických buněk, které následně prezentují antigeny T-lymfocytům, čímž se aktivuje produkce protilátek (Ramamurthy *et al.*, 2020).

V roce 2007 byla v České republice založena společnost Aumed, a.s., která se zabývá výzkumem a vývojem fágových terapeutik, jako je přípravek Stafal® zaměřený proti stafylokokovým infekcím (Dvořáčková a kol., 2020).

Fágová terapie je považována za potenciální terapii nemocí lidí a zvířat způsobených patogenními bakteriemi. Tato terapie by měla být vzata v úvahu zejména v době krize rezistence na antibiotika, která je způsobena výskytem bakteriálních kmenů rezistentních vůči mnoha aktuálně dostupným antibiotikům (Tang *et al.*, 2023). I přes tuto skutečnost však nadále zůstává fágová terapie spíše na úrovni laboratorních studií nebo na úrovni experimentální terapie. Stále existují spory o účinnosti a bezpečnosti této léčebné metody. Podle doposud provedených výzkumů se jeví, že zavedení fágové terapie do praxe by mělo být jednodušší a rychlejší ve veterinární medicíně než v medicíně humánní (Ali *et al.*, 2023).

2.1 Historie fágové terapie

První pokusy fágové terapie učinil již zmíněný Felix d'Herelle, který přišel na to, že titr bakteriofágů, které byly použity k léčbě úplavice rostl společně se zlepšováním zdravotního stavu daného pacienta. Následně bylo provedeno ještě několik zkušebních aplikací bakteriofágů u pacientů s bakteriální infekcí, aby bylo možné potvrdit účinnost terapie (Sulakvelidze *et al.*, 2001).

V roce 1923 byl v Gruzii založen Eliavův institut, který se zabýval vývojem terapeutických preparátů obsahujících bakteriofágy k léčbě infekcí vyvolaných rody *Staphylococcus*, *Pseudomonas* a *Proteus*. Tento institut se stal centrem fágové terapie. V 60. letech byly provedeny testy fágových přípravků k prevenci dyzentérie. Klinické rozbory prokázaly výskyt dyzentérie 3,8krát vyšší u skupiny lidí, kterým přípravek nebyl podán ve srovnání se skupinou, která pravidelně dostávala dávky preparátů s obsahem fágů (Sulakvelidze *et al.*, 2001).

Fágová terapie pro léčbu bakteriálních infekcí začala být utlačována nově objevenými penicilinovými antibiotiky, která objevil skotský lékař Alexander Fleming (Hraiech *et al.*, 2015).

Další výzkumy byly provedeny v Polsku, kde byl v roce 1952 zřízen Hirszfeldův institut imunologie a experimentální terapie, kde se bakteriofágy používaly k prevenci pooperačních infekcí a k léčbě zánětů. Byly používány převážně bakteriofágy k potlačení infekcí vyvolaných rody *Staphylococcus*, *Klebsiella* a *Salmonella* (Łusiak-Szelachowska *et al.*, 2020).

2.2 Studie fágové terapie na zvířecích modelech

Studie fágové terapie na zvířecích modelech poskytují cenné informace o účinnosti, bezpečnosti a mechanismu účinku této terapie.

Studie fágové terapie u myši s infekcí způsobenou bakterií *Escherichia coli* (*E. coli*) hodnotí, jak různé fágové preparáty mohou ovlivnit průběh infekce a jaké jsou mechanismy účinku těchto bakteriofágů. Virulentní bakteriofágy byly aplikovány myším infikovaných *E. coli* K1 intramuskulárně. Bylo zjištěno, že došlo ke snížení mortality a k rychlému úbytku bakteriálních buněk v tkáni (Bolocan *et al.*, 2016).

K prevenci salmonelóz u drůbeže byli s úspěchem využity bakteriofágy, kdy k orální inokulaci ptáků byla použita *Salmonella* Typhimurium. Následně byly aplikovány fágy izolované z odpadních vod. K dosažení protektivního efektu bylo nutné aplikovat vysoké titry bakteriofágů (Berchieri *et al.*, 1991).

U drůbeže byla srovnána účinnost a bezpečnost fágové terapie s použitím antibiotik na modelu infekce kuřete sérovarem *Salmonella* Typhimurium. Byl hodnocen účinek směsi dvou bakteriofágů a dvou antibiotik. Při eradikaci patogenní bakterie z gastrointestinálního traktu (GIT) drůbeže byla účinnost obou terapií velmi podobná. Při hodnocení bezpečnosti terapie bylo zjištěno, že léčba antibiotiky způsobila významné změny ve složení střevní mikroflóry drůbeže (tyto změny přetrvávaly minimálně měsíc). Oproti tomu změny v mikrobiomu střeva při aplikaci fágové terapie byly minimální a pouze přechodného charakteru. Tato studie prokázala, že fágová terapie může být stejně účinná jako antibiotická léčba v boji proti infekcím způsobených *Salmonella* Typhimurium. Fágová terapie je však bezpečnější, neboť nezpůsobuje výrazné a dlouhotrvající změny střevního mikrobiomu (Kosznik-Kwaśnicka *et al.*, 2022).

Na myších modelech byly prováděny testy, k nimž byly použity fágy specifické k *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) anebo *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Bakterie *A. baumannii* byly aplikovány do popálenin a bylo zjištěno, že titer nepřesahující 10^2 fágových částic působí preventivně proti této bakterii. Při aplikaci *P. aeruginosa* do popáleniny bylo zjištěno, že k protektivnímu účinku jsou potřeba vyšší titry fágů. Výše titru se uvádí v jednotkách tvořících plak (PFU). Výše titru v tomto případě byla 10^7 – 10^8 PFU. Jednotka PFU slouží k vyjádření počtu virových částic, které jsou schopné vytvořit plaky na buněčné vrstvě v určitém objemu vzorku (Soothill, 1992).

Další testování fágové terapie proběhlo na modelech infekce způsobené bakteriemi *P. aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) u myši nebo infekce vyvolané *Clostridioides difficile* u prasat.

P. aeruginosa je gramnegativní bakterie rezistentní na široké spektrum antibiotik. Tato bakterie napadá převážně dýchací a močové ústrojí. Nález *P. aeruginosa* může být i u popálenin, kde tato bakterie způsobuje sepsi (Rayees *et al.*, 2022).

Myším s popáleninami byla do místa popálení podkožně aplikována dávka *P. aeruginosa* a následně byla infekce léčena izolovanými fágy. Myši byly rozděleny do skupin dle způsobu aplikace fágů. Výsledky prokázaly snížení mortality. Nejvýraznější pokles mortality byl pozorován při intraperitoneálním podání fágů, kdy byla mortalita jen 12 %. Subkutánní podání fágů, tedy podání fágů do podkoží, snížilo mortalitu pouze na 78 % a podání intramuskulární, tedy aplikace do svalu (nejčastěji hýždě), snížila mortalitu na 72 %. Touto studií bylo zjištěno, že místo aplikace mělo značný vliv na rychlost a množství fágů doručených do cílových orgánů (Church, 2006).

Vědecká studie zabývající se léčbou popálenin u myši infikovaných *P. aeruginosa* aplikací fágů dosáhla pozitivních výsledků (McVay *et al.*, 2007).

Clostridioides difficile je bakterie způsobující infekce střev, které mohou vést k závažným průjemovým stavům a k život ohrožujícím komplikacím. Tyto infekce obvykle vznikají po narušení střevní mikroflóry antibiotiky. Patogenita této bakterie souvisí s tvorbou silných cytotoxinů, toxin A, B a binární toxin AB, které společně poškozují epitelovou výstelku střeva a vedou k pseudomembranózní kolitidě. K její patogenitě přispívají i další faktory, jakou jsou fimbrie, což jsou vlákna na povrchu bakterie sloužící k adhezi na hostitelskou buňku, či povrchové proteiny. *Clostridioides difficile* je bakterie vytvářející vysoce odolné spory. Tyto spory přežívají sucho a vysoké teploty, a významně tak přispívají k šíření, přežívání a vzniku onemocnění. V neposlední řadě má *Clostridioides difficile* schopnost tvořit biofilmy.

Studie provedená na prasatech se stala cenným modelovým systémem pro testování fágové terapie u infekce *Clostridioides difficile*. Gastrointestinální trakt prasat je velmi podobný tomu lidskému, proto je vhodný k posouzení účinnosti a bezpečnosti této terapie u lidí (Britton and Young, 2014). V této sedmidenní studii byla skupina prasat experimentálně infikována *Clostridioides difficile* a poté rozdělena do skupin, kterým byly aplikovány různé fágové preparáty anebo placebo. Skupina prasat č.1 obdržela fágový preparát perorálně. Skupině č. 2 bylo perorální cestou podáno placebo a skupina č. 3 nebyla léčena vůbec. Během studie byly sledovány různé parametry, jako je závažnost infekce, množství bakterie v trávicím traktu, imunitní reakce a vedlejší účinky dané terapie. Prasata ve skupině č.1, kterým byl fágový preparát aplikován perorální cestou, vykazovala významné zlepšení klinických symptomů a snížení množství *Clostridioides difficile* ve srovnání se skupinami 2 a 3. Výzkum potvrzuje, že perorální podání fágové terapie je účinné k léčbě infekce *Clostridioides difficile* (Britton and Young, 2014).

2.3 Rizika a výhody fágové terapie

Bakteriofágy jsou obecně považovány za bezpečné. Byly však vypracovány různé studie, které informují o jejich možných negativních účincích. Bakteriofágy mohou negativně působit na některé tělesné tkáně a mohou ovlivnit přirozenou mikroflóru, na kterou nemají být cíleny. Velké nebezpečí spočívá v tom, že mohou vyvolat imunologické reakce. Imunologické reakce mohou vyvolat tím, že pozměňují bakteriální buňku expresí virulentních genů nebo transdukcí DNA mezi bakterií a bakteriofágem (Abedon *et al.*, 2011).

Mezi výhody fágové terapie se řadí především široké spektrum působení, minimální riziko vzniku rezistence a adaptabilita. Fágové koktejly lze přizpůsobit aktuálním potřebám a epidemiologickým situacím, což zvyšuje jejich flexibilitu v léčbě různých infekcí (Malik *et al.*, 2017).

Fágová terapie není jen slibnou cestou k léčbě bakteriálních infekcí, ale k léčbě zánětlivých onemocnění. Studie zabývající se výzkumem protizánětlivých účinků fágů prokázaly výrazné snížení hladiny C-reaktivního proteinu (CRP) a počtu leukocytů u pacientů léčených bakteriofágy. Tento pokles byl patrný i v případech, kdy nedošlo k úplnému vymýcení bakteriální infekce (Górski *et al.*, 2016).

Tyto výsledky naznačují, že bakteriofágy mohou tlumit zánět dvěma způsoby. Zaprvé přímo likvidací bakterií, které zánět vyvolávají a zadruhé působením na samotné mechanismy vedoucí k rozvoji zánětlivých procesů. V pokusech na zvířatech bylo prokázáno, že bakteriofágy dokáží tlumit zánětlivé reakce v kůži a snižovat aktivitu důležitého zánětlivého faktoru NF- κ B (Górski *et al.*, 2016).

Další výzkum se zaměřil na konkrétní proteiny na povrchu bakteriofágů. Bylo zjištěno, že protein gp12 z fágu T4 dokáže přímo vazbou na bakteriální toxin tlumit jeho zánětlivé účinky. Navíc bylo zjištěno, že samotné bakteriofágy a jejich povrchové proteiny nezpůsobují zánět ani tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů, které mohou poškozovat okolní tkáň. To by mohlo pozitivně přispět k léčbě sepse (Miernikiewicz *et al.*, 2013).

2.3.1 Vliv fágů na imunitní systém

Bakteriofágy pravděpodobně ovlivňují i náš imunitní systém podobně jako probiotika. Některé studie naznačují, že bakteriofágy mohou působit jako regulátoři střevní mikroflóry a ovlivňovat tak lidské zdraví. Například pacienti s funkčními střevními poruchami měli při testování méně bakteriofágů napadajících *E. coli*, což naznačuje jejich možnou roli v průběhu onemocnění (Abbott, 2004). Tato jejich funkce by mohla být důležitá zejména v regulaci střevní imunity, kde jsou bakteriofágy běžnou součástí mikrobiomu. Předpokládá se, že se mohou z trávicího traktu šířit i do dalších částí lidského těla a ovlivňovat imunitní odpovědi (Górski and Weber-Dabrowska, 2005).

U fágů se dříve myslelo, že ovlivňují imunitu pouze nepřímo, a to změnami v bakteriální mikroflóře. Výzkum z roku 2018 ukazuje, že fágy ovlivňují imunitu i přímo, a to protizánětlivým způsobem. Fágy dokáží ovlivňovat vrozenou imunitu, a to jak fagocytózou (pohlcováním bakterií imunitními buňkami), tak regulací produkce cytokinů (signálních

molekul imunitního systému). Jsou schopni ovlivnit i adaptivní imunitu, a to produkcí protilátek a regulací aktivity T-buněk (Van Belleghem *et al.*, 2018).

Imunitní systém člověka hraje klíčovou roli při odstraňování fágů. Mononukleární fagocytární systém ve slezině a játrech filtruje z krve cizorodé částice, včetně fágů. Slezina a játra jsou hlavními místy akumulace fágů s nejvyššími titry (Nungester and Watrous, 1934).

2.4 Izolace bakteriofágů pro fágovou terapii

Bakteriofágy lze izolovat z půdy, vody, bakteriálních kultur, fekálií nebo z kompostu. Mohou být izolovány z různých typů půdy, převážně tam, kde je vysoká populace bakterií. Pro izolaci postačí odebrat vzorek půdy a provést procesy obohacení, které vedou ke zvýšení počtu bakterií a tím se zvyšuje možnost nálezu bakteriofágů. Metoda obohacení zahrnuje smíchání vzorku půdy s hostitelskou bakterií. Tato směs se následně inkubuje. Během inkubace se bakteriofágy v půdě pomnoží a infikují hostitelské bakterie. Další možností je izolace z bakteriálních kultur. Tato metoda je hojně využívána v laboratořích, kde se bakteriofágy využívají k infekci specifických bakterií. Bakteriofágy se v bakteriálních kulturách mohou objevit vlivem kontaminace nebo mohou být specificky přidány k infekci bakteriální kultury (Chen *et al.*, 2018).

Bakteriofágy osidlují téměř všechny lokality, proto je možné je izolovat z prostředí. Hlavním zdrojem fágů pro terapeutické účinky je převážně okolí nemocnice (Latz *et al.*, 2016). Bakteriofágy aktivní proti *P. aeruginosa* a *S. aureus* byly izolovány z odpadní a říční vody. Fágy proti *Shigella dysenteriae* byly izolovány konkrétně z odpadních vod ve městě New York (Merabishvili *et al.*, 2009).

Následně bylo zjištěno, že je možné izolovat nové virulentní fágy z potační vody anebo také z výkalů ovcí a dobytka (Ul Haq *et al.*, 2012).

Nejvíce terapeutických fágů lze nalézt v materiálu od pacientů, kteří se zotavili z infekce. Snadno lze izolovat fágy proti patogenním bakteriím např. *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *E. coli* či *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*). Naopak obtížně se izolují fágy aktivní proti kmenům *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* a *A. baumannii* rezistentním na vankomycin (Mattila *et al.*, 2015).

Klinická aplikace fágových preparátů musí splňovat určité podmínky. Jedná se zejména o zpracování fágového preparátu a jeho vliv na stabilitu fága během přípravy a podmínky skladování (Vandelheuvél *et al.*, 2015).

2.4.1 Metody fágové izolace

Pro izolaci bakteriofágů je výhodná kapalná kultura a metoda na pevné plotně. Vzorek obsahující bakteriofága může být v kapalném skupenství, nebo pevném. Vzorky v kapalném skupenství jsou pro izolaci fágů jednodušší oproti pevným vzorkům. Pevné vzorky je nejprve nutné suspendovat ve sterilním kapalném médiu (Gill and Hyman, 2010). Vzorky, o kterých se předpokládá, že obsahují terapeutické bakteriofágy se po jejich sterilizaci či inkubaci aplikují na bakteriální živnou půdu, kde budou pozorovány plaky a bude se tak prokazovat přítomnost bakteriofágů. Pro izolaci nových fágů se doporučuje použít jednu bakterii v exponenciální fázi růstu. Exponenciální fáze, též zvaná jako log fáze, je klíčovou etapou v růstové křivce bakteriální populace. Tato fáze se vyznačuje intenzivním množением bakterií, kdy dochází k prudkému nárůstu jejich počtu. Během exponenciální fáze se počet buněk bakterií zdvojnásobuje v pravidelných časových intervalech označovaných jako generační doba. Bakterie syntetizují bílkoviny, nukleové kyseliny a další buněčné komponenty, které jsou nezbytné pro růst a dělení. Pokud je na bakteriální půdě pozorován plak, tak dalším krokem fágové izolace je vybrat a přenést jeden plak do kapalného média (Mattila *et al.*, 2015).

Existuje mnoho způsobů, jak zlepšit viditelnost fágových plaků na bakteriální půdě. Jedním způsobem, v případě fágů izolovaných z enviromentálních vzorků, je použití subletálních dávek antibiotik. Toto umožňuje získat plaky s větším průměrem nebo zlepšit viditelnost plaků (Loś *et al.*, 2008). Bylo zjištěno, že účinnost plakování některých fágů (např. fág T4) je 100%, což znamená, že za optimálních podmínek může každá jednotlivá částice fága infikovat hostitelskou buňku a produkovat plaky (Kutter, 2009).

V případě, kdy se nepovede detekovat přítomnost fágů plotnovou metodou, se používá kolorimetrická metoda. Tato metoda využívá schopnost živých bakteriálních buněk redukovat tetrazolium chlorid na barevný formazan, což se projeví jako červené zbarvení v bakteriální kultuře. Lýza bakterií má za následek chybějící obarvení kultivačního média ve srovnání s kontrolou a může tedy naznačovat přítomnost fágů v testovaných vzorcích. Hlavní výhodou této metody je možnost průkazu fágů přítomných ve vzorku v malém množství a možnost detekovat přítomnost fágů v mnoha vzorcích současně během jednoho experimentu. Další možností detekce fágů je mikrotitrační test. Jedná se o poměrně rychlý test k určení bakteriofágové citlivosti například kmenů rodu *Campylobacter*. Mikrotitrační test umožňuje vyšetřit 5–10krát větší počet izolovaných kmenů ve srovnání s plotnovou metodou (Fischer *et al.*, 2013).

Obecný postup pro izolaci bakteriofágů z odpadních vod začíná odběrem vzorku odpadní vody. Vzorek může být odebrán z kanalizace či čistírny odpadních vod. Dále následuje obohacení na živném médiu, které je vhodné pro růst bakterií. Tento proces zvyšuje pravděpodobnost výskytu bakteriofágů. Takto obohacený vzorek se filtruje pomocí membránových filtrů, čímž dojde k oddělení pevných částic a velkých organických částic. Filtrát se následně centrifuguje, aby se oddělila bakteriální hmota od kapalné fáze, která obsahuje bakteriofágy. Tato kapalná fáze se následně kultivuje na živném médiu obsahujícím hostitelské bakterie, čímž je umožněno množení bakteriofágů a jejich zvýraznění. Dalším krokem je identifikace bakteriofágů pomocí různých metod, jako je elektronová mikroskopie nebo PCR. Jedná se o laboratorní techniku, která slouží k namnožení specifických úseků DNA. Tato metoda se používá k diagnostice infekčních onemocnění, genetickému testování nebo pro vědecké výzkumy (Chen *et al.*, 2018).

Ke kvantifikaci bakteriofágů lze použít tyto metody: transmisní elektronová mikroskopie, průtoková cytometrie, metody využívající rozptylu světla.

Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) využívá svazek elektronů k zobrazení vzorku s rozlišením až 0,2 nm, což je tisíckrát více než u tradičních světelných mikroskopů. Tato technologie umožňuje přímo pozorovat i virové částice. TEM je vysoce přesná metoda pro stanovení morfologie a celkového počtu virových částic, nicméně vyžaduje vysoce koncentrované vzorky pro získání spolehlivých výsledků. Mezi nevýhody TEM patří časová náročnost, vysoké náklady a omezená vhodnost pro analýzu velkého množství vzorků (Ackerman, 2012).

Průtoková cytometrie je založena na značení virových částic fluorescenční barvou a jejich následném průchodu kapilárou. Díky malému průměru kapiláry jsou částice nuceny proudit v jedné řadě, což umožňuje detekci rozptylu světla způsobeného každou jednotlivou částicí. Tato metoda je rychlá a spolehlivá, a proto se široce používá. Průlomová studie ukázala, že fluorescenční signál sice nekoresponduje s velikostí genomu, ale umožňuje rozlišit různé viry ve smíšeném vzorku na základě distribuce fluorescence a rozptylu světla (Brussaard *et al.*, 2000).

2.5 Lytický cyklus

Lytické bakteriofágy se při fágové terapii využívají zejména pro svou schopnost usmrtit bakteriální buňku. Jejich antibakteriální aktivita je společná s antibakteriální aktivitou

antibiotik. Fágy však mají své výhody oproti antibiotikům. Jejich hlavní výhodou je především vyšší účinnost při některých infekcích, a jejich vysoká specifita (Sulakvelidze *et al.*, 2001).

Fágy se v místě, kde probíhá infekce pomnoží, a proto většinou při terapii postačí pouze jedna dávka ve srovnání s terapií antibiotiky. Fágy se hromadí v místě, kde probíhá infekce a tím se snižuje vznik nežádoucích vedlejších účinků (Thiel, 2004).

Lytický cyklus se skládá z několika fází. První fáze je přichycení neboli adheze. Bakteriofág se za pomoci receptorů naváže na povrch hostitelské bakteriální buňky. Následně dojde k přenosu genetického materiálu do vnitra hostitelské buňky. Na povrchu DNA bakteriofága se vyskytují báze, které jsou chemicky upraveny tak, aby dokázaly poskytnout dostatečnou ochranu před obrannou reakcí bakteriální buňky a před nukleázovými enzymy. Bakteriofágy obsahují enzym, který rozruší bakteriální peptidoglykan. Tímto enzymem je nejčastěji lysozym, který hydrolyzuje cukerné vazby v peptidoglykanu. Následuje replikace virové DNA, dojde k syntéze proteinů a následně k lyzi buněk a k uvolnění nových fágových částic (Fischetti, 2005).

2.6 Lyzogenní cyklus

Lyzogenní (temperovaný) bakteriofág má schopnost proniknout do klidového stavu v bakteriální buňce a začlenit se do hostitelského genomu. Tato fágová genetická informace se označuje jako profág. Profág společně s hostitelským genomem prochází replikací a výsledkem je vznik dceřinných buněk. Profág je uložen v lyzogenu. K jeho replikaci dochází společně s chromozomem bakterie během buněčného dělení. Mírný fág buď zůstane v tomto stavu, anebo přechází do lytického cyklu. Do lytického stavu přechází pomocí indukce (Howard-Varona *et al.*, 2017).

2.6.1 Terapie fágovým lyzátem

Jedná se o bakteriální kulturu, která byla usmrcena pomocí fágové lyze a obsahuje nově vzniklé bakteriofágy společně s lyzovanými kulturami cílených bakterií (Hall *et al.*, 2012). Lyzogenní fágy mohou pomocí různých procesů ovlivnit bakteriální evoluci. Mezi procesy ovlivňující bakteriální evoluci spadá lyzogenní konverze, transdukce a narušení hostitelského genu při integraci do bakteriálního genomu (Little, 2005).

Podle počtu typů bakteriofágů použitých při terapii rozlišujeme monofágové terapie a polyfágové terapie. Při monofágové terapii se aplikuje jeden typ bakteriofágů. Při polyfágové terapii je aplikováno dva a více typů bakteriofágů. Polyfágová terapie je označována jako fágový koktejl. Fágové koktejly obsahují kombinaci různých fágů, které cílí na stejné

nebo různé druhy bakterií. Tato synergická kombinace umožňuje léčbu širšího spektra bakteriálních infekcí. Z doposud provedených studií, které jsou rozebrány níže, plyne, že fágové koktejly mají vyšší účinnost než monofágové terapie a zároveň bylo zjištěno, že polyfágové terapie snižují riziko vzniku rezistentních kmenů bakterií vůči bakteriofágům. Lyzáty lze podávat pacientům několika způsoby a to perorálně, peritoneálně, ve formě kapek do uší a nosu či lokálně kolem ran (Hall *et al.*, 2012).

2.7 Lékařské a klinické výzkumy

Bylo provedeno několik studií, které prokázaly, že fágová terapie má pozitivní vliv při léčbě plicních infekcí jako jsou pneumonie či cystická fibróza, nebo při léčbě gastrointestinálních infekcí a infekcí ran (Malik *et al.*, 2017).

2.7.1 Plicní infekce

Mezi dva běžně izolované bakteriální kmeny ze sputa se řadí *S. aureus* a *Haemophilus influenzae*.

Cystická fibróza je autozomálně recesivní genetické onemocnění. Pacienti s cystickou fibrózou trpí sníženou hydratací a sníženou sekrecí vysoce viskózního hlenu pokrývající epitel dýchacích cest, což způsobuje chronický zánět a bakteriální infekci v plicích (Donlan and Costerton, 2002). U pacientů s cystickou fibrózou bývá často izolována *P. aeruginosa*, která má schopnost vytvářet biofilm (Malik *et al.*, 2017). Biofilm je tvořen bakteriálními buňkami, které jsou obklopeny extracelulární polymerní matricí. Tato matrice je složena z polysacharidů, proteinů, lipidů a nukleových kyselin, které poskytují ochranu pro buňky uvnitř biofilmu. Biofilm je trojrozměrný s kanálky, které umožňují difuzi živin a odpadních produktů. Biofilmy poskytují bakteriím fyzickou bariéru, umožňují mezibuněčnou komunikaci, dále slouží k adhezii k různým povrchům (Chan and Abedon, 2015).

Bakteriofágy k potlačení plicních infekcí mohou být aplikovány několika způsoby, a to perorálně, inhalačně nebo intraperitoneálně. Carmody *et al.* (2010) zjistili, že intraperitoneální podání fága vedlo ke zmírnění akutní plicní infekce u myši ve srovnání s nasální inhalací či perorálním podáním přípravku (Carmody *et al.*, 2010).

V Tokyu byl na myším modelu proveden výzkum ke zjištění účinnosti fágové terapie proti plicním infekcím způsobeným *P. aeruginosa*. Výzkum byl proveden na myších starých šest týdnů. V experimentu byli myši infikováni bakterií *P. aeruginosa* a poté byly léčeny bakteriofágy KPP10. Myši byly rozděleny do tří skupin: kontrolní skupina, skupina léčená fágem po 2 hodinách od infekce a skupina léčená fágem po 8 hodinách od infekce. Výsledky

ukázaly, že fágová terapie významně zlepšila míru přežití u myší s pneumonií a sepsí. Počet bakterií v plicích i v séru byl u myší léčených fágem významně nižší než u kontrolní skupiny myší. Histologické vyšetření ukázalo, že u skupiny léčené fágem došlo k výraznému snížení zánětu v plicích. U myší léčených fágem byly také signifikantně nižší hladiny zánětlivých cytokinů. Tato studie prokázala, že fágová terapie s použitím bakteriofágu KPP10 je účinná při léčbě pneumonie a sepse způsobené *P. aeruginosa* (Yang *et al.*, 2021).

2.7.2 Infekce gastrointestinálního traktu

V lidském střevě se nachází velké společenství mikroorganismů, které významně přispívá funkci střev, imunitním reakcím a patogenezí onemocnění. Lidský mikrobiom se vyvíjí již v prenatálním období (Yassour *et al.*, 2016).

V gastrointestinálním traktu se přirozeně vyskytuje mnoho mikroorganismů, které se souhrnně označují jako mikroflóra. Na složení střevní mikroflóry se podílí mnoho faktorů, jedním z nejdůležitějších faktorů je pravděpodobně přítomnost bakteriofágů, které tvoří zdaleka největší část lidského střevního viromu. I přesto jsou bakteriofágy jedním z nejméně prozkoumaných mikroorganismů lidského střeva (Gutiérrez and Calap, 2020).

Fageom střeva se skládá ze dvou částí, a to z temperovaných fágů, které jsou uvnitř bakteriálních genomů a z virionů nebo z částic podobným virům (Shkoporov *et al.*, 2018). Nejhojněji se vyskytujícím fágem ve střevě je *crAssphage* (Dutilh *et al.*, 2014). Tento druh fága byl objeven v roce 2014. Prostřednictvím metagenomických i kulturně založených studií bylo prokázáno, že jejich hostitely jsou *Bacteroides* s morfologií podobnou *Podoviridae* (Shkoporov *et al.*, 2018).

Složení stravy může ovlivnit účinnost bakteriofágů ve střevě. Strava bohatá na látky zásaditého charakteru, jedná se převážně o ovoce, jako jsou jablka, hrušky nebo meruňky, může ochránit fágy před působením žaludečních kyselin. Naopak strava s vysokým obsahem vlákniny urychluje odstraňování fágové DNA a dochází tak k vyloučení fágů z trávicího traktu (Palka-Santini *et al.*, 2003).

Střevní infekce nejčastěji způsobují bakterie *E. coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* či *Clostridioides difficile*. Hlavním zdrojem nákazy bakteriálních infekcí GIT je konzumace kontaminovaných potravin a vody (Malik *et al.*, 2017).

Bylo provedeno několik studií, které hodnotily účinnost fágové terapie pro léčbu infekcí GIT způsobených bakteriemi *Vibrio cholerae*, *Clostridioides difficile*, *E. coli* a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (Nale *et al.*, 2016).

Clostridioides difficile je anaerobní bakterie, která způsobuje průjemová onemocnění známé jako pseudomembranózní kolitida. Tato infekce je častá zejména u pacientů v nemocničním prostředí a její léčba může být obtížná, zejména při opakovaných výskytech. Výzkum se zaměřuje na identifikaci a charakterizaci bakteriofágů, které napadají pouze *Clostridioides difficile*. Doposud objevené fágy se řadí do třídy *Caudoviricetes* a lze je rozdělit do podčeledí *Myoviridae* a *Siphoviridae* a *Podoviridae*. Většina popsanych fágů proti *Clostridioides difficile* je lysogenních, ale hledají se píše fágy lytické. Izolace lytických fágů je obtížná kvůli anaerobnímu metabolismu a tvorbě spor. Proto standardní metody využívající k izolaci ultrafialové záření nebo mitomycin C nejsou dostatečně účinné. Tyto komplikace vedou k nutnosti vývoje nových metod lýzu bakterie pomocí fágů (Fujimoto and Uematsu, 2022).

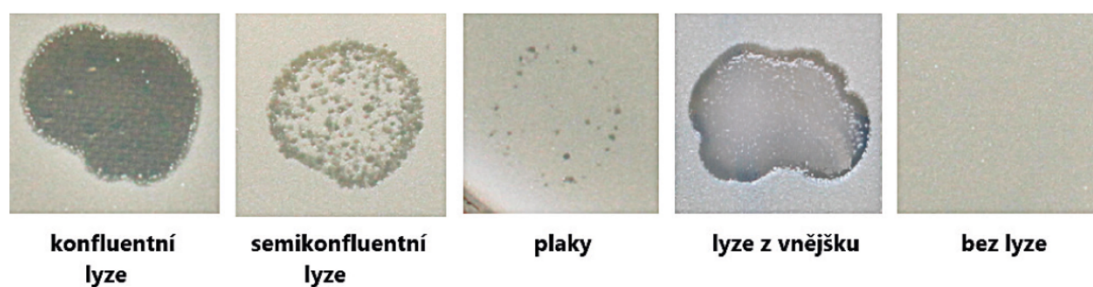
Z fágů byly odvozeny endolyziny proti *Clostridioides difficile*. Endolyziny jsou enzymy kódované bakteriofágy. Zralé fágové částice využívají endolyziny k rozpadu bakteriální buněčné stěny zevnitř. Výhodou endolyzinů je možnost působit i z vnějšího prostředí, díky čemuž mohou degradovat peptidoglykany, které jsou hlavní složkou buněčné stěny bakterií (Jun *et al.*, 2017).

Endolyziny se skládají ze dvou částí: N-terminální enzymová aktivní doména (EAD) a C-terminální buněčno-stěnová vazebná doména (CBD). EAD se nachází na počátku proteinu a zodpovídá za štěpení specifických vazeb v peptidoglykanu bakteriální buněčné stěny. Rozlišují se čtyři hlavní EAD domény: amidasy, acetylmuramidasy, endopeptidasy a glukosaminidasy. Každý typ štěpí jinou vazbu peptidoglykanu. CBD se nachází na konci proteinu a umožňuje endolyzinu navázat se na specifické struktury v bakteriální stěně. Díky vazbě CBD se EAD dostane do těsné blízkosti cílené vazby v peptidoglykanu a může ji efektivně štěpit (Matamp and Bhat, 2019).

Byla vyvinuta účinná metoda pro získání genomové informace o vazbách mezi hostitelskými bakteriemi a jejich bakteriofágy. Tato metoda otevírá cestu k cílené fágové terapii zaměřené na bakterie podílející se přímo na vzniku onemocnění. Pro vývoj fágové terapie proti *Clostridioides difficile* byla využita metagenomická data získaná z fekálních vzorků zdravých jedinců a klinických izolátů *Clostridioides difficile*. Analýzou těchto dat byly identifikovány nové endolyziny. Následnou syntézou získaných sekvencí endolyzinů byly vytvořeny rekombinantní proteiny, jejichž lytická aktivita vůči *Clostridioides difficile* byla prokázána *in vitro* a jejich účinnost potvrzena v myším modelu (Fujimoto *et al.*, 2020).

2.7.3 Infekce ran

S. aureus je bakterie způsobující infekci kůže a ran. Často označován též jako nosokomiální patogen způsobující infekci spojenou se zdravotnickou péčí. Hlavní faktor, kvůli kterému dochází k selhání hojení chronických ran, je právě polymikrobiální biofilm. Byla provedena studie, která měla za cíl popsat výskyt a vlastnosti *S. aureus* a jeho citlivost k fágovému preparátu Stafal® v Brně v letech 2011–2018. Stafal® je protistafylokokový lyzát s obsahem vysoce účinných virulentních a polyvalentních fágových částic z čeledi *Myoviridae*. Citlivost k fágovému preparátu Stafal® byla testována u 867 klinických izolátů *S. aureus* a 132 kmenů jiných druhů stafylokoků metodou dvouvrstevného agaru (obr. 2). Po kultivaci naočkovaného agaru byly vyhodnoceny výsledky podle přítomnosti lyze (rozpadu bakteriálních buněk). Kmeny s plaky, konfluentní lyzí a semikonfluentní lyzí se považují za citlivé. Kmeny, které vykazují při terapeutické koncentraci lyzi z vnějšku, nebo jsou bez lyze, se považují za rezistentní. Citlivost ke Stafalu® byla potvrzena u 590 kmenů různých druhů stafylokoků (Dvořáčková a kol., 2020).



Obrázek 2: Hodnocení lyze metodou dvouvrstevného agaru (Dvořáčková a kol., 2020)

Schopnost tvorby biofilmu a citlivost k antibiotikům byly testovány u všech 867 kmenů *S. aureus* modifikovanou Christensenovou metodou a diskovým difúzním testem. Bylo zjištěno, že tvorba biofilmu u *S. aureus* je ovlivněna typem kmene bakterie a jeho klinickým původem. Neexistovala žádná souvislost mezi tvorbou biofilmu a citlivostí k Stafalu®. Fágy mohou být účinnou alternativou k antibiotikům, a to i u kmenů tvořící biofilm (Dvořáčková a kol., 2020).

U 95 kmenů *S. aureus* byla porovnána metoda dvouvrstevného agaru s nově navrženou metodou založenou na úbytku optické denzity bakteriální suspenze. Tato metoda měří úbytek optické denzity bakteriální suspenze, což vede ke zjištění přilnavosti a růstu bakterií ve formě biofilmu. Studie ukázala, že mezi 95 kmeny *S. aureus* byly výsledky navržené metody

konzistentní a shodovaly se s výsledky dvouvrstevného agaru, což potvrzuje validitu této metody (Dvořáčková a kol., 2020).

2.7.4 Infekce spojené se zdravotnickou péčí

Infekce spojené se zdravotnickou péčí (HAI), dříve označované jako nozokomiální nákazy, jsou infekční onemocnění související s hospitalizací pacienta v nemocničním zařízení. Hospitalizovaní pacienti jsou ohroženou skupinou z důvodu oslabeného organismu vlivem podstupujících invazivních diagnostických nebo terapeutických zákroků. HAI jsou způsobeny patogeny, které mají rezistenci na antibiotika, chemoterapeutika a dezinfekční přípravky. Jako HAI je brána i infekce, která se u pacienta projeví až po jeho propuštění z nemocničního zařízení. Tyto infekce související s nemocničním prostředím patří k nežádoucím komplikacím zdravotní péče, neboť způsobují prodloužení léčby a hospitalizace, nárůst nákladů souvisejících s léčbou a mohou vést ke zhoršení celkového zdravotního stavu pacienta, v některých případech až ke smrti (Šrámová a kol., 2013).

Bakterie způsobující infekce spojené s pobytem v nemocničním zařízení lze souhrnně označit jako ESCAPE. Do této skupiny patří tyto patogenní bakterie: *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Clostridioides difficile*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* a čeleď *Enterobacteriaceae* (Demain and Spizek, 2012).

2.8 Moderní přístupy k fágové terapii

Bylo provedeno mnoho výzkumů popisujících spektrum možných strategií zahrnujících přírodní a uměle vytvořené fágy, enzymy odvozené od fágů a kombinaci fágů s antimikrobiálními látkami.

Nejjednodušší aplikací fágové terapie je přímá aplikace přirozeně izolovaného virulentního fága pacientovi s cílem lýzy patogenních bakterií, které jsou odpovědné za infekční onemocnění. V tomto případě se používají pouze fágy a léčba se označuje jako konvenční (Sarker *et al.*, 2012).

Hlavním cílem genetického inženýrství je vytvořit bakteriofága, který má široké spektrum hostitelů. Bylo provedeno několik výzkumů, které přispěly k modifikaci fága, který by tato kritéria splňoval. Bioinženýrské fágy se používají jako transportéři genů nebo baktericidních látek do místa infekce (Sulakvelidze *et al.*, 2001).

Bioinženýrskou cestou byly vytvořeny nelytické fágy s vláknitou strukturou. Jejich hlavní funkcí je transport genů kódujících proteiny s baktericidní aktivitou. Tyto proteiny způsobují poškození bakteriální DNA, narušují membránovou integritu, metabolické dráhy

a mohou mít také vliv na signální dráhy, které regulují růst, diferenciaci a přežití buňky. Proteiny způsobující poškození DNA mohou působit jako restriční endonukleázy štěpící DNA na specifických místech, což může být příčinou rozpadu DNA a následného zániku buňky (Westwater *et al.*, 2003).

2.8.1 Fágové proteiny

Fágy kódují enzymy, které slouží jako alternativa k celé fágové aplikaci. Fágový genom kóduje početné enzymy a proteiny, které jsou potřebné k tomu, aby došlo k rozpadu bakteriálních buněk při infekci. Virion asociované peptidoglykanové hydrolázy (VAPGHs) a polysacharidové depolymerázy jsou dvě skupiny fágových enzymů umožňujících fágu adsorbovat se a vpravit svůj genom do hostitelské buňky. Na konci lytického cyklu fág využívá různé enzymy k tomu, aby došlo k lýze hostitelské buňky a uvolnění virionů. Bičíkatý fágový systém je založen na koordinovaném působení dvou typů proteinů, konkrétně holinů a endolysinů. Tyto proteiny slouží k degradaci peptidoglykanu bakteriální buněčné stěny. Holiny jsou malé proteiny, které se nacházejí v membráně infikované bakteriální buňky. Po aktivaci fágovým proteinem vytváří póry v membráně. Tyto póry vedou k úniku buněčného obsahu a nakonec k lyzi buňky (Maciejewska *et al.*, 2018).

2.8.2 Fágy kombinované s antibiotiky

Při duální terapii se méně rozvíjí rezistence, neboť kmen necitlivý na jedno agens by mohl být zničen druhým (Torres-Barceló and Hochberg, 2016).

Byl sledován účinek bakteriofága a antibiotika streptomycinu na bakterii *P. aeruginosa*. Tento výzkum měl otestovat, zda použití bakteriofágů může snížit potřebnou dávku antibiotik pod minimální inhibiční koncentraci. Léčba pouze fágem nebo pouze streptomycinem výrazně snížila hustotu bakterií během prvních 24 hodin. Nicméně, v průběhu experimentu se populace bakterií ve všech léčebných skupinách opět pomnožily. Kombinovaná léčba streptomycinem a fágem vedla k mnohem výraznějšímu snížení hustoty bakterií oproti tomu, kde nebyla žádná kombinace, ale samostatný účinek buď fága nebo antibiotik. V průběhu léčby nedošlo k dalšímu nárůstu bakterií. Kombinace streptomycinu s fágovou terapií je tedy účinnější, kombinované působení fágů a antibiotik je synergické (Torres-Barceló *et al.*, 2014).

2.9 Aplikace bakteriofágových terapeutik

V průběhu vývoje se fágy staly odolnějšími. Šlo především o pozměněné receptorové proteiny a hydrolyzující enzymy (Martiny *et al.*, 2015). Aby se předešlo vzniku imunitní reakce na fágy, je nutné pečlivě prostudovat každý případ a podle toho zvolit správný postup, jako je

vhodná cesta a dávka podání, doba expozice fágu a vhodně zvolený pufr. Rozvoj sekvenční technologie a molekulární biologie rozšířil základní znalosti o interakcích bakterií a bakteriofágů. Byly zjištěny nové možnosti jako je využití fágů včetně geneticky upraveného fága, duální terapie anebo použití enzymů odvozený od fágů (Saha and Mukherjee, 2019).

2.9.1 Fágový displej

Fágový displej je technika využívaná v molekulární biologii a biotechnologii k identifikaci a studiu interakcí mezi proteiny a jejich cílovými molekulami. Existuje řada aplikací této technologie, jako je imunoterapie a biopanning. Biopanning je technika využívaná k hledání a výběru specifických molekul, které by mohly být využité jako léčiva. Při biopanningu se využívá knihoven, které obsahují obrovské množství různých variant těchto molekul. Biopanning může být rozšířen na cílenou terapii nádorů, protože může být použit k izolaci peptidů, které se vážou na specifické receptory rakovinných buněk (Saw and Song, 2019).

Fágový displej slouží k překonávání fyziologických bariér, jako je hemato-encefalická bariéra, což je klíčové pro terapii. Dále je fágový displej používán k zobrazení virových nebo bakteriálních antigenových peptidů na kapsidách fágů, následovaných *in vivo* podáním k vyvolání imunitní odpovědi (Chen *et al.*, 2017).

2.9.2 Využití fágové terapie v onkologii

Rakovina je onemocnění, které se projevuje abnormálním růstem a šířením buněk v organismu. Celosvětově se významně podílí na úmrtnosti. Jde o patologický stav, který se může projevit na různých místech v lidském těle. Nejčastěji se vyskytující typem je rakovina plic, prsu, prostaty a kolorekta. Mezi rizikové faktory související se vznikem zhoubných nádorových onemocnění patří zejména věk, genetika a životní styl. Diagnostika a léčba rakoviny je většinou poměrně náročná a závisí na typu a stádiu onemocnění. Dnes se nejčastěji k léčbě rakoviny využívá chemoterapie, radiační terapie, imunoterapie a chirurgie. Tyto možnosti léčby jsou často omezeny různými faktory, jako jsou vedlejší účinky, omezená účinnost, vysoké náklady a možná rizika. Zvyšuje se tedy poptávka po alternativních léčebných postupech, které se mohou zaměřit konkrétněji na rakovinné buňky s menšími nebo žádnými vedlejšími účinky.

Fágová terapie jako potenciální léčba rakoviny nabízí řadu výhod. Fágy jsou vysoce specifické a mohly by být tedy navrženy tak, aby cílily pouze na buňky rakovinné a nikoli na buňky zdravé. Dále jsou fágy schopné se replikovat v hostitelských buňkách, což může zvýšit účinnost léčby tím, že zacílí na více rakovinných buněk jediným fágem.

Bakteriofágy jsou testovány ve smyslu studie imunogenní vakcíny kvůli jejich schopnosti spouštět reakce zprostředkované buňkami i protilátkami (Yacoby and Benhar, 2008).

Fágy lze mimo jiné využít také k ochraně onkologických pacientů před choroboplodnými zárodky bakteriálních infekcí (Islam *et al.*, 2023).

Jejich jedinečné vlastnosti, jako je jejich nano velikost, nepatogenní povaha, polyvalentní povrch a všestrannost pro chemické a genetické modifikace je činí velmi atraktivní pro terapeutické a diagnostické účely u tzv. solidních tumorů (Veeranarayanan *et al.*, 2022).

Hepatocelulární karcinom (HCC) je nejčastějším typem rakoviny jater. Jedná se o zhoubný nádor, který se vyvíjí v jaterních buňkách (hepatocytech). Pro rozvoj HCC existuje mnoho rizikových faktorů: cirhóza jater, nadměrná konzumace alkoholu, chronická infekce hepatitidy B nebo C. Výzkumem byla navržena vakcína, která využívá bakteriofágy k dodání antigenu, který je exprimován na buňkách HCC. Bylo zjištěno, že vakcína byla u myši účinná. Jedná se o vakcínu, která je založena na lambda fágu. Lambda fág existuje ve dvou životních cyklech (lytický i lyzogenní cyklus) (Tomimaru *et al.*, 2015).

Ve výzkumu byly zkoumány 6–8 týdnů staré myši. Myším byla aplikována injekce obsahující 10 miliard virových částic do spodní části ocasu. Vakcína byla podána ve třech dávkách v týdenním intervalu před aplikací rakovinných buněk na pravý bok myši. Myším byly podávány posilující dávky vakcíny obsahující fágy každých 7–10 dní. Velikost nádoru byla měřena 2–3krát týdně. Po šesti až osmi týdnech od naočkování nádorových buněk byly myši s nádory utraceny. Z každé myši byly odebrány vzorky krve, sleziny a nádorové tkáně. Protolytická a terapeutická imunizace signifikantně zpomalily růst HCC nádorů a vyvolaly sekreci antigeně specifických Th1 a Th2 cytokinů (Iwagami *et al.*, 2017).

V současné době probíhají studie zabývající se fágovou terapií při léčbě melanomu. Melanom je nejzávažnější typ rakoviny kůže, který se vyznačuje nekontrolovaným růstem melanocytů, což jsou buňky produkující melanin. Jeho incidence v posledních desetiletích prudce narůstá. Standardní léčebné postupy zahrnují chirurgii, chemoterapii, radiační terapii a imunoterapii (Lens, 2008).

Předklinické studie prokázaly, že fágy dokáží efektivně likvidovat buňky melanomu v laboratorním prostředí. Fágy se dokáží selektivně vázat na rakovinné buňky a vpravit do nich svůj genetický materiál, čímž naruší jejich buněčné procesy a způsobí apoptózu. Navíc fágy stimulují imunitní systém k napadení a eliminaci rakovinových buněk. Bylo prokázáno, že fágy

jsou schopné blokovat angiogenezi, proces tvorby nových cév zásobujících rakovinné buňky kyslíkem a živinami, čímž zpomalují jejich růst a šíření (Voura *et al.*, 2001).

Klinické studie fáze I a II prokázaly bezpečnost a toleranci fágů u pacientů s melanomem. Tyto studie dále naznačují, že fágy dokáží u některých pacientů vést k regresi nádorů. V jednom případě došlo u pacienta s pokročilým melanomem k významnému zmenšení nádoru po lokální injekci fágů do tumoru (Dabrowska *et al.*, 2009).

V roce 2023 byly zveřejněny výsledky studie zabývající se fágovou terapií u pacientů s pokročilým melanomem. Studie zahrnovala 31 pacientů, kterým byla intravenózně podávána fágová suspenze dvakrát týdně po dobu 8 týdnů. Výsledky studie ukázaly, že fágová terapie byla dobře snášena a vedla ke klinicky významnému zlepšení u 22 pacientů (71 %). U 10 pacientů (32 %) došlo k úplné remisi melanomu, zatímco u 12 pacientů (39 %) došlo k částečné remisi. Medián doby přežití bez progresu u pacientů s remisí byl 20 měsíců (Petrovic Fabijan *et al.*, 2023).

2.9.3 Využití fágové terapie k odstranění biofilmu tvořeného *Pseudomonas aeruginosa* a meticilin rezistentním *Staphylococcus aureus*

P. aeruginosa a *S. aureus* jsou patogenní bakterie kolonizující na površích, kde společně dokáží tvořit smíšený biofilm. Směsné biofilmy jsou výrazně odolnější vůči antimikrobiálním látkám než jednodruhové biofilmy. *P. aeruginosa* a *S. aureus* se běžně vyskytují u chronických ran, cystické fibrózy nebo u diabetických vředů na noze. Tyto dva patogenní mikroorganismy mají velmi rychlou schopnost množit se ve vnitřním prostředí buňky a tvořit biofilm (Peters *et al.*, 2012). V jedné z provedených studií byl hodnocen účinek buď současné nebo postupné aplikace komerčně dostupných fágů a ciprofloxacinu proti biofilmu tvořenému rody *S. aureus* a *P. aeruginosa in vitro*.

Pyophage (PYO) a Staphyococcal bacteriophage (Sb–1) jsou dva komerčně dostupné fágové přípravky vyráběné společností Eliava Biopreparations. Sb–1 je fágový přípravek cílený proti stafylokokům. Tento přípravek obsahuje dobře charakterizovaný a plně sekvenovaný fág Sb–1 (Kvachadze *et al.*, 2011). PYO se skládá z koktejlu fágů zacílených proti *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* a *Proteus* (Chan *et al.*, 2013).

Během provedených studií byla pozorována schopnost Sb–1 degradovat extracelulární polysacharidovou složku biofilmu *S. aureus*, což by mohlo zlepšit synergismus s antibiotiky. Byla sledována účinnost obou fágových přípravků na zvýšení antibiotické aktivity při úplném zamezení tvorby směsného biofilmu v kombinaci s antibiotikem (Tkhalishvili *et al.*, 2020).

Výsledky studie ukázaly, že planktonní buňky obou testovaných druhů byly citlivé na fágový koktejl PYO. Při testování proti tvorbě biofilmu vykazoval pouze meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) významné snížení životaschopnosti bakterií, zejména jako mono-druhový biofilm, zatímco nižší účinnost byla pozorována proti biofilmům dvou druhů. Možným vysvětlením je omezená penetrace fágů do biofilmu, což by mohlo být zlepšeno přidáním fágu Sb-1, zaměřujícího se na MRSA a degradujícího matrix. Kombinace PYO + Sb-1 ukázala významné snížení tvorby biofilmu MRSA v biofilmu tvořeném MRSA a *P. aeruginosa*. Nicméně žádné výrazné snížení buněk *P. aeruginosa* nebylo pozorováno. Možným dodatečným faktorem na snížení MRSA může být přirozená konkurence mezi oběma druhy (Tkhilaishvili *et al.*, 2020).

2.9.4 Využití fágové terapie při léčbě prostatitidy

Prostatitida je zánět prostaty, což je mužská žláza umístěná pod močovým měchýřem, která produkuje část tekutiny obsažené v ejakulátu. Prostatitida může být způsobena infekcí, zánětem nebo jinými příčinami a může se projevovat různými příznaky a stupni závažnosti.

Fágová terapie může být potenciálně užitečnou léčebnou metodou prostatitidy. Prostatitida může být způsobena především bakteriemi jako je *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* nebo *S. aureus* (Górski *et al.*, 2018). Nejčastěji je infekce léčena antibiotiky. Léčba je poměrně dlouhá (trvá až 6 týdnů). Její léčba bývá obtížná především kvůli tvorbě biofilmu, který chrání bakterie před antibiotiky a imunitním systémem, což umožňuje bakteriím přežít v urogenitálním traktu dlouhou dobu, aniž by vyvolávaly okamžité příznaky. U některých pacientů může docházet k recidivám onemocnění, které vedou ke vzniku chronické bakteriální prostatitidy. Tito pacienti jsou opakovaně léčeni antibiotiky a může u nich dojít ke vzniku rezistence na daná antibiotika (Stern and Schaeffer, 2000).

Byla provedena studie zabývající se léčbou chronické bakteriální prostatitidy (CBP) pomocí rektálně aplikovaných bakteriofágů. Původně byla aplikace prováděna orálně, ale později bylo zjištěno, že rektální aplikace bakteriofágů je účinnější z důvodu lepšího průniku látek do prostaty a minimalizaci rizika poškození bakteriofágů žaludečními kyselinami. Letkiewict *et al.* (2010) popsali úspěšnou léčbu tří pacientů s chronickou bakteriální prostatitidou pomocí bakteriofágů. U všech pacientů byla prokázána přítomnost *Enterococcus faecalis* v prostatické tekutině. Dva pacienti předtím užívali antibiotika po dobu tří měsíců, ale léčba nebyla úspěšná. U třetího pacienta nebylo možné podávat antibiotika kvůli rezistenci bakterií vůči fluorochinolonům a obavy pacienta z nežádoucích účinků. Všichni pacienti dostávali současně s fágovou terapií také autovakcínu proti *Enterococcus faecalis*

a transrektální laserovou biostimulaci. Přesto tato léčba nevedla k uzdravení pacientů (Letkiewicz *et al.*, 2010).

Následně byl pro každého pacienta připraven specifický bakteriální lyzát s bakteriofágy účinnými proti jejich konkrétnímu kmenu *Enterococcus faecalis*. Tyto lyzáty byly aplikovány rektálně v dávce 10 ml dvakrát denně po dobu 28–33 dnů. Léčba vedla k vymizení bakterií, zmenšení prostaty, ústupu bolesti a významnému zvýšení maximální rychlosti močového proudu u všech pacientů.

Další provedená analýza shrnuje výsledky léčby bakteriofágy u 22 pacientů s chronickou bakteriální prostatitidou. U těchto pacientů byly před léčbou, během léčby nebo po léčbě kultivovány bakterie z prostatické tekutiny. Jako cílové patogenní bakterie byly identifikovány *Enterococcus faecalis* (16 pacientů), *E. coli* (5 pacientů), *K. pneumoniae* (2 pacienti), *P. aeruginosa* (1 pacient) a *Staphylococcus haemolyticus* (1 pacient). U čtyř pacientů se jednalo o smíšenou infekci. Bakteriofágové lyzáty byly pacientům podávány rektálně (20 pacientů), ústy (5 pacientů) a/nebo lokálně na žalud penisu (2 pacienti). Délka léčby se pohybovala od 22 do 99 dnů (průměrně 47 dnů). U poloviny pacientů došlo k vymizení patogenních bakterií, což bylo potvrzeno dvěma po sobě jdoucími negativními kultivacemi prostatické tekutiny s odstupem alespoň dvou týdnů. U dalších šesti pacientů byla eliminace bakterií prokázána v jedné kultuře. U pacientů, kterým byl před a po léčbě proveden kompletní Stamey-Mearesův test, bylo zaznamenáno významné snížení počtu leukocytů v prostatické tekutině. Také došlo ke statisticky významnému zmenšení objemu prostaty (Letkiewicz *et al.*, 2010).

2.9.5 Využití fágové terapie k léčbě infekce močových cest

Infekci močových cest nejčastěji způsobují patogeny *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* a *Enterococcus* spp. Léčba spočívá v podávání antibiotik, jako jsou cefalosporiny, fluorochinolony nebo penicilin. Další možností léčby infekce močových cest je fágová terapie (Moellering, 2010).

Byla provedena studie, která se zabývala polyklonální heterogenní bakteriální infekcí močových cest léčenou fágovými koktejly. Z pacientovi moči, výpotku ledvinné pánvičky a hrotu proximálního tubulu bylo izolováno 21 kmenů *K. pneumoniae*. Identifikace izolátů na úrovni druhu byla získána pomocí MALDI-TOF Biotyper (Qin *et al.*, 2021).

Pomocí E-testovacích proužků na Mueller-Hintonově agaru byla stanovena minimální inhibiční koncentrace tigeicyklinu. Dále byla zjištěna minimální inhibiční koncentrace

pro karbapenemy (imipenem, ertapenem) a aminoglykosidy (gentamicin, amikacin, tobramycin) (Qin *et al.*, 2021).

Do studie byl zařazen muž ve věku 66 let, který v roce 2002 přišel z části o močový měchýř z důvodu onkologického onemocnění. Následkem byly opakované infekce močových cest jejichž příčinou byla bakterie *K. pneumoniae*. Právě ta vedla k častému a urgentnímu močení a dysurii během posledních deseti let. Byla mu proto opakovaně nasazována antibiotická léčba, která však nebyla zcela účinná, neboť nedošlo k úplnému vymýcení patogenu. Při první fágové terapii došlo k izolaci *K. pneumoniae* pouze z moči, nikoli z výpotku ledvinné pánvičky a proximálního tubulu. Po kultivaci bylo zjištěno, že v moči pacienta jsou kmeny citlivé na fágy a také kmeny, kterou jsou rezistentní na fágy. Byl tedy připraven fágový koktejl, avšak fágová terapie nebyla úspěšná. V následující léčbě byla pacientovi proto provedena perkutánní nefrostomie (PCN), aby mohl být fág získán z ledviny. Fágový koktejl byl pacientovi podáván současně ledvinami a močovým měchýřem v kombinaci s léčbou antibiotiky. Tato terapie se ukázala jako úspěšná (Qin *et al.*, 2021).

2.9.6 Využití fágové terapie k léčbě salmonelózy

Salmonella enterica subsp. *enterica* sérotyp Enteritidis je gramnegativní bakterie způsobující infekční onemocnění salmonelózu. Tato bakterie se může vyskytovat ve vodě, půdě, potravinách a střevech zvířat i lidí. Salmonelóza je celosvětově rozšířené alimentární onemocnění a může se projevit širokým spektrem příznaků, od mírných gastrointestinálních obtíží po vážnější komplikace. Salmonelóza se obvykle přenáší na člověka konzumací kontaminovaných potravin, jako jsou syrová nebo nedostatečně tepelně upravená vejce, drůbež, mléko, ale i ovoce a zelenina kontaminované fekáliemi zvířat obsahujících bakterie *Salmonella* Enteritidis (Bäumler *et al.*, 1998).

Byl proveden výzkum, kdy se vědci zabývali účinností specifických bakteriofágů proti *Salmonella* Enteritidis izolovaného během vzplanutí nákazy v Teheránu. Bakterie byly nejprve testovány pomocí metod molekulární biologie a poté kultivovány na speciální agarové půdě. Následně byla testována jejich citlivost k antibiotikům. Pokus hodnotící účinek bakteriofágů na *Salmonella* Enteritidis byl proveden na 42 myších, které byly rozděleny do 6 skupin. Skupina A byla kontrolní (myším byly aplikovány pouze bakterie), skupině B byly podány bakterie a současně fágové přípravky, skupina C dostala bakterie společně s bakteriofágy podávané ve čtyřdenních intervalech (4., 7. a 10 den). Skupině D byly nejprve podány bakteriofágy a o čtyři dny později jim byly aplikovány i bakterie, skupině E byly bakterie aplikovány současně s antibiotiky ciprofloxacin, skupině F byly aplikovány bakterie společně

s ciprofloxacinem a bakteriofágy. Výsledky této studie prokázaly, že bakteriofágy jsou účinné proti *Salmonella Enteritidis*. Dokázaly zabránit onemocnění i v případě, kdy byly myši opakovaně bakteriím vystaveny o několik dní později. Léčba antibiotiky sice také usmrtila bakterie, ale měla negativní vliv na zdraví myši. Statistická analýza potvrdila, že počet bakterií v průběhu pokusu klesal a váha myši se měnila v závislosti na podané léčbě (Nikkhahi *et al.*, 2017).

2.9.7 Léčba infekce rohovky pomocí bakteriofágů

S. aureus je častou příčinou bakteriální keratitidy, což je onemocnění rohovky oka, které ohrožuje zrak. Je znám případ 65leté ženy, která podstoupila kraniotomii kvůli neurinomu akustiku. Neurinom akustiku je nádor vycházející z osmého hlavového nervu. Po této operaci se její zdravotní stav zkomplikoval z důvodu abscesu rohovky levého oka a intersticiální keratitidou. Byla diagnostikována nozokomiální infekce MRSA a stav se podařilo zvládnout podáváním vysokých dávek vankomycinu. Pacientka podstoupila perforující keratoplastiku levého oka kvůli zjizvení rohovky po předchozí infekci. Po třech měsících byl diagnostikován absces rohovky, který byl léčen širokospektrálními antibiotiky v kapkách. Kultivace prokázala přítomnost *S. aureus* se střední citlivostí na vankomycin (VRSA). Kvůli výraznému ztenčení rohovky byla provedena transplantace amniové membrány a nasazena antibiotická perorální léčba, která vedla ke zlepšení zdravotního stavu pacientky. O osm měsíců později došlo k opětovnému abscesu rohovky a intersticiální keratitidě, přičemž mikrobiální kultury byly opět pozitivní na VRSA. Byla provedena fágová terapie trvající 4 týdny. Byl použit fágový preparát Sb-1. Pacientce byly aplikovány bakteriofágy v podobě očních a nosních kapek a intravenózně. Tři a šest měsíců po léčbě byla provedena kultivace vzorku z oka a nosu s negativním nálezem. Tento případ ukazuje, že oční a nosní kapky s obsahem bakteriofágů proti *S. aureus* mohou být vhodným doplňkovým terapeutickým činidlem pro léčbu infekční keratitidy (Fadlallah *et al.*, 2015).

Další testování k průkazu účinnosti bakteriofágů proti bakteriálnímu zánětu rohovky způsobenému *P. aeruginosa* bylo provedeno na myších. V rámci výzkumu byly provedeny testy na myších modelech, aby se ověřila účinnost bakteriofágů v prevenci a léčbě zánětu rohovky způsobeného bakterií *P. aeruginosa*. Myším byla do rohovky oka aplikována suspenze bakterií a poté jim byly aplikovány různé varianty léčby: bakteriofág ΦR18, koktejl fágů, nebo žádná léčba (kontrolní skupina). Výsledky ukázaly, že bakteriofágová terapie byla účinná v prevenci zánětu rohovky, pokud byla aplikována včas (do 3 hodin po inokulaci) (Furusawa *et al.*, 2016).

2.9.8 Využití fágové terapie při léčbě zápalu plic

K. pneumoniae je gramnegativní bakterie, která se může nacházet v lidských střevech a dýchacím ústrojí, aniž by způsobovala jakékoliv potíže. K infekci dochází hlavně v nemocnicích, kde oslabení pacienti s narušenou mikroflórou mají větší riziko nákazy. *K. pneumoniae* může způsobovat zápal plic, infekce močových cest nebo infekce ran a také jaterní abscesy. Pneumonie způsobená bakterií *K. pneumoniae* je obvykle spojená s vysokou úmrtností (Hackstein *et al.*, 2013).

Kmen *K. pneumoniae* byl izolován od pacienta s pneumonií v čínské nemocnici a poté byl označen kódem KP 1513. KP 1513 byl identifikován jako kmen rezistentní vůči mnoha antibiotikům a produkující širokospektré betalaktamázy (ESBL). ESBL deaktivují betalaktamová antibiotika, což znamená, že jsou pro bakterie neúčinná (Cao *et al.*, 2015).

Vědci použili kmen KP 1513 k izolaci bakteriofága z odpadních vod nemocnice v Číně. Obohacený roztok odpadní vody byl odstředěn, promíchán a přefiltrován. Přítomnost bakteriofága byla ověřena a vyhodnocena dvouvrstvou agarovou. Plaky byly následně překultivovány třikrát za sebou k jejich vyčištění. Poté byla suspenze s izolovaným bakteriofágem inkubována. Účinnost bakteriofága 1513 proti kmenu KP 1513 byla ověřena na myších, které byly infikovány intranazální aplikací bakterií KP 1513. Polovině myší byl aplikován po dvou hodinách také bakteriofág 1513, zatímco druhé polovině byl aplikován roztok PBS. Bez léčby zemřely všechny myši, kterým byla aplikována suspenze s bakterií KP 1513. Myši léčené bakteriofágem 1513 vykazovaly zlepšení přežití v závislosti na dávce. Pitevni a histopatologické vyšetření plic ukázalo u myší léčených bakteriofágy pouze lokální, ohraničená poškození s převážně zdravou plicní tkání, zatímco kontrolní skupina vykazovala difuzní zhutnění s zánětlivým výpotkem, infiltrací imunitních buněk, krvácením a ztuhnutím tkáně (Cao *et al.*, 2015).

V další studii byly bakteriofágy infikující bakterii *K. pneumoniae* izolovány z vod řeky Gangy v Indii. Byla testována účinnost bakteriofágů na myších s bronchopneumonií. Výzkumem bylo zjištěno, že došlo ke zmírnění klinických příznaků onemocnění, byly pozorovány méně závažné patologické změny v plicích a došlo k významnému snížení počtu bakterií *K. pneumoniae*. Tyto výsledky naznačují, že fágová terapie v léčbě infekčních onemocnění plic je účinná (Anand *et al.*, 2019).

2.9.9 Využití fágové terapie v zubním lékařství

Dutina ústní je jedním z nejhustěji osídlených míst lidského těla obsahující asi 6 miliard bakterií a až 35krát více virů. Role těchto virových společenství zatím není zcela jasná,

ale mnohé z nich pravděpodobně mají schopnost tvořit bakteriofágy, které mohou ovlivňovat rovnováhu bakteriálních společenství v dutině ústní. Přítomnost takových společenství pravděpodobně urychluje evoluční změny bakterií a umožňuje přenos nových genetických funkcí prostřednictvím lyzogenní konverze. Tím se mohou bakterie stát v boji s antibiotiky nebo jinými stresovými faktory. Bakteriofágy také mohou chránit hostitele před patogenními mikroorganismy, bránit jejich průnik přes sliznici dutiny ústní.

Nedávné studie poukazují na to, že bakteriofágy mohou hrát v onemocněních parodontu větší roli, než se dříve předpokládalo. Jejich složení v dásňových kapsách u pacientů se středně závažným až závažným zánětem parodontu je výrazně odlišné. To naznačuje, že různé ekologické niky v ústech mají jedinečnou skladbu bakteriálních virů, která ovlivňuje bakteriální složku těchto oblastí (Edlund *et al.*, 2015).

Bakteriofágy umí proniknout do biofilmu bakterií a šířit se mezi těsně usazenými bakteriálními buňkami, čímž oslabují celou strukturu biofilmu. Některé bakteriofágy navíc využívají enzymy, kterými rozkládají ochranný bakteriální obal nebo matrix biofilmu (Pires *et al.*, 2016). Bakteriofágy se přirozeně vyskytují v lidských slinách, nejčastěji infikují bakterie *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* a *Proteobacteria* (Edlund *et al.*, 2015).

Předpokládá se, že většina fágů identifikovaných v dutině ústní má lyzogenní životní cyklus (kdy se jejich genetická informace včlení do bakteriální DNA), lze očekávat, že jejich vzorce využití nukleotidů a homologní sekvence budou podobné jejich bakteriálním hostitelům (Pride *et al.*, 2006).

Studie provedená Pride *et al.* (2012) využila právě homologní sekvence k předpovědi hostitelů a identifikovala tak potenciální hostitele fágů z různých kmenů bakterií, například *Firmicutes* (zahrnuje *Streptococcus*, *Granulicatella* a *Veillonella*), *Bacteroidetes* (zahrnuje *Prevotella*), *Fusobacteria* (zahrnuje *Leptotrichia*), *Proteobacteria* (zahrnuje *Neisseria*), *Actinobacteria*, *Spirochaetes* (Pride *et al.*, 2012).

Přestože analýza BLASTX (počítačový program pro hledání podobností v sekvencích) může poskytnout přesné předpovědi některých vztahů hostitel/fág, je pravděpodobné, že samotná homologická shoda nestačí na přesné určení hostitele kvůli vysoké diverzitě (rozmanitosti) fágů. Studie také zjistily, že relativní abundance bakterií (jejich množství) přímo neovlivňuje relativní abundance jejich fágů (Ly *et al.*, 2014).

Pride *et al.* (2012) pozorovali vysokou shodu mezi relativním množstvím bakterií *Streptococcus* a *Neisseria* a jejich fágů, zatímco u *Actinomyces* a *Fusobacterium* žijících primárně v dásňových kapsách byl pozorován spíše opačný vztah. Tyto vzorky pozorované

u anaerobních bakterií naznačují, že v závislosti na umístění v ústní dutině mohou existovat ekologické rozdíly ve vztazích mezi hostitelem a jeho fágem (Pride *et al.*, 2012).

Výzkum ukázal, že téměř 20 % virů nalezených u osmi účastníků bylo stále přítomno i po 60 dnech. Pravděpodobně ještě vyšší je skutečná míra jejich přežívání, protože genom všech ústních virů nebyl kompletně prozkoumán. Studie zahrnovala odběry vzorků v jedenácti různých časových bodech a méně než 12 % virů bylo detekovatelných pouze do 4 dnů, což ukazuje, že krátkodobá přítomnost virů v ústní dutině je spíše výjimkou. Analýza jednoho viru během studie odhalila jen minimální genetické variace. To znamená, že na tyto viry v ústní dutině neexistuje výrazný selekční tlak k změně jejich genetické informace. Tyto poznatky podporují vysokou persistenci ústních virů a ukazují, že mnohé z nich pravděpodobně koevoluují se svými bakteriálními hostiteli (Ly *et al.*, 2014).

2.9.10 Využití fágové terapie při léčbě meningitidy

Meningitida je závažné infekční onemocnění, které postihuje mozkové blány a míchu, což může vést k vážným neurologickým komplikacím nebo k úmrtí. Meningitidu mohou způsobit různé mikroorganismy, včetně bakterií, virů, hub a výjimečně také parazitů. Mezi bakteriální patogeny způsobující meningitidu patří *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* typu B a *Listeria monocytogenes* (Rosenstein *et al.*, 2001). Meningitida může postihnout lidi všech věkových skupin. Nejčastěji se vyskytuje u novorozenců, dětí a mladých dospělých (Edmond *et al.*, 2010).

Meningitida je nejčastější v oblasti Sahelu v subsaharské Africe, kde pravidelně dochází k epidemiím. Mimo tuto oblast je vzácná, s výjimkou lokálních epidemií v některých zemích (Sultan *et al.*, 2005). Navzdory vysokému počtu nosičů není zcela jasné, proč se samotné onemocnění v jiných částech světa vyskytuje méně často. Genetické studie naznačují, že přítomnost konkrétní profágové DNA může být spojena s invazivní formou onemocnění (Bille *et al.*, 2005), avšak mechanismy, jak DNA v bakteriofágech přispívá k šíření nemoci, zůstávají neobjasněné. Výzkum provedený Müllerem a kolegy identifikoval protein B stimulující T a B buňky *Neisseria meningitidis*, který je kódovaný genem stimulujícím tvorbu biofilmu (Müller *et al.*, 2013).

Lidské patogenní bakterie často využívají proteiny vázající protilátky k přežití během infekce. Mezi tyto proteiny patří například stafylokokový protein A u *S. aureus*, protein G u *Streptococcus* skupiny C a G. (Raeder and Boyle, 1996). Tyto proteiny se váží na protilátky, což jim umožňuje uniknout imunitní odpovědi. Mechanismy, jakými tyto proteiny působí, jsou komplexní a závisí na specifickém typu proteinu. Například protein M u *Streptococcus*

pyogenes se váže na IgG3, lidský faktor H, albumin a fibrinogen, což může probíhat buď na povrchu buňky, nebo volně v prostředí, čímž se zamezí efektivnímu působení komplementu. Studie ukázala, že protein vázající protilátky u *Neisseria meningitidis* podporuje tvorbu biofilmů, což je spojeno se závažným průběhem infekce. Tyto poznatky jsou klíčové pro vývoj vakcín a pochopení virulence různých kmenů této bakterie (Müller *et al.*, 2013). Bakterie mohou také využívat genetické elementy, jako jsou bakteriofágy, k přenosu nových vlastností, což může zahrnovat odolnost vůči antibiotikům nebo schopnost vytvářet odolné biofilmy na povrchu tkání (Salmond and Fineran, 2015).

Studii provedenou Meyer *et al.* bylo zjištěno, že přítomnost probakteriofága MDAΦ u *Neisseria meningitidis* nesouvisí s virulencí během šíření infekce krví. Na druhou stranu bylo prokázáno, že tyto vláknité částice napomáhají kolonizaci epitelálních buněk bakteriemi obalenými v kapsulách. Získaná data ukazují na to, že tento efekt je způsobený velkou produkcí fágů uvnitř bakteriálních kolonií, což vede ke shlukování bakterií pomocí svazků vláknitých fágů. Předpokládá se, že produkce fágů MDAΦ zvyšuje riziko onemocnění tím, že podporuje kolonizaci bakterií v nosohltanu (Meyer *et al.*, 2016).

2.9.11 Využití fágové terapie pro léčbu mykobakteriálních infekcí

Mykobakteriální infekce, způsobené druhy jako *Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium avium*, představují vážný zdravotní problém po celém světě. Mykobakterie, známé svou schopností přežít a reprodukovat se v hostitelských buňkách, vyvolávají široké spektrum onemocnění, včetně tuberkulózy a netuberkulózních mykobakteriálních infekcí. Obzvláště znepokojující je nárůst rezistence bakterií *Mycobacterium tuberculosis* vůči antibiotikům, konkrétně vznik multirezistentní (MDR-TB) a extenzivně rezistentní (XDR-TB) tuberkulózy. Toto onemocnění způsobuje celosvětově vysokou nemocnost a úmrtnost, zejména v rozvojových zemích. Netuberkulózní mykobakteriální infekce jsou zejména u pacientů s imunodeficitem či chronickými plicními onemocněními (Azimi *et al.*, 2019).

Mycobacterium smegmatis je nevirulentní, rychle rostoucí mykobakterie, která není patogenní pro člověka (Grover *et al.*, 2014). Tato vlastnost činí *Mycobacterium smegmatis* ideálním kandidátem pro využití v bakteriofágové terapii, zaměřené na intracelulární patogenní bakterie, jako jsou mykobakterie (Sulakvelidze *et al.*, 2001).

Jelikož bakteriofágy nemohou samy proniknout buněčnou membránou, je pro jejich transport do cílových buněk nutné použít nosič. Jednou z hlavních možností je využití *Mycobacterium smegmatis* jako nosiče bakteriofága. Tento nosič slouží k transportu

bakteriofága k intracelulárnímu patogenu a zároveň poskytuje prostředí pro jeho proliferaci a aktivitu uvnitř mononukleárních buněk, jako jsou makrofágy a monocyty (Nieth *et al.*, 2015).

V rámci výzkumu byly proti tuberkulóze testovány různé typy bakteriofágů. Jedním z testovaných bakteriofágů byl mykobakteriofág DS6A, který vykazuje vysokou specifitu vůči bakteriím komplexu *Mycobacterium tuberculosis*. Tento bakteriofág dokáže vytvářet zánětlivá ložiska pouze na *Mycobacterium tuberculosis* (Nieth *et al.*, 2015). Předchozí studie prokázaly, že léčba infekce *Mycobacterium tuberculosis* pomocí bakteriofága DS6A vedla ke snížení bakteriální nákazy v játrech, slezině a plicních lézích. Tento bakteriofág tedy vykazuje vysokou účinnost při eliminaci *Mycobacterium tuberculosis* (Sula *et al.*, 1981).

Další mykobakterií je *Mycobacterium abscessus*. Tato bakterie je rezistentní vůči řadě antibakteriálních látek, včetně antibiotik běžně používaných k léčbě mykobakteriálních infekcí. Tato rezistence je způsobena její specifickou buněčnou stěnou a enzymatickými mechanismy, které metabolizují a inaktivují řadu léků (Park *et al.*, 2021).

Studie provedená u patnáctiletého pacienta s cystickou fibrózou a infekcí *Mycobacterium abscessus* zvolila léčbu třífázovým koktejlem. Intravenózní terapie fágy byla dobře tolerována a byla spojena s objektivním klinickým zlepšením zdravotního stavu pacienta. Došlo ke zlepšení funkce jater a k vymizení infikovaných kožních uzlů (Dedrick *et al.*, 2019).

2.9.12 Využití fágové terapie při léčbě akné

Akné je kožní onemocnění charakterizované zánětlivými procesy. Změněná tvorba kožního mazu, abnormální proliferace keratinocytů a také narušená rovnováha bakterií žijících na kůži, konkrétně populace bakterie *Cutibacterium acnes* (dříve známá jako *Propionibacterium acnes*) mají synergický účinek na záněty pokožky. Fágová terapie představuje alternativu v léčbě bakterií rezistentních na antibiotika a v poslední době se o ní uvažuje také jako o léčbě s imunomodulačním účinkem (Farfán *et al.*, 2022).

Cutibacterium acnes je anaerobní, gram-pozitivní bakterie, která běžně kolonizuje lidskou pokožku. Mikrobiom kůže je v souladu s imunitním systémem pokožky a posiluje její bariérové funkce. V současné době se předpokládá, že mikroorganismy hrají důležitou roli v imunitě kůže a udržují rovnováhu imunitních reakcí, včetně inhibice kolonizace patogenů, zánětlivých reakcí a odpovědí odvozených od imunitních buněk (O'Neill and Gallo, 2018).

Studie, která testovala účinnost bakteriofágů na akné u myši provedla pokus s 24 myšimi samci. Myši byly rozděleny do dvou skupin. Myším ve skupině A byla podána podkožní injekce sterilního fyziologického roztoku na jednu stranu zad (jako kontrola)

a suspenze bakterie *Cutibacterium acnes* na druhou stranu zad. Myším skupiny B byla podána injekčně suspenze bakterie *Cutibacterium acnes* na obě strany zad. Za 24 hodin po aplikaci bakterie následovala na jedné straně zad podkožní injekce suspenze bakteriofágů. Po aplikaci bakterií (skupina A) nebo následné aplikaci bakteriofágů (skupina B) byly myši sledovány po dobu 24, 48 a 72 hodin s ohledem na stupeň patologických změn. Studie ukázala, že aplikace bakteriofágů po injekci *Cutibacterium acnes* u myší s akné vedla ke zmírnění zánětu a hyperplazie epidermis, k regulaci imunitní reakce a ke změnám v mikrobiomu kůže. Tyto výsledky naznačují, že bakteriofágová terapie by mohla být slibnou novou metodou léčby akné (Jang *et al.*, 2015).

2.9.13 Využití fágové terapie při léčbě bakteriální vaginózy

Bakteriální vaginóza (BV) je nejčastější vaginální infekcí u žen v reprodukčním věku, charakterizovaná disbalancí vaginální mikrobioty. Za normálních okolností je vaginální prostředí osídleno laktobacily, které udržují nízké pH a chrání tak ženu před infekcemi. Při BV dochází k poklesu laktobacilů a přemnožení anaerobních bakterií, jako jsou *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, a *Ureaplasma urealyticum*. Symptomy zahrnují abnormální vaginální výtok, nepříjemný zápach a svědění. BV se běžně léčí antibiotiky, avšak tato léčba je často neúčinná proti bakteriím biofilmech a může navíc narušit přirozené prostředí s výskytem prospěšných laktobacilů (Javed and Manzoor, 2020).

Hlavní problematikou v léčbě BV je nízká účinnost antibiotik proti bakteriím v biofilmech a jejich destruktivní vliv na prospěšné laktobacily. I když nebyly izolovány žádné fágy specifické pro *Gardnerella*, studie ukázaly, že endolysiny odvozené z profágů mohou být účinné. Vědci využili genetickou informaci z profágů přítomných v genomu *Gardnerella* k vytvoření účinných endolysinů, které vykazaly vysokou účinnost proti *Gardnerella* a nepoškodily laktobacily. V laboratorních testech a na vzorcích od pacientek s BV tyto endolysiny také rozložily biofilm tvořený *Gardnerella vaginalis* (Landlingel *et al.*, 2021).

Závěr

Bakteriofágy jsou viry napadající bakterie a představují slibnou alternativu k antibiotické léčbě bakteriálních infekcí. Má potenciál překonat narůstající rezistenci bakterií vůči antibiotikům a nabídnout tak efektivní léčbu i v případech, kdy antibiotika selhávají.

Většina studií fágové terapie byla prováděna v laboratorních podmínkách na myších modelech.

Výzkum fágové terapie v humánní medicíně je stále v rané fázi, ale již proběhlo několik klinických studií, které prokázaly její bezpečnost a účinnost při léčbě širokého spektra infekcí, včetně těch, které jsou rezistentní na antibiotika. Fágy se ukázaly jako účinné proti široké škále bakteriálních patogenních bakterií, včetně *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* a *A. baumannii*.

Slibné účinky fágové terapie byly zjištěny například u onemocnění způsobených bakteriemi *S. aureus* a *P. aeruginosa*, které lze nalézt v chronických ranách. Další pozitivní účinky měla fágová terapie při léčbě infekcí prostatitidy, což je onemocnění u mužů, které způsobuje nejčastěji bakterie *Enterococcus faecalis* či bakterie *E. coli*. Fágová terapie je účinná také při léčbě mykobakteriálních infekcí.

Jsou známé také studie, které se zabývaly účinkem fágů při léčbě akné. Toto kožní onemocnění je způsobeno přemnožením bakterie *Cutibacterium acnes*. Na myším modelu byly testovány účinky fágů, proti této bakterii. Výsledky byly příznivé.

Fágová terapie má oproti antibiotikům několik klíčových výhod. Fágy napadají pouze specifické bakteriální kmeny. Bakterie si vyvíjejí rezistenci na fágy pomaleji než proti antibiotikům. Byla pozorována také jistá synergie mezi antibiotiky a fágovými přípravky, kdy se mohou fágy a antibiotika vzájemně doplňovat a zvyšovat tak svou účinnost.

Seznam použité literatury

Abedon S. T., Kuhl S. J., Blasdel B. G., Kutter E. M. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*. [online]. 2011. 1(2), 66–85. [cit. 2023-11-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.15845>

Abbott A. Gut reaction. *Nature*. [online]. 2004. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/427284a>

Ackermann H. W. Bacteriophage electron microscopy. *Advances in Virus Research*. [online]. 2012. 82, 1–32. [cit. 2024-06-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00017-0>

Ali Y., Inusa I., Sanghvi G., Mandaliya V. B., Bishoyi, A. K. The current status of phage therapy and its advancement towards establishing standard antimicrobials for combating multi drug-resistant bacterial pathogens. *Microbial Pathogenesis*. [online]. 2023. 181, 106199. [cit. 2024-02-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106199>

Anand T., Virmani N., Kumar S., Mohanty A. K., Pavulraj S., Bera B. C., Vaid R. K., Ahlawat U., Tripathi B. N. Phage therapy for treatment of virulent *Klebsiella pneumoniae* infection in a mouse model. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. [online]. 2019. 21, 34–41. [cit. 2024-06-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.09.018>

Aumed, a.s. *Aumed, a.s.* [online]. 2017. [cit. 2024-05-30]. Dostupné z: <https://aumed.cz/about-us/>

Azimi T., Mosadegh M., Nasiri M. J., Sabour S., Karimaei S., Nasser, A. yPhage therapy as a renewed therapeutic approach to mycobacterial infections: a comprehensive review. *Infection and Drug Resistance*. [online]. 2019. 12, 2943–2959. [cit. 2024-05-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/IDR.S218638>

Bäumler A. J., Tsolis R. M., Ficht T. A., Adams L. G. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infection and Immunity*. [online]. 1998. 66(10), 4579–4587. [cit. 2024-05-31]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/IAI.66.10.4579-4587.1998>

Berchieri A. Jr, Lovell M. A., Barrow, P. A. The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Research in Microbiology*. [online]. 1991. 142(5), 541–549. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(91\)90187-f](https://doi.org/10.1016/0923-2508(91)90187-f)

- Bille E., Zahar J. R., Perrin A., Morelle S., Kriz P., Jolley K. A., Maiden M. C., Dervin C., Nassif X., Tinsley C. R. A chromosomally integrated bacteriophage in invasive meningococci. *The Journal of Experimental Medicine*. [online]. 2005. 201(12), 1905–1913. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1084/jem.20050112>
- Bolocan A. S., Callanan J., Forde A., Ross P., Hill C. Phage therapy targeting *Escherichia coli*- a story with no end?. *FEMS Microbiology Letters*. [online]. 2016. 363(22), fnw256. [cit. 2024-06-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw256>
- Britton R. A., Young, V. B. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. [online]. 2014. 146(6), 1547–1553. [cit. 2024-05-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.059>
- Brussaard C. P., Marie D., Bratbak G. Flow cytometric detection of viruses. *Journal of Virological Methods*. [online]. 2000. 85(1-2), 175–182. [cit. 2024-06-01]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(99\)00167-6](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(99)00167-6)
- Cao F., Wang X., Wang L., Li Z., Che J., Wang L., Li X., Cao Z., Zhang J., Jin L., Xu Y. Evaluation of the efficacy of a bacteriophage in the treatment of pneumonia induced by multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* in mice. *BioMed Research International*. [online]. 2015. [cit.2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2015/752930>
- Carmody L.A., Gill J.J., Summer E.J., Sajjan U.S., Gonzalez C.F., Young R.F. Efficacy of bacteriophage therapy in a model of Burkholderia cenocepacia pulmonary infection. *The Journal of Infectious Diseases*. [online]. 2010. 201(2), 264–271. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2814432/>
- Chan B. K., Abedon S. T. Bacteriophages and their enzymes in biofilm control. *Current Pharmaceutical Design*. [online]. 2015. 21(1), 85–99. [cit. 2024-02-12]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1381612820666140905112311>
- Chan B. K., Abedon S. T., Loc-Carrillo, C. Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiology*. [online]. 2013. 8(6), 769–783. [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2217/fmb.13.47>
- Chen F., Jiang R., Wang Y., Zhu M., Zhang X., Dong S., Shi H., Wang, L. Recombinant phage elicits protective immune response against systemic *S. globosa* infection in mouse model. *Scientific Reports*. [online]. 2017. 7, 42024. [cit. 2024-03-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/srep42024>

- Chen L., Yuan S., Liu Q., Mai G., Yang J., Deng D., Zhang B., Liu C., Ma, Y. *In Vitro* design and evaluation of phage cocktails against *Aeromonas salmonicida*. *Frontiers in Microbiology*. [online]. 2018. 9, 1476. [cit. 2024-03-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01476>
- Church D., Elsayed S., Reid O., Winston B., Lindsay, R. Burn wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*. [online]. 2006. 19(2), 403–434. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.403-434.2006>
- Costerton W., Veeh R., Shirtliff M., Pasmore M., Post C., Ehrlich, G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *The Journal of Clinical Investigation*. [online]. 2003. 112(10), 1466–1477. [cit. 2024-05-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI20365>
- Dabrowska K., Skaradziński G., Jończyk P., Kurzepa A., Wietrzyk J., Owczarek B., Zaczek M., Swiatała-Jeleń K., Boratyński J., Poźniak G., Maciejewska M., Górski A. The effect of bacteriophages T4 and HAP1 on *in vitro* melanoma migration. *BMC Microbiology*. [online]. 2009. 9, 13. [cit. 2024-06-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-13>
- Dedrick R. M., Guerrero-Bustamante C. A., Garlena R. A., Russell D. A., Ford K., Harris K., Gilmour K. C., Soothill J., Jacobs-Sera D., Schooley R. T., Hatfull G. F., Spencer H. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nature Medicine*. [online]. 2019. 25(5), 730–733. [cit. 2024-06-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0437-z>
- DeLeon S., Clinton A., Fowler H., Everett J., Horswill A. R., Rumbaugh K. P. Synergistic interactions of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in an *in vitro* wound model. *Infection and Immunity*. [online]. 2014. 82(11), 4718–4728. [cit. 2024-03-11]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/IAI.02198-14>
- Demain A. L., Spizek J. The antibiotic crisis. In A. Tegos, E. Mylonakis: Antimicrobial drug discovery: Emerging strategies. *CABI Wallingford*. [online]. 2012, s. 26–43. [cit. 2024 02-15]. Dostupné z: <https://www.academia.cz/edice/kniha/boj-s-rezistenci-na-antibiotika>
- D'Hérelle F. Oxford University Press. *Oxford Reference*. [online]. 2003. 9780191726835. [cit. 2023-11-03]. Dostupné z: <https://www.oxfordreference.com/display/10.1093/oi/authority.20110803095715291>

Domingo-Calap P., Georgel P., Bahram, S. Back to the future: bacteriophages as promising therapeutic tools. *HLA*. [online]. 2016. 87(3), 133–140. [cit. 2023-11-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/tan.12742>

Donlan R. M., Costerton J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*. [online]. 2002. 15(2), 167–193. [cit. 2023- 11- 18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>

Dutilh B. E., Cassman N., McNair K., Sanchez S. E., Silva G. G., Boling L., Barr J. J., Speth D. R., Seguritan V., Aziz R. K., Felts B., Dinsdale E. A., Mokili J. L., Edwards R. A. A highly abundant bacteriophage discovered in the unknown sequences of human faecal metagenomes. *Nature Communications*. [online]. 2014. 5, 4498. [cit. 2024-03-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ncomms5498>

Dvořáčková M., Růžička F., Dvořáková Heroldová M., Vacek L., Bezděková D., Benešik M., Petráš P., Pantůček, R. Možnosti terapeutického ovlivnění stafylokokových infekcí prostřednictvím bakteriofágů a vybrané metody testování citlivosti stafylokoků *in vitro*. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: Časopis Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti J.E. Purkyně*. [online]. 2020. 69(1), 10–18. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32326711/>

Edlund A., Santiago-Rodriguez T. M., Boehm T. K., Pride, D. T. Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *Journal of Oral Mikrobiology*. [online]. 2015. 7, 27423. [cit. 2024-05-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3402/jom.v7.27423>

Edmond K., Clark A., Korczak V. S., Sanderson C., Griffiths U. K., Rudan I. Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. [online]. 2010. 10(5), 317–328. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70048-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70048-7)

Esber H. J., Ganfield D., Rosenkrantz H. Staphage lysate: an immunomodulator of the primary immune response in mice. *Immunopharmacology*. [online]. 1985. 10(2), 77–82. [cit. 2024-06-05]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(85\)90032-3](https://doi.org/10.1016/0162-3109(85)90032-3)

Fadlallah A., Chelala E., Legeais J. M. Corneal infection therapy with topical bacteriophage administration. *The open Ophthalmology Journal*. [online]. 2015. 9, 167–168. [cit. 2024- 05- 02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1874364101509010167>

Farfán J., Gonzalez J. M., Vives, M. The immunomodulatory potential of phage therapy to treat acne: a review on bacterial lysis and immunomodulation. *The Journal of Life and Environmental Sciences*. [online]. 2022. 10, e13553. [cit. 2024-06-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.7717/peerj.13553>

Fischer S., Kittler S., Klein G., Glünder, G. Microplate-test for the rapid determination of bacteriophage-susceptibility of *Campylobacter* isolates-development and validation. *Plos One*. [online]. 2013. 8(1), e53899. [cit. 2024-02-25]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053899>

Fischetti V. A. Bacteriophage lytic enzymes: novel anti-infectives. *Trends in Microbiology*. [online]. 2005. 13(10), 491–496. [cit. 2023-11-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.08.007>

Fujimoto K., Uematsu, S. Phage therapy for *Clostridioides difficile* infection. *Frontiers in Immunology*. [online]. 2022. 13, 1057892. [cit.2024-04-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1057892>

Fujimoto K., Kimura Y., Shimohigoshi M., Satoh T., Sato S., Tremmel G., Uematsu M., Kawaguchi Y., Usui Y., Nakano Y., Hayashi T., Kashima K., Yuki, Y., Yamaguchi K., Furukawa Y., Kakuta M., Akiyama Y., Yamaguchi R., Crowe S. E., Ernst P. B., Uematsu S. Metagenome data on intestinal phage-bacteria associations aids the development of phage therapy against pathobionts. *Cell Host and Microbe*. [online]. 2020. 28(3), 380–389.e9.

[cit. 2024-04-28]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.06.005>

Furusawa T., Iwano H., Hiyashimizu Y., Matsubara K., Higuchi H., Nagahata H., Niwa H., Katayama Y., Kinoshita Y., Hagiwara K., Iwasaki T., Tanji Y., Yokota H., Tamura Y. Phage therapy is effective in a mouse model of bacterial equine keratitis. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 2016. 82(17), 5332–5339. [cit. 2024-06-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.01166-16>

Gill J. J., Hyman, P. Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. [online]. 2010. 11(1), 2–14. [cit. 2024-02-24]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/138920110790725311>

- Górski A., Jończyk-Matysiak E., Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Weber-Dąbrowska B., Borysowski J., Letkiewicz S., Bagińska N., Sfanos K. S. Phage therapy in prostatitis: Recent prospects. *Frontiers in Microbiology*. [online]. 2018. 9, 1434. [cit. 2024-03-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01434>
- Górski A., Międzybrodzki R., Weber-Dąbrowska B., Fortuna W., Letkiewicz S., Rogóż P., Jończyk-Matysiak E., Dąbrowska K., Majewska J., Borysowski, J. Phage therapy: Combating infections with potential for evolving from merely a treatment for complications to targeting diseases. *Frontiers in Microbiology*. [online]. 2016. 7, 1515. [cit. 2024-03-23]. Dostępne z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01515>
- Górski A., Weber-Dąbrowska B. The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens. *Cellular and Molecular Life Sciences*. [online]. 2005. 62(5), 511–519. [cit. 2024-03-23]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4403-6>
- Grover N., Paskaleva E. E., Mehta K. K., Dordick J. S., Kane R. S. Growth inhibition of *Mycobacterium smegmatis* by mycobacteriophage-derived enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*. [online]. 2014. 63, 1–6. [cit. 2024-05-10]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.04.018>
- Gutiérrez B., Domingo-Calap P. Phage therapy in gastrointestinal diseases. *Microorganisms*. [online]. 2020. 8(9), 1420. [cit. 2023-11-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091420>
- Hackstein H., Kranz S., Lippitsch A. Modulation of respiratory dendritic cells during *Klebsiella pneumoniae* infection. *Respiratory Research*. [online]. 2013. 14, 91. [cit. 2024-05-05]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1186/1465-9921-14-91>
- Hall A. R., De Vos D., Friman V. P., Pirnay J. P., Buckling, A. Effects of sequential and simultaneous applications of bacteriophages on populations of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in wax moth larvae. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 2012. 78(16), 5646–5652. [cit. 2023-11-09]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1128/AEM.00757-12>
- Harada L. K., Silva E. C., Campos W. F., Del Fiol F. S., Vila M., Dąbrowska K., Krylov V. N., Balcão, V. M. Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. *Microbiological Research*. [online]. 2018. 212-213, 38–58. [cit. 2023-11-02]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.007>

- Hraiech S., Brégeon F., Rolain, J. M. Bacteriophage-based therapy in cystic fibrosis-associated *Pseudomonas aeruginosa* infections: rationale and current status. *Drug Design, Development and Therapy*. [online]. 2015. 9, 3653–3663. [cit. 2024-02-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S53123>
- Howard-Varona C., Hargreaves K. R., Abedon S. T., Sullivan, M. B. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *The ISME journal*. [online]. 2017. 11(7), 1511–1520. [cit. 2023-11-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>
- Islam M. S., Fan J., Pan, F. The power of phages: revolutionizing cancer treatment. *Frontiers in Oncology*. [online]. 2023. 13, 1290296. [cit. 2024-03-13]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1290296>
- Iwagami Y., Casulli S., Nagaoka K., Kim M., Carlson R. I., Ogawa K., Lebowitz M. S., Fuller S., Biswas B., Stewart S., Dong X., Ghanbari H., Wands J. R. Lambda phage-based vaccine induces antitumor immunity in hepatocellular carcinoma. *Heliyon*. [online]. 2017. 3(9), e00407. [cit. 2024-05-31]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.e00407>
- Jang Y. H., Lee K. C., Lee S. J., Kim D. W., Lee, W. J. HR-1 Mice: A new inflammatory acne mouse model. *Annals of Dermatology*. [online]. 2015. 27(3), 257–264. [cit. 2024-06-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.5021/ad.2015.27.3.257>
- Javed A., Manzoor S. Comparative analysis of Bacterial Vaginosis microbiota among pregnant and non-pregnant females and isolation of phages against *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, and *Shigella flexneri* strains. *Microbial Pathogenesis*. [online]. 2020. 149, 104588. [cit. 2024-06-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104588>
- Jun S. Y., Jang I. J., Yoon S., Jang K., Yu K. S., Cho J. Y., Seong M. W., Jung G. M., Yoon S. J., Kang S. H. Pharmacokinetics and tolerance of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 after a single intravenous administration among healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. [online]. 2017. 61(6), e02629-16. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.02629-16>
- Klumpp J., Loessner, M. J. *Listeria* phages: Genomes, evolution, and application. *Bacteriophage*. [online]. 2013. 3(3), e26861. [cit. 2024-06-05]. Dostupné z: <https://doi.org/10.4161/bact.26861>

- Kosznik-Kwaśnicka K., Stasiłojć M., Grabowski Ł., Zdrojewska K., Węgrzyn G., Węgrzyn A. Efficacy and safety of phage therapy against *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis estimated by using a battery of *in vitro* tests and the *Galleria mellonella* animal model. *Microbiological Research*. [online]. 2022. 261, 127052. [cit. 2024-02-27]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127052>
- Kutter E. Phage host range and efficiency of plating. *Methods in Molecular Biology*. [online]. 2009. 501:141-149. [cit. 2024-02-24]. Dostępne z: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_14
- Kutter E., Sulakvelidze A. *Bacteriophages: biology and applications*. [online]. 2004. [cit. 2023-11-02]. Dostępne z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3278648/>
- Kvachadze L., Balarjishvili N., Meskhi T., Tevdoradze E., Skhirtladze N., Pataridze T., Adamia R., Topuria T., Kutter E., Rohde C., Kutateladze, M. Evaluation of lytic activity of staphylococcal bacteriophage Sb-1 against freshly isolated clinical pathogens. *Microbial Biotechnology*. [online]. 2011. 4(5), 643–650. [cit. 2024-03-09]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00259.x>
- Landlinger C., Tisakova L., Oberbauer V., Schwebs T., Muhammad A., Latka A., Van Simaey L., Vanechoutte M., Guschin A., Resch G. Engineered phage endolysin eliminates *Gardnerella* biofilm without damaging beneficial bacteria in bacterial vaginosis *ex vivo*. *Pathogens*. [online]. 2021. 10(1):54. [cit. 2024-06-05]. Dostępne z: <https://doi.org/10.3390/pathogens10010054>
- Latz S., Wahida A., Arif A., Häfner H., Hoß M., Ritter, K., Horz H.P. Preliminary survey of local bacteriophages with lytic activity against multi-drug resistant bacteria. *Journal of Basic Microbiology*. [online]. 2016. 56(10):1117-1123. [cit. 2024-02-23]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1002/jobm.201600108>
- Lavigne R., Darius P., Summer E.J., Seto D., Mahadevan P., Nilsson A.S., Ackermann H.W., Kropinski A.M.. Classification of *Myoviridae* bacteriophages using protein sequence similarity. *BioMed Central Microbiology*. [online]. 2009. 9:224. [cit. 2024-03-24]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-224>
- Lavigne R., Robben J. Professor Dr. Richard Bruynoghe: A 1951 overview of his bacteriophage research spanning three decades. *Bacteriophage*. [online]. 2012. 2(1), 1–4. [cit. 2024-06-21]. Dostępne z: <https://doi.org/10.4161/bact.20024>

- Lens M. Current clinical overview of cutaneous melanoma. *British Journal of Nursing*. [online]. 17(5), 300-305. [cit. 2024-06-05]. Dostępne z: <https://doi.org/10.12968/bjon.2008.17.5.28825>
- Letkiewicz S., Międzybrodzki R., Kłak M., Jończyk E., Weber-Dąbrowska B., Górski A. The perspectives of the application of phage therapy in chronic bacterial prostatitis. *Federation of European Microbiological Societies*. [online]. 2010. 60(2):99-112. [cit. 2024-03-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01434>
- Little J.W. Lysogeny, prophage induction, and lysogenic conversion. *Phages*. [online]. 2005. 37–54. [cit. 2023-11-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1128/9781555816506.ch3>.
- Łoś J.M., Golec P., Wegrzyn G., Wegrzyn A., Łoś M. Simple method for plating *Escherichia coli* bacteriophages forming very small plaques or no plaques under standard conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 2008 74(16):5113-5120. [cit. 2024-02-25]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1128/AEM.00306-08>
- Łusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Górski A. Bacteriophages and lysins in biofilm control. *Virologica Sinica*. [online]. 2020. 35(2), 125–133. [cit. 2024-06-21]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1007/s12250-019-00192-3>
- Ly M., Abeles S.R., Boehm T.K., Robles-Sikisaka R., Naidu M., Santiago-Rodriguez T., Pride D. T. Altered oral viral ecology in association with periodontal disease. *Microbiology*. [online]. 2014. 5(3), 1133-14. [cit. 2024-05-02]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1128/mBio.01133-14>
- Maciejewska B., Olszak T., Drulis-Kawa, Z. Applications of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: an ambitious and also a realistic application? *Applied Microbiology and Biotechnology*. [online]. 2018. 102(6), 2563–2581. [cit. 2023-11-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8811-1>
- Malik D. J., Sokolov I. J., Vinner G. K., Mancuso F., Cinquerrui S., Vladislavjevic G. T., Clokie M. R. J., Garton N. J., Stapley A. G. F., Kirpichnikova A. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. *Advances in Colloid and Interface Science*. [online]. 2017. 249, 100–133. [cit. 2023-11-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.05.014>
- Martiny J. B., Jones S. E., Lennon J. T., Martiny, A. C. Microbiomes in light of traits: A phylogenetic perspective. *Science*. [online]. 2015. 350(6261). [cit. 2023-11-18]. Dostępne z: <https://doi.org/10.1126/science.aac9323>

- Matamp N., Bhat, S. G. Phage endolysins as potential antimicrobials against multidrug resistant *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: Current status of research and challenges ahead. *Microorganisms*. [online]. 2019. 7(3), 84. [cit. 2024-04-28]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030084>
- Mattila S., Ruotsalainen P., Jalasvuori, M. On-demand isolation of bacteriophages against drug-resistant bacteria for personalized phage therapy. *Frontiers in Microbiology*. [online]. 2015. 6, 1271. [cit. 2024-02-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01271>
- McVay C. S., Velásquez M., Fralick J. A. Phage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a mouse burn wound model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. [online]. 2007. 51(6), 1934–1938. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.01028-06>
- Meyer J., Brissac T., Frapy E., Omer H., Euphrasie D., Bonavita A., Nassif X., Bille E. Characterization of MDAΦ, a temperate filamentous bacteriophage of *Neisseria meningitidis*. *Microbiology*. [online]. 2016. 162(2), 268–282. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/mic.0.000215>
- Miernikiewicz P., Dąbrowska K., Piotrowicz A., Owczarek B., Wojas-Turek J., Kicielińska J., Rossowska J., Pajtasz-Piasecka E., Hodyra K., Macegoniuk K., Rzewucka K., Kopciuch A., Majka T., Letarov A., Kulikov E., Maciejewski H., Górski A. T4 phage and its head surface proteins do not stimulate inflammatory mediator production. *Plos one*. [online]. 2013. 8(8), e71036. [cit. 2024-03-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071036>
- Merabishvili M., Pirnay J. P., Verbeken G., Chanishvili N., Tediashvili M., Lashkhi N., Glonti T., Krylov V., Mast J., Van Parys L., Lavigne R., Volckaert G., Mattheus W., Verween G., De Corte P., Rose T., Jennes S., Zizi M., De Vos D., Vaneechoutte M. Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. *Plos one*. [online]. 2009. 4(3), e4944. [cit. 2024-02-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004944>
- Moellering R. C., Jr. NDM-1-a cause for worldwide concern. *The New England Journal of Medicine*. [online]. 2010. 363(25), 2377–2379. [cit. 2024-03-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMp1011715>

Müller M. G., Ing J. Y., Cheng M. K., Flitter B. A., Moe G. R. Identification of a phage-encoded Ig-binding protein from invasive *Neisseria meningitidis*. *Journal of immunology* [online]. 2013. 191(6), 3287–3296. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301153>

Nale J. Y., Chutia M., Carr P., Hickenbotham P. T., Clokie M. R. 'Get in early'; biofilm and wax moth (*Galleria mellonella*) models reveal new insights into the therapeutic potential of *Clostridium difficile* bacteriophages. *Frontiers in Microbiology*. [online]. 2016. 7, 1383. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01383>

Nieth A., Verseux C., Barnert S., Süß R., Römer W. A first step toward liposome-mediated intracellular bacteriophage therapy. *Expert Opinion on Drug Delivery*. [online]. 2015. 12(9), 1411–1424. [cit. 2024-05-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.1043125>

Nikkhahi F., Soltan Dallal M. M., Alimohammadi M., Rahimi Foroushani A., Rajabi Z., Fardsanei F., Imeni S. M., Torabi Bonab P. Phage therapy: assessment of the efficacy of a bacteriophage isolated in the treatment of salmonellosis induced by *Salmonella enteritidis* in mice. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*. [online]. 2017. 10(2), 131–136. [cit. 2024-05-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5495901/>

Nungester W.J., Watrous R.M. Accumulation of bacteriophage in spleen and liver following its intravenous inoculation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. [online]. 1934. 31(8):901-905. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3181/00379727-31-736>

O'Neill A.M., Gallo R.L. Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris. *Microbiome*. [online]. 2018. 6:177. [cit. 2024-06-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0558-5>

Palka-Santini M., Schwartz-Herzke B., Hosel M., Renz D., Auerochs S., Brondtke H. The gastrointestinal tract as the portal of entry for foreign macromolecules: fate of DNA and proteins. *Molecular Genetics and Genomics*. [online]. 2003. 270(3):201-15. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00438-003-0907-2>

- Park Y., Kwak S. H., Yong S. H., Lee S. H., Leem A. Y., Kim S. Y., Lee S. H., Chung K., Kim E. Y., Jung J. Y., Park M. S., Kim Y. S., Chang J., Kang Y. A. The association between behavioral risk factors and nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. *Yonsei Medical Journal*. [online]. 2021. 62(8), 702–707. [cit. 2024-06-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3349/ymj.2021.62.8.702>
- Peters B. M., Jabra-Rizk M. A., O'May G. A., Costerton J. W., Shirtliff M. E. Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. *Clinical Microbiology Reviews*. [online]. 2012. 25(1), 193–213. [cit. 2024-03-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-11>
- Petrovic Fabijan A., Iredell J., Danis-Wlodarczyk K., Kebriaei R., Abedon, S. T. Translating phage therapy into the clinic: Recent accomplishments but continuing challenges. *Plos Biology*. [online]. 2023. 21(5), e3002119. [cit. 2024-06-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002119>
- Pillich J., Výmola F., Buda, J. Assumptions for successful therapy using staphylococcal phage lysates. *Zentralblatt fur Bakteriologie Originale*. [online]. 1969. 210(3), 377–381. [cit. 2024-02-08]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4243228/>
- Pires D. P., Oliveira H., Melo L. D., Sillankorva S., Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. [online]. 2016. 100(5), 2141–2151. [cit. 2024-05-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7247-0>
- Pride D. T., Salzman J., Haynes M., Rohwer F., Davis-Long C., White R. A., 3rd, Loomer P., Armitage G. C., Relman, D. A. Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*. [online]. 2012. 6(5), 915–926. [cit. 2024-05-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.169>
- Pride D. T., Wassenaar T. M., Ghose C., Blaser, M. J. Evidence of host-virus co-evolution in tetranucleotide usage patterns of bacteriophages and eukaryotic viruses. *BMC Genomics*. [online]. 2006. 7, 8. [cit. 2024-05-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-8>

- Qin J., Wu N., Bao J., Shi X., Ou H., Ye S., Zhao W., Wei Z., Cai J., Li L., Guo M., Weng J., Lu H., Tan D., Zhang J., Huang Q., Zhu Z., Shi Y., Hu C., Guo X., Zhu T. Heterogeneous *Klebsiella pneumoniae* co-infections complicate personalized bacteriophage therapy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. [online]. 2021. 10, 608402. [cit. 2024-03-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.608402>
- Raeder R., Boyle, M. D. Properties of IgG-binding proteins expressed by *Streptococcus pyogenes* isolates are predictive of invasive potential. *The Journal of Infectious Diseases*. [online]. 1996. 173(4), 888–895. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/infdis/173.4.888>
- Ramamurthy D., Nundalall T., Cingo S., Mungra N., Karaan M., Naran K., Barth, S. Recent advances in immunotherapies against infectious diseases. *Immunotherapy Advances*. [online]. 2020. 1(1), ltaa007. [cit. 2024-06-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/immadv/ltaa007>
- Reardon S. Antibiotic resistance sweeping developing world. *Nature*. [online]. 2014. 509(7499), 141–142. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/509141a>
- Rosenstein N. E., Perkins B. A., Stephens D. S., Popovic T., Hughes J. M. Meningococcal disease. *The New England Journal of Medicine*. [online]. 2001. 344(18), 1378–1388. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441807>
- Saha D., Mukherjee, R. Ameliorating the antimicrobial resistance crisis: phage therapy. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. [online]. 2019. 71(7), 781–790. [cit. 2023-11-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/iub.2010>
- Salmond G. P., Fineran P. C. A century of the phage: past, present and future. *Nature Reviews. Microbiology*. [online]. 2015. 13(12), 777–786. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3564>
- Sarker S. A., McCallin S., Barretto C., Berger B., Pittet A. C., Sultana S., Krause L., Huq S., Bibiloni R., Bruttin A., Reuteler G., Brüßow H. Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh. *Virology*. [online]. 2012. 434(2), 222–232. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.09.002>
- Saw P. E., Song E. W. Phage display screening of therapeutic peptide for cancer targeting and therapy. *Protein and Cell*. [online]. 2019. 10(11), 787–807. [cit. 2024-03-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13238-019-0639-7>

- Shkoporov A. N., Ryan F. J., Draper L. A., Forde A., Stockdale S. R., Daly K. M., McDonnell S. A., Nolan J. A., Sutton T. D. S., Dalmasso M., McCann A., Ross R.P., Hill C. Reproducible protocols for metagenomic analysis of human faecal phageomes. *Microbiome*. [online]. 2018. 6, 68. [cit. 2024-03-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0446-z>
- Solomon S., Rodrigues Farias M., Pimpao Turra C. Use of *Staphylococcus aureus* phage lysate staphage lysate (SPL) for the control of recurrent pyoderma eczema in dogs with atopic dermatitis. *Acta Scientiae Veterinariae*. [online]. 2018. 44(1):7. [cit. 2024-06-23]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/323926629_Use_of_Staphylococcus_aureus_Phage_Lysate_Staphage_Lysate_SPLR_for_the_Control_of_Recurrent_Pyoderma_Eczema_in_Dogs_with_Atopic_Dermatitis
- Soothill J. S. Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *Journal of Medical Mikrobiology*. [online]. 1992. 37(4), 258–261. [cit. 2024-05-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/00222615-37-4-258>
- Stern J. A., Schaeffer, A. J. Chronic prostatitis. *The Western Journal of Medicine*. [online]. 2000. 172(2), 98–101. [cit. 2024-03-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/ewj.172.2.98>
- Sula L., Sulová J., Stolcpartová M. Therapy of experimental tuberculosis in guinea pigs with mycobacterial phages DS-6A. *Czechoslovak Medicine*. [online]. 1981. 4(4), 209–214. [cit. 2024-05-10]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7327068/>
- Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J. G., Jr. Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. [online]. 2001. 45(3), 649–659. [cit. 2024-02-07]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>
- Sultan B., Labadi K., Guégan J. F., Janicot S. Climate drives the meningitis epidemics onset in west Africa. *Plos medicine*. [online]. 2005. 2(1), e6. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020006>
- Summers W. C. Bacteriophage therapy. *Annual review of microbiology*. [online]. 2001. 55, 437–451. [cit. 2023-11-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.437>
- Šrámová, H. et al., 2013. *Nozokomiální nákazy*. Praha: Maxdorf. ISBN 978-80-7345-286-5.
- Tang K. W. K., Millar B. C., Moore J. E. Antimicrobial Resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*. [online]. 2023. 80, 11387. [cit. 2024-02-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>

- Thiel K. Old dogma, new tricks--21st Century phage therapy. *Nature Biotechnology*. [online]. 2004. 22(1), 31–36. [cit. 2023-11-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nbt0104-31>
- Tkhilaishvili T., Wang L., Perka C., Trampuz A., Gonzalez Moreno M. Using bacteriophages as a trojan horse to the killing of dual-species biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Mikrobiology*. [online]. 2020. 11, 695. [cit. 2024-03-11]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00695>
- Tomimaru Y., Mishra S., Safran H., Charpentier K. P., Martin W., De Groot A. S., Gregory S. H., Wands J. R. Aspartate- β -hydroxylase induces epitope-specific T cell responses in hepatocellular carcinoma. *Vaccine*. [online]. 2015. 33(10), 1256–1266. [cit. 2024-05-31]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.01.037>
- Torres-Barceló C., Hochberg M. E. Evolutionary rationale for phages as complements of antibiotics. *Trends in Microbiology*. [online]. 2016. 24(4), 249–256. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.12.011>
- Torres-Barceló C., Arias-Sánchez F. I., Vasse M., Ramsayer J., Kaltz O., Hochberg, M. E. A window of opportunity to control the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* combining antibiotics and phages. *PloS one*. [online]. 2014. 9(9), e106628. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106628>
- Ul Haq I., Chaudhry W. N., Andleeb S., Qadri I. Isolation and partial characterization of a virulent bacteriophage IHQ1 specific for *Aeromonas punctata* from stream water. *Microbiotic Ecology*. [online]. 2012. 63(4), 954–963. [cit. 2024-02-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9944-2>
- Uzan M. Bacteriophage T4 RegB endoribonuclease. *Methods in Enzymology*. [online]. 2001. 342, 467–480. [cit. 2024-03-24]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(01\)42567-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(01)42567-5)
- Van Belleghem J. D., Dąbrowska K., Vaneechoutte M., Barr J. J., Bollyky P. L. Interactions between bacteriophage, bacteria, and the mammalian immune system. *Viruses*. [online]. 2018. 11(1), 10. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/v11010010>
- Vandenheuvel D., Lavigne R., Brüßow H. Bacteriophage Therapy: Advances in formulation strategies and human clinical trials. *Annual Review of Virology*. [online]. 2015. 2(1), 599–618. [cit. 2024-02-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-054915>

- Veeranarayanan S., Azam A. H., Kiga K., Watanabe S., Cui L. Bacteriophages as solid tumor theragnostic agents. *International Journal of Molecular Sciences*. [online]. 2021. 23(1), 402. [cit. 2024-03-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms23010402>
- Voura E. B., Ramjeesingh R. A., Montgomery A. M., Siu, C. H. Involvement of integrin alpha(v)beta(3) and cell adhesion molecule L1 in transendothelial migration of melanoma cells. *Molecular Biology of the Cell*. [online]. 2001. 12(9), 2699–2710. [cit. 2024-06-05]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1091/mbc.12.9.2699>
- Węgrzyn G., Licznarska K., Węgrzyn A. Phage λ -new insights into regulatory circuits. *Advances in Virus Research*. [online]. 2012. 82, 155–178. [cit. 2024-06.23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00016-9>
- Westwater C., Kasman L. M., Schofield D. A., Werner P. A., Dolan J. W., Schmidt M. G., Norris J. S. Use of genetically engineered phage to deliver antimicrobial agents to bacteria: an alternative therapy for treatment of bacterial infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. [online]. 2003. 47(4), 1301–1307. [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AAC.47.4.1301-1307.2003>
- Yacoby I., Benhar, I. Targeted filamentous bacteriophages as therapeutic agents. *Expert Opinion on Drug Delivery*. [online]. 2008. 5(3), 321–329. [cit. 2024-03-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1517/17425247.5.3.321>
- Yang X., Haque A., Matsuzaki S., Matsumoto T., Nakamura S. The efficacy of phage therapy in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia and sepsis. *Frontiers Microbiology*. [online]. 2021. 12, 682255. [cit. 2024-05-30]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682255>
- Yassour M., Vatanen T., Siljander H., Hämäläinen A. M., Härkönen T., Ryhänen S. J., Franzosa E. A., Vlamakis H., Huttenhower C., Gevers D., Lander E. S., Knip M., Xavier R. J. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Science Translational Medicine*. [online]. 2016. 8(343), 343ra81. [cit. 2024-03-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad0917>

Zdroje obrázků

Obr.1: Bakteriofág: Leiman P. G., Kanamaru S., Mesyanzhinov V. V., Arisaka F., Rossmann M. G. Structure and morphogenesis of bacteriophage T4. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2003. [cit. 2024-05-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3072-1>

Obr.2: Dvořáčková M., Růžička F., Dvořáková Heroldová M., Vacek L., Bezděková D., Benešík M., Petráš P., Pantůček, R. Možnosti terapeutického ovlivnění stafylokokových infekcí prostřednictvím bakteriofágů a vybrané metody testování citlivosti stafylokoků *in vitro*. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: Časopis Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti J.E. Purkyně*. [online]. 2020. 69(1), 10–18. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32326711/>