

Upotreba bakteriofaga u liječenju antibioticima

Johović, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:700239>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek
Rooseveltov trg 6
10000 Zagreb
Hrvatska



UPOTREBA BAKTERIOFAGA U LIJESENJU ANTIBIOTICIMA

/

USAGE OF BACTERIOPHAGES AS AN ADJUVANTS IN ANTIBIOTIC THERAPY

Autor: Iva Johović
Preddiplomski studij biologije
Mentor: Doc. Ivana Ivančić Babić

Zagreb, 2009.

SADRŽAJ

1. POVIJEST LJE ENJA BAKTERIOFAGIMA.....	3
2. UVOD.....	4
3. OTPORNOST NA ANTIBIOTIKE – NO NA MORA SVJETSKOG ZDRAVSTVA.....	5
4. KOMBINIRANI LJEKOVI KAO NOVI LJEKOVI.....	6
5. MEHANIZAM RADA KOMBINIRANIH LJEKOVA	
5. 1. Ciljanje na gene koji induciraju SOS odgovor.....	6
5. 2. Ciljanje drugih skupina gena.....	9
6. ZAKLJU AK.....	12
7. LITERATURA.....	12
8. SAŽETAK.....	13
9. SUMMARY.....	14

1. POVIJEST LJE ENJA BAKTERIOFAGIMA

Nakon što su Frederick Twort i Felix d'Hérelle 1915. i 1917. otkrili bakteriofage (fage), ta terapija je odmah prepoznata od strane mnogih kao ključ za napredak u iskorjenjivanju bakterijskih infekcija. George Eliava oputovao je u Institut Pasteur u Parizu gdje se sastao sa d'Hérelle-om, 1926. osnovao je Eliava institut u Tbilisiju, Gruzija, posve en razvoju terapije fagima. U susjednim zemljama, uključujući i Rusiju isto je započeo razvoj opsežnih istraživanja na ovom području. U SAD-u tijekom 1940-ih, komercijalizaciju terapije fagima preuzeila je velika farmaceutska tvrtka Eli Lilly. Nakon što se akumuliralo dovoljno znanja o biologiji faga i kada su napokon primjenjeni kokteli faga, rezultati koji su dobiveni bili su vrlo nepouzdani.

Otkrijem antibiotika u 1941. i njihovom upotrebom u SAD- u i Europi, zapadni znanstvenici uglavnom su izgubili interes za daljnje korištenje i studije terapije fagima neko vrijeme. Rusija koja je bila izolirana od zapada 1940-ih, nastavila je razvijati već uspješnu terapiju fagima za liječenje rana vojnika na polju i u bolnicama. Tijekom Drugog svjetskog rata, Sovjetski Savez koristio je fage za liječenje mnogih vojnika zaraženih s različitim bakterijskim bolestima, npr. dizenterija i gangrena. Uspješnost terapije bila je jednako dobra ako ne i bolja nego bilo koji antibiotik. Ruski znanstvenici nastavili su i dalje razvijati i usavršavati svoje tretmane i objavljivati svoje rezultate istraživanja.

Međutim, s obzirom na znanstvene prepreke Hladnog rata, njihovi radovi nisu bili prevedeni i nova saznanja nisu se proširila širom svijeta. Na Eliava institutu u Tbilisiju nalazi se opsežna biblioteka koja pokriva sve rade i dospeje a tih znanstvenika. Terapija fagima danas je rasprostranjen oblik liječenja u toj regiji. Osamdeset godina gruzijski liječnici primjenjuju terapiju fagima u liječenju svojih ljudi, uključujući i bebe i novorođenice. Zbog razvoja rezistencije na antibiotike od 1950-ih i unapređenja znanstvenih spoznaja, došlo je do ponovnog interesa širom svijeta za primjenu terapije fagima u liječenju bakterijskih infekcija i kroničnih polimikrobioloških biofilmova.

Fagi su proučavani kao sredstvo za uklanjanje potencijalnih patogena kao što je *Campylobacter* u sirovoj hrani, te *Listeria* u svježoj hrani ili za smanjenje bakterija kvarenja hrane. U poljoprivredi fagi su se koristili za borbu protiv patogena kao što je *Campylobacter*, *Escherichia* i *Salmonella* pri uzgoju domaćih životinja, *Lactococcus* i *Vibrio* patogena u ribi iz akvakulture i *Erwinia* i *Xanthomonas* u biljkama poljoprivredne važnosti. Međutim, najduže se fagi ipak upotrebljavaju u humanoj medicini. Fagi se koriste protiv dijareje uzrokovane bakterijama *E. coli*, *Shigella* ili *Vibrio*, te protiv infekcija rana uzrokovanih

fakultativnim patogenom kože kao što su stafilocoki i streptokoki. " Preuzeto i prilago eno iz http://en.wikipedia.org/wiki/Phage_therapy "

Nedavno je terapija fagima korištena u lije enju sustavne intracelularne infekcije. Osim repliciraju ih faga, mogu se koristiti ne-repliciraju i fagi ili izolirani enzimi iz faga poput lizina. Me utim, stvarni dokaz za u inkovitost terapije fagima u bolnicama nije dostupan. Tako er, fagi se mogu koristiti i u kombinaciji s tradicionalnim antibioticima što predstavlja još jednu mogu nost upotrebe faga u lije enju. Osim toga, postoje podaci o upotrebi faga za ispoljavanje antitumorskih agenasa u *in vitro* pokusima na stanicama u kulturi.

2. UVOD

Razvoj antimikrobnih lijekova zna ajno zaostaje za širenjem otpornosti bakterija na antibiotike što za rezultat stvara potrebu za novim antibakterijskim terapijama koje se mogu brzo osmisliti i primjeniti. Koriste i saznanja iz genetike znanstvenici pokušavaju razviti novu vrstu terapije fagima. U sintetskoj biologiji pokušava se prekomjerno eksprimirati odre ene proteine faga koji e napasti bakterijske skupine gena na koje antiobitici ne djeluju izravno i na taj na in stvoriti podlogu za djelotvornije lije enje antibioticima. Genetski promijenjeni bakteriofag može pove ati smrtnost bakterije otporne na antibiotike. Tako er fagi mogu smanjiti broj otpornih bakterija koje potje u od tretirane populacije te tako djelovati kao dobra podloga za lije enje drugim antibioticima. Na primjer inhibicijom SOS gena u bakteriji *E. coli* pomo u mutiranog bakteriofaga može se pove ati djelovanje kvinolona o emu e biti više dalje u tekstu. Osim toga, fagi se mogu prekomjerno eksprimirati odre ene druge gene i proizvode kao u inkovite dodatke antibiotiku.

3. OTPORNOST NA ANTIBIOTIKE - NO NA MORA SVJETSKOG ZDRAVSTVA

Ve 60-ak godina antibiotici se upotrebjavaju za lije enje gotovo svih poznatih infekcija. Zajedno s pove anjem upotrebe antibiotika raste i razvoj otpornosti na njih. Bakterijske infekcije odgovorne su za zna ajnu smrtnost u klinici. Svake godine više od 5 milijuna ljudi umire u bolnicama diljem svijeta zbog neuspjelog tretmana infekcije antibiotikom. Mnoge infekcije koje su se u prošlosti lako lije ile putem antibiotika sada su stekle otpornost što rezultira bolesnijim pacijentima i dužim hospitalizacijama.

Bakterije otpornost na antibiotik mogu ste i na nekoliko na ina: a) malim promjenama u genomu, takozvanim to kastim mutacijama, odnosno promjenama na jednom paru baza u DNA; b) velikim promjenama u genomu, odnosno preinakama velikih dijelova genoma, naj eš e umetanjem ili gubitkom transpozona ili insercijskih slijedova kao jednim doga ajem; c) te napokon unosom strane DNA (procesima konjugacije, transformacije, transdukcije ili transpozicije). Prva dva mehanizma ograni ena su na jednu bakterijsku stanicu. Nakon što gen za otpornost nastane, može se širiti vertikalno diobom bakterija ili horizontalno od jedne bakterije na drugu, prijenosom strane DNA. Takvo horizontolno širenje nije ograni eno samo na bakterije istoga roda, ve je širenje mogu e i izme u bakterija sasvim razli itih rodova.

Rezistencija bakterija na antibiotike važna je evolucijska prednost za bakteriju, te se tako dalje u prirodi šire otporni klonovi. Danas su stafilokoki jedna od naju estalijih vrsta bakterije. injenica da su odavno "porazili" ve inu poznatih antibiotika, me u njima i penicilin i amoksicilin, više je nego zabrinjavaju a. Za lije enje se danas koristi samo vankomicin iako su prona eni slu ajevi otpornosti i na taj antibiotik. Stafilokok nije jedini zabrinjavaju i primjer. Enterokoki, pseudomonas i acinetobakter tako er su otporne na ve inu antibiotika u primjeni. Ukoliko se te apsolutno nepobjedive bakterije rašire po bolnicama diljem svijeta to bi zna ilo da bi boravak u bolnicama zbog najjednostavnijih zahvata mogao biti koban.

Rast otpornosti veliki je izazov za suvremenu medicinu. Ekonomski utjecaj infekcija otpornih na antibiotike u SAD-u procjenjuje se na izme u 5 i 24 milijardi dolara godišnje. Potrebne su nove vrste antibiotika i u inkovitijih antimikrobnih agenasa, no ipak se samo nekolicina njih nalazi u proizvodnji. Tehnike visoke propusnosti u kombinaciji s tradicionalnim tehnikama molekularne biologije omogu ile su otkrivanje potencijalnih meta lijekova za nove antibiotike. Me utim, proces od identifikacije meta do stvarnih komponenata lijeka zahtijeva zna ajni ulog dodatnog rada i investicije. Štoviše, tipi no je za antibiotike da se za njih ne koriste mete koji se moraju prilagoditi za postizanje antimikrobne aktivnosti.

Kao rezultat toga ostaje značajna praznina između pronalaženja meta i razvoja lijeka. Uzijenica da u zadnjih trideset godina nije otkriven niti jedan novi antibiotik ne daje nam neku nadu u situaciji u kojoj se nalazimo. Jedino je sigurno da se moraju razviti nove metode u borbi protiv infekcija.

4. KOMBINIRANI LIJEKOVI KAO NOVI LIJEKOVI

Alternativa antibioticima je terapija fagima koja se za ubijanje bakterija koristi još od početka 20. stoljeća. Fag može lizirati bakterije odnosno može se modificirati da ispolji smrtonosne gene koji mogu prouzrokovati smrt stanice. Međutim, fagi koji su direktno smrtonosni za svoje bakterije domaćine mogu u kratko vrijeme dovesti do razvoja otpornosti bakterija na fag. Kako bi se smanjio razvoj otpornosti na fage strucnjaci su nastojali razviti mutirani fag koji može izazvati minimalni evolucijski otpor. U tu svrhu su fagi mutirani da eksprimiraju proteine koji reguliraju skupine gena na koje antibiotici ne djeluju izravno. Korištenjem kombinacije mutiranog faga koji pojava djelovanje antibiotika i samog antibiotika postiže se smanjenje otpornosti na antibiotik i pojava smrtnosti bakterije.

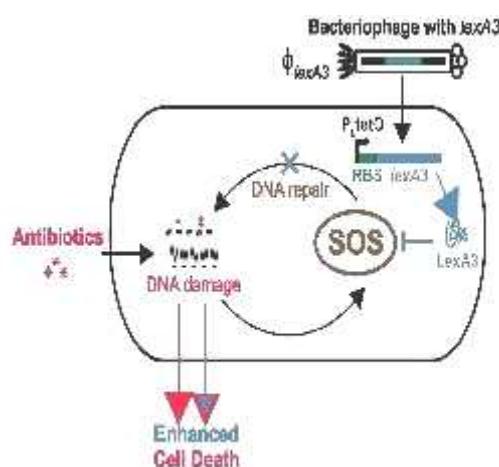
5. MEHANIZAM RADA KOMBINIRANIH LIJEKOVA

5. 1. Ciljanje na gene koji induciraju SOS odgovor

Poznato je da se u bakterija s oštećenjem DNA aktivira SOS odgovor kojim se prepisuju geni uključeni u popravak DNA. SOS odgovor je važan mehanizam u održavanju integriteta genoma bakterije *Escherichia coli*. Indukciju SOS odgovora reguliraju protein LexA koji djeluje kao represor i aktivator - protein RecA koji katalizira samocijepanje represora LexA.

Najnoviji podaci ukazuju da je ubijanje bakterija antibioticima efikasnije kada imaju mutiran gen *recA* koji je ujedno regulator SOS odgovora (Lu i sur. 2009). Za inaktivaciju SOS odgovora znanstvenici su koristili fag M13mp18. Fag M13mp18 je modificirana verzija faga M13 i korišten je kao model jer se radi o neliti kom filamentoznom fagu koji može podnijeti unos DNA u svoj genom. U fagu M13mp18 prekomjerno se eksprimira mutirani represor LexA3, koji se ne može pocijepati, pa se SOS odgovor ne može inducirati. Osim

toga, gen *lexA3* je stavljen pod kontrolu promotora P_{tetO} . Dobiveni fag su nazvali ϕ_{lexA3} a nemedifirana vezija M13mp18 faga zovemo ϕ_{unmod} . Promotor P_{tetO} , koji je inhibiran u prisustvu represora *TetR*, konstitutivno je aktiviran u stanicama EMGR u kojima nedostaje *TetR*. Fag ϕ_{lexA3} inhibirao je indukciju SOS odgovora u stanicama tretiranim ofloksinom. To je dokazano pre enjem fluorescencije proteina zelene fluorescencije GFP (od engl. gene fluorescent protein) u stanicama EMG2 bakterije *E. coli* K-12 u kojem je gen za protein GFP pod regulacijom SOS promotora. (Sl. 1.)



Sl. 1. Shema kombinirane terapije mutiranim fagom ϕ_{lexA3} i antibiotikom u stanci *E.coli* EMG2

Izvor: Lu i sur. 2009

U inak poboljšanja djelovanja antibiotika s fagom ϕ_{lexA3} pokazan je tako što je izra unat vremenski period potreban za uništenje soja EMG2 tretiranog fagom i/ili ofloksinom. Potom je izra unat broj vijabilnih stanica tijekom tretiranja s nemedifiranim fagom ili s fagom bez ofloksicina ili samo s ofloksinom. Najbolji rezultati dobiveni su upotrebom faga ϕ_{lexA3} s ofloksinom, no i nemedifirani fag takođe je poboljšao baktericidni u inak ofloksicina. To otkriće u skladu je sa prethodnim promatranjima gdje nemedifirani filamentozni fag povećava u inkvitost antibiotika protiv *Pseudomonas almaginosa* (Lu i sur. 2009). I ϕ_{unmod} i ϕ_{lexA3} znaju se replicirati tijekom eksperimenta.

Kako bi testirali da li fag ϕ_{lexA3} može djelovati kao dodatak antibiotiku u razliitim omjerima, ispitali su uništenje bakterije primjenom različitih doza faga pri inokulaciji, odnosno putem različitih doza ofloksicina. Za koncentracije ofloksicina od 30 ng/ml i više, fag ϕ_{lexA3} rezultirao je znatno većim uništenjem za razliku od nemedifiriranog faga ϕ_{unmod} (Lu i sur. 2009). Odatle slijedi zaključak da je fag ϕ_{lexA3} jak dodatak ofloksinu pri dozama ispod i iznad minimalne inhibitorne koncentracije.

Tako er je istraženo može li mutirani fag pove ati efikasnost antibiotika koje nisu kvinoloni. Pra en je u inak poboljšanja antibiotika kod faga lexA3 za gentamicin (aminoglikozid) i ampicilin (-laktamski antibiotik). Fag lexA3 pove ao je efikasnost gentamicina, a tako er je poboljšao baktericidni u inak ampicilina (Lu i sur. 2009). Ovi rezultati u skladu su s prethodnim pokusima da su mutanti *recA* osjetljiviji na kvinolone, aminoglikozide, -laktame, te pokazuju da mutirani fag, poput faga lexA3 , može djelovati kao op i dodatak za sve tri glavne vrste baktericidnih lijekova.

Osim toga, ustanovljeno je da je mutirani fag lexA3 u stanju smanjiti broj otpornih stanica u populacijama koje su ve bile izložene antibioticima, a može i poboljšati u inkovitost antibiotika protiv bakterija koje žive u biofilmovima. Osim što mutirani fag pokazuje ve u u inkovitost u ubijanju bakterija divljeg tipa, takav fag može poboljšati uništenje bakterija koje su ve stekle otpornost na antibiotike. Ra eni su pokusi s bakterijama *E. coli* RFS289 koje nose mutaciju *gwrA111* koja ih ini otpornim na antibiotik kvinolon i na njima su primjenili fage lexA3 s ofloxacinom. Fag lexA3 ponovno je pove ao baktericidno djelovanje ofloxacina (Lu i sur. 2009). Ovi rezultati su pokazali da se fag koji poboljšava djelovanje antibiotika može iskoristiti u savladavanju otpornih bakterija u klini koj upotrebi.

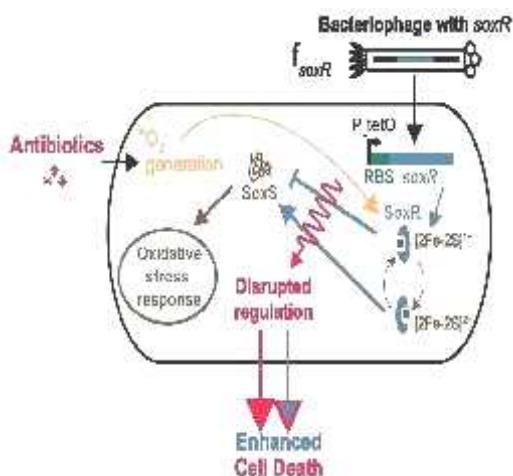
Klini ka važnost ovog faga istražena je na miševima zaraženima bakterijama. U miševe je ubrizgana *E. coli* EMG2 a potom je jedna grupa miševa tretirana s fagom lexA3 i ofloxacinom, a druga sa fagom unmod i ofloxacinom i tre a samo sa ofloxacinom. Preživjelo je 80% miševa koji su primili fag lexA3 s ofloxacinom za razliku od 50% miševa koji su primili fag unmod s ofloxacinom i 20% koji su dobili samo ofloxacin (Lu i sur. 2009). U inkovitost ovog faga u spašavanju zaraženih miševa od smrti pokazala je da se ovaj izum može koristiti u klini koj upotrebi.

Izloženost subinhibitornim koncentracijama antibiotika prvo dovodi do po etnih mutacija koje kasnije dovode do više mutacija koje stvaraju visok nivo otpornosti. Fagi kao dodatak antibiotiku mogu dramati no reducirati broj mutanata otpornih na antibiotike.

5. 2. Ciljanje drugih skupina gena

Fage najbolje možemo iskoristiti za ciljanje mnogih razli itih skupina gena kako bi se proizveli što u inkovitiji dodaci antibioticima. Na primjer, mete mogu biti proteini uklju eni u stani ni odgovor na superoksid (SoxR i CsrA) ili se može modulirati osjetljivost na antibiotike (npr. OmpF). Regulator SoxRS kontrolira koordiniranu stani nu reakciju na superoksid. SoxR sadržava skupinu 2Fe-2S koja se mora oksidirati da se stimulira

proizvodnja SoxS koja zatim kontrolira prepisivanje gena koji reagiraju na oksidativni stres. Budući da kvinoloni pokreću u oksidativni napad s bazom superoksida, pretpostavilo se da mutirani fag koji nosi *SoxR* (*soxR*) divljenog tipa može utjecati na ovu reakciju te poboljšati baktericidnu aktivnost ofloxacina. Pretpostavka se pokazala tonom - *soxR* poboljšao je uništenje putem ofloxacina za razliku od nemodificiranog faga (Lu i sur. 2009; Slika 2.).

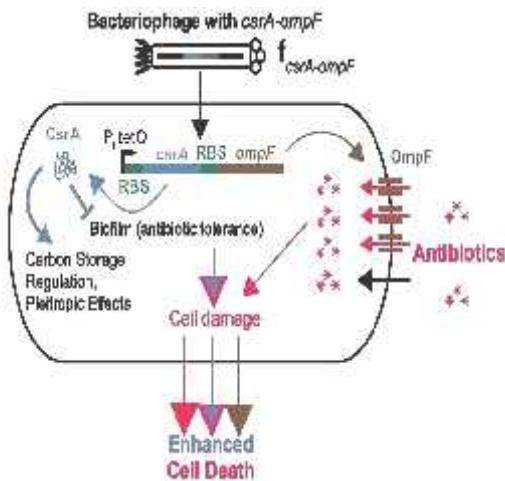


Slika 2. Shema kombinirane terapije mutiranim fagom *f₁ soxR* i ofloxacinom u stanici

Izvor: Lu i sur. 2009

Protein CsrA je globalni regulator sinteze i katalize glikogena, glukoneogeneze i glikolize, a takođe potiskuje i stvaranje biofilma. Pošto je stvaranje biofilma povezano sa otpornošću na antibiotike, pretpostavilo se da će fag koji prekomjerno eksprimira CsrA (*csrA*) povećati osjetljivost na tretiranje antibioticima. Osim toga, budući da je OmpF porin kojeg koriste kvinoloni da uđu u bakteriju, pretpostavilo se da će fag *ompF* koji prekomjerno eksprimira OmpF povećati uništenje uz pomoć ofloxacina. Obje pretpostavke pokazale su se točno nimalo i fag *csrA* i fag *ompF* povećali su baktericidnu uđinku ofloxacina.

Osim toga na injen je višeciljni fag M13mp18 koji može istodobno prekomjerno eksprimirati i CsrA i OmpF (*csrA-ompF*) i u njemu se napada genske mreže pod kontrolom CsrA i OmpF. Fag *csrA-ompF* je u inkovitiji u poboljšanju baktericidnog uđinka ofloxacina u okruženju planktona i biofilma (Lu i sur. 2009; Slika 3).



Sl. 3. Shema kombinirane terapije mutiranim fagom csrA-ompF i ofloksinom u biofilmu u kojem se javila otpornost na antibiotik

Izvor: Lu i sur. 2009.

Zajednički, ovi rezultati pokazuju da manipulirani fag, koji ne cilja na gene SOS odgovora i/ili prekomjerno eksprimira višestruke proteine, može biti u inkoviti dodatak antibiotiku.

6. ZAKLJU AK

Kombinirana terapija antibiotika i bakteriofaga kojim se poboljšava u inak antibiotika ima mogunost za antimikrobnu strategiju koja obe ava i ima kliniku relevantnost. Fagi se mogu promijeniti na mnogo načina tako da budu uinkoviti kao dodatak antibioticima *in vitro* i *in vivo* te oni tako mogu pomoći u premoštenju jaza između pronalaska i upotrebe antimikrobne mete. Unatoč potencijalnim koristima koje smo ranije opisali u tekstu, fag treba prihvati u klinici koji praksi zbog brojnih pitanja, poput imunogeneze faga, u inkovitosti, identifikacije ciljane bakterije i selekcije faga, specifičnosti domaćina i ispuštanju otrova. Kako bi smanjili rizik od zaostanka lizogenih estica u pacijentima nakon tretmana, fag bi se mogao modificirati u nereplikativan oblik.

Uz najmodernejnu tehnologiju sekvenciranja i sinteze DNA jedan cjelovito inženirani genom bakteriofaga, koji nosi višestruke gene protiv različitih genskih sustava, mogao bi se u budućnosti sintetizirati za manje od 10000 \$. Ove bi tehnologije trebale omogućiti stvaranje klase faga koji poboljšavaju antibiotike, a može se primijeniti s različitim antibioticima protiv širokog raspona bakterijskih infekcija. Ciljanje kliničkih bakterijskih linija sa klasama inženiranih faga bit će ključan korak u primjeni ove strategije protiv stvarnih infekcija.

Modificirani fagi mogli bi uskoro naći svoju primjenu u industriji, poljoprivredi i obradi hrane gdje su prisutni bakterijski filmovi i druge bakterije kojih se teško riješiti. Primjena mutiranog faga kao dodatka antibiotiku u privredi mogla bi biti od ekonomskih prednosti i smanjiti otpornost na antibiotik koja je stećena u okolišu, te biti mudar korak naprijed prema koncu noći primjeni u kliničke svrhe.

7. LITERATURA

- http://en.wikipedia.org/wiki/Phage_therapy
- <http://www.intralytix.com/history.htm>
- SMILJA KALENI , Rezistencija bakterija na antibiotike
- TIMOTHY K. LU, JAMES J. COLLINS, 2009., Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy , PNAS 106: 4629-4634.

8. SAŽETAK

Kombinirani lijekovi koji sadrže mutirane fage i antibiotike mogu a su alternativa konvencionalnim tretmanima s antibioticima protiv bakterijskih infekcija. Fag se mutira kako bi poja an eksprimirao odabранe proteine koji reguliraju odre ene skupine gena, odnosno skupine gena na koje antibiotici ne djeluju izravno i time oslabe bakterijsku stanicu te tako poja avaju uspješnost djelovanja antibiotika.

Kombinirani lijekovi ciljaju na gene koji nisu esencijalni za bakterijsku stanicu, te na gene koji uzrokuju indukciju SOS ogovora u bakterijskim stanicama. SOS odgovor u bakterijskim stanicama inhibiran je tretiranjem s mutiranim fagom lexA3 u kojem je gen *lexA3* stavljen je pod kontrolu promotora P_{LtetO} koji uzrokuje njegovo prekomjerno eksprimiranje. Djelovanje raznih klasa antibiotika (kvinoloni, aminoglikozidi, -laktami) zna ajno je poboljšano korištenjem spomenutog faga. Osim toga, dokazano je da je mutirani fag lexA3 u stanju zna ajno smanjiti broj otpornih stanica u populacijama koje su ve bile izložene antibioticima.

Klini ka važnost faga lexA3 vidljiva je iz njegove u inkovitosti u spašavanju zaraženih miševa. I druge skupine gena mogu se unijeti u bakteriofage, (SoxR, CsrA, OmpF) s ciljem da se poboljša baktericidna u inkovitost antibiotika i rezultati su bili veoma uspješni. Fagi su pogodni za ugradnju i više meta odjednom i tako nastaju višeciljni fagi koji ciljaju na višestruke receptore u bakterijskim stanicama i u nekim okruženjima oni pokazuju i znatno bolje rezultate od jednociljnih faga, kao npr. u biofilmovima.

9. SUMMARY

Combination therapy containing mutated phages and antibiotics is a possible alternative to conventional treatment with antibiotics only. Phages are changed to overexpress selected proteins that regulate a group of genes, or groups of genes that are not directly attacked by antibiotics. In that way, they weaken the bacterial cells, thus enhancing the improved effects of antibiotics.

Combination therapy targets nonessential genes, or genes that induce the SOS response in bacterial cells. In the experiment bacteria was treated with mutated phage lexA3 . In this phage, the *lexA3* gene was placed under the control of the synthetic P_{LtetO} promoter which caused overexpression of *lexA3*. lexA3 suppressed the SOS response induced by antibiotic (quinolones) and improved the bactericidal effect of the same antibiotic. Bactericidal effect of other class of antibiotic (amino glycosides, -lactam antibiotics) was also considerably improved with usage of *lexA3*. They also found out that mutated phage lexA3 is capable of reducing the number of bacterial cells that already have acquired antibiotic resistance.

Clinical relevance of mutated phage lexA3 is visible from its efficacy in preventing death in mice infected with bacteria. Also other gene networks where also targeted to produce effective antibiotic adjuvants (SoxR, CsrA, OmpF) that proved efficient. Mutated bacteriophages are well suited for incorporating multiple targets. The multitarget phage in some surroundings (for example, biofilm) showed better bactericidal effect compared with single-target relatives.