

Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF)

MD Programm (TI 07.003)

München, 20. Januar 2020

Standort: München

Einrichtung: Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr

Projekttitel: DZIF MD Programm/

Isolierung und Charakterisierung von Bakteriophagen zur Therapie multiantibiotikaresistenter Bakterien

Projektleiter: PD Dr. med. Joachim J. Bugert

Projektlaufzeit: 18 Monate/ studienbegleitend

Projektdauer: s. Anhang Excel-Dokument/ ab 1.4.2020 – 30.9. 2021

Projektbeschreibung

Thema

Wundinfektionen mit multiresistenten Bakterien stellen ein zunehmendes Problem bei der Versorgung von verwundeten Soldatinnen und Soldaten dar. In Fällen, in denen Standard-Breitspektrumantibiotika nicht mehr wirken, können Bakteriophagen, also spezifisch gegen die resistenten Bakterien gerichtete Viren, noch erfolgreich bei der medizinischen Behandlung eingesetzt werden. Im Rahmen von Forschungsarbeiten zur Bekämpfung gefährlicher Infektionskrankheiten werden in der Arbeitsgruppe Experimentelle Virologie am InstMikroBioBw kapseltypspezifische Klebsiella-Phagen für eine zukünftige Herstellung therapeutischer Phagenmischungen isoliert und charakterisiert.

Kurz-Thema: less than 300 characters (276 mit Leerzeichen) dt. engl.

Wundinfektionen mit multiresistenten Bakterien stellen ein zunehmendes Problem bei der Versorgung von verwundeten Soldatinnen und Soldaten dar. In Fällen, in denen Standard-Breitspektrumantibiotika nicht mehr wirken, können Bakteriophagen noch erfolgreich bei der medizinischen Behandlung eingesetzt werden.

Wound infections with multi drug resistant bacteria (MDRB) are a particular problem on the battlefield, as standard broad spectrum antibiotics may not work. Bacteriophage preparations specific for MDRB and applied in single use wound dressings and rinsing fluids would be valuable additions to other treatments available in role 1 medical support.

Hintergrund: Die Verbreitung multiantibiotikaresistenter, gramnegativer (MRGN) Bakterien ist ein globales Problem und erfordert neue Therapiemethoden. Eine Alternative zur Antibiotika-Behandlung ist die Verwendung von Bakteriophagen, die spezifisch Bakterien lysieren. Infektionen mit MRGN Bakterien, wie zum Beispiel bestimmten Stämmen von

Klebsiella pneumoniae, sind derzeit ein zunehmendes Problem: *Klebsiella pneumoniae* des Typs 4 MRGN können dabei lebensbedrohliche Blutvergiftungen, Lungenentzündung und Wundinfektionen verursachen. Solche Infektionen können oftmals nicht mehr mit Standardantibiotika behandelt werden. Darüber hinaus bildet *Klebsiella pneumoniae* charakteristische Polysaccharidkapseln, die Biofilme produzieren können, und so den Zugang von eigentlich noch wirksamen Antibiotika zu den Bakterien verhindern. Bestimmte Bakteriophagen sind dabei in der Lage, spezifisch Typ 4 MRGN anzugreifen und Biofilme aufzulösen, und können daher auch bei einer Antibiotikaresistenz als eine Ergänzung zur antibiotischen Behandlung und dem chirurgischen Debridement erfolgreich eingesetzt werden. Durch die Auflösung von Biofilmen wird oftmals eine antibiotische Wirkung wiederhergestellt und körpereigene Immuneffektoren erhalten erneut Zugang zum Ort der Infektion.

Ziel: Isolierung und Charakterisierung kapseltypspezifischer *Klebsiella*-Phagen für eine zukünftige Herstellung therapeutischer Phagenmischungen.

Fragestellung:

1. was ist der wzi Kapseltyp des *Klebsiella*- Phagen Wirts?
2. was sind die spezifischen Eigenschaften des Bakteriophagen/ wzi Wirtsspektrum?

Methoden – Arbeitsplan:

1. **Monat 1-6:** Einarbeitung in Methodik (inkl. eine Famulatur)
2. **Monat 7-12: wzi Gen PCR:** Kapseltypisierung der Wirte nach der Methode von Brisse et al., 2013. ***Klebsiella* -Phagensammlung:** Phagenanreicherung auf Wirt, Plaquereinigung und Stockproduktion (Wachstumskinetik) nach der Methode von Kęsik-Szeloch et al. **Wirtsbereichanalyse:** gegen Kapseltyp Panel/ TECAN Spark (LMU Modul 6; 6 Monate).
3. **Monat 13- 18:** Weitere Arbeiten, Bericht und Publikation.

Erfolgsaussichten - Erwartete Ergebnisse: Phagen/Wirte liegen schon in einer zu charakterisierenden Phagensammlung am IMB vor. Die einzusetzenden Methoden sind alle am IMB etabliert, die erforderlichen Geräte sind vorhanden und erfahrenes Personal steht zur Verfügung (Phagenarbeitsgruppe: TA, Doktorand/in, Masterand/in). Die Erfolgsaussichten sind daher hoch. Erwartete Ergebnisse sollen im Rahmen von laufenden und geplanten Arbeiten am IMB sowie in Kollaboration mit anderen Phagenarbeitsgruppen publiziert werden. Charakterisierte Phagen sollen dem Leibniz Institut DSMZ für therapeutische Phagenmischungen (BMBF und EU gefördertes Projekt "Phage4cure") zur Verfügung gestellt werden. Vorläufige Ergebnisse wurden bereits bei nationalen und internationalen Konferenzen vorgestellt (Stender et al. 2019).

Mehrwert für den Studenten: Die Arbeit kann innerhalb von 18 Monaten abgeschlossen werden (s. Arbeitsplan). Die Arbeitsgruppe von Dr. Bugert unterhält internationale Kollaborationen, u.a. mit der Universität Leicester (AG Millard), mit der Universität Helsinki (AG Saija Kiljunen), sowie der Arbeitsgruppe von Prof. Willy am Bundeswehrkrankenhaus Berlin (Phagentherapiestudie). Das Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr (IMB), eine Ressortforschungseinrichtung des Bundes, bietet eine wissenschaftlich anregende Umgebung mit international kompetitiver Forschung, und beherbergt eine umfangreiche Stammsammlung von MRGN Bakterien und Phagen.

Referenzen:

Millard lab: <http://millardlab.org/labmembers/andrew-millard/>

Phagengеноме - Draft genome sequence of bacteriophage vB_Eco_swan01. Genome Announc 5: e00501-17 S Michniewski, T Redgwell, DJ Scanlan, AD Millard

Kiljunen lab: <https://researchportal.helsinki.fi/en/persons/saija-johanna-kiljunen>

Phagengеноме - Complete Genome Sequences of Two *Klebsiella pneumoniae* Phages Isolated as Part of an International Effort. Yerushalmy, O., Copenhagen-Glazer, S., Nir-Paz, R., Tuomala, H., Skurnik, M., Kiljunen, S. & Hazan, R., 19 Sep 2019, In : *Microbiology Resource Announcements*. 8, 38, 3 p., UNSP e00843-19.

DGWMP Poster/ NATO Meeting -

Stender J, Egold M, Kühn J, Kreißig S, Mzoughi S, Schwarze F, Bugert C, Hinz C, Millard A, Ben Moussa M, Michniewski S, Friese D, und Bugert JJ. Isolierung und Charakterisierung von Bakteriophagen zur Therapie multiantibiotikaresistenter Bakterien. 50. Tagung der deutschen Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie (DGWMP), 10.-12. Oktober 2019, Leipzig, Deutschland – Teile wurden von FTLA Bugert beim NATO Phagenmeeting (NATO Meeting RTG 313 - HFM-, Reintroduction of Bacteriophages in Military Medicine', 16.-17. Dezember 2019 in Berlin, Deutschland, vorgetragen.

Standardmethodik - Kęsik-Szeloch A, Drulis-Kawa Z, ... , Górski A, and Kropinski AM. (2013). Characterising the biology of novel lytic bacteriophages infecting multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Viol J.* 10: 100-100. doi: 10.1186/1743-422X-10-100.

Wzi Scaffold - Bushell SR, Mainprize IL, Wear MMA, Lou H, Whitfield C, and Naismith JH. (2013) Wzi Is an Outer Membrane Lectin that Underpins Group 1 Capsule Assembly in *Escherichia coli*. *Structure*. 21:844–853. doi:https://doi.org/10.1016/j.str.2013.03.010.

Wzi PCR - Brisse V, Passet V, Björk Hugaard AB, Babosan A, Kassis-Chikhani N, Struve C, Decré D. (2013) wzi Gene Sequencing, a Rapid Method for Determination of Capsular Type for *Klebsiella* Strains. *Journal of Clinical Microbiology* 51:4073-4078. doi:10.1128/JCM.01924-13.

Bakteriophagen - White HE and Orlova EV. *Bacteriophages: Their Structural Organisation and Function*. (2018). IntechOpenAccess. doi: 10.5772/intechopen.85484.



Presenting author contact: jana.stender@gmx.de

Kapsel - Depolymerasen - Pires DP, Oliveira H, Melo LD, Sillankorva S, Azeredo J. (2016). Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. Appl Microbiol Biotechnol (2016) 100:2141–2151 DOI 10.1007/s00253-015-7247-0.

Tierversuch - Hung, C.-H., C.-F. Kuo, C.-H. Wang, C.-M. Wu and N. Tsao (2011). "Experimental Phage Therapy in Treating &Klebsiella pneumoniae&-Mediated Liver Abscesses and Bacteremia in Mice." Antimicrobial Agents and Chemotherapy 55(4): 1358.

GVO Phagen/ Klin. Anwendung - Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA et al. (2019) Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus. Nat Med. 25:730–733. doi:10.1038/s41591-019-0437-z.

DZIF MD Stipendium - Hintergrund:

Das DZIF MD Stipendium geht an hochtalentierte Medizinstudenten mit Interesse an der translationalen Infektionsmedizin. Das leistungsfördernde Stipendium sollte dazu beitragen, eine medizinische Doktorarbeit im Bereich der Infektionsmedizin anfertigen zu können. Die Stipendiaten können ihr reguläres Curriculum für zwölf bis achtzehn Monate unterbrechen, um in der Zeit in der Infektionsforschung in einem DZIF-Projekt mitzuarbeiten.

In 2019 und 2020 dürfen die Standorte jeweils eine Beantragung von bis zu 86.000,00 € über den Standort-Koordinator bzw. Standortmanager pro Jahr veranlassen. Die Summe ist kalkuliert für fünf Stipendien pro Standort. Vorgesehen sind 7.200 € Stipendium über 12 oder 18 Monate und Sachmittel von bis zu 10.000 € / Stipendiat; auf formlosen Antrag können Stipendien bzw. Personalmittel (falls HiWi Stellen vergeben werden sollen) zu Lasten der Verbrauchsmittel auch umgewidmet werden; die Gesamt-Förderung darf allerdings 17.200 € pro Stipendiat nicht überschreiten.

Die Standorte entscheiden selbst, wie die Verteilung auf die einzelnen Einrichtungen bzw. Studierenden am Standort erfolgt. Aus förderrechtlicher Sicht werden die Einrichtungen mittels Sachbericht dokumentieren müssen, wer die Stipendien erhält, welches Thema bearbeitet wird, und nach welchen Kriterien die Vergabe der Stipendien und die Integration der Stipendiaten in ein strukturiertes Programm erfolgt.

Die beantragte Zuwendung sichert die MD Stipendien. Namen der Stipendiaten bzw. Titel der Maßnahmen bzw. Projektleiter sind dem angehängten Excel-Dokument zu entnehmen.

Projektziele: Ziel des DZIF MD-Programmes ist es, qualifizierten Nachwuchs für die Infektionsforschung zu gewinnen bzw. eine Basis für die neue Generation von klinischen Wissenschaftlern zu gewährleisten. Angesprochen sind Medizinstudierende, die an einer experimentellen Studie interessiert sind und ihre Doktorarbeit in der Infektionsforschung erwerben wollen.