



Oddziaływanie fagowych szczepów referencyjnych ATCC 15692-B4-PP7 i ATCC 14206-B1-16 na dziki szczep bakterii *Pseudomonas aeruginosa*

A. Stobnicka-Kupiec^{*)}, M. Gołofit-Szymczak, M. Cyprowski, A. Ławniczek-Wałczyk, R.L. Górny

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa

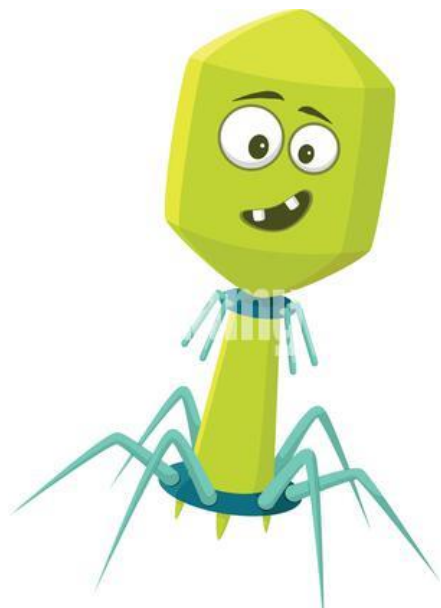
^{*)} email: agsto@ciop.pl

WPROWADZENIE

Bakteriofagi to wirusy, które atakują komórki bakteryjne (Fot. 1). Dla każdego gatunku bakterii istnieje jeden lub więcej szczepów bakteriofagów, które są naturalnymi czynnikami regulującymi liczebność populacji tych bakterii w przyrodzie.

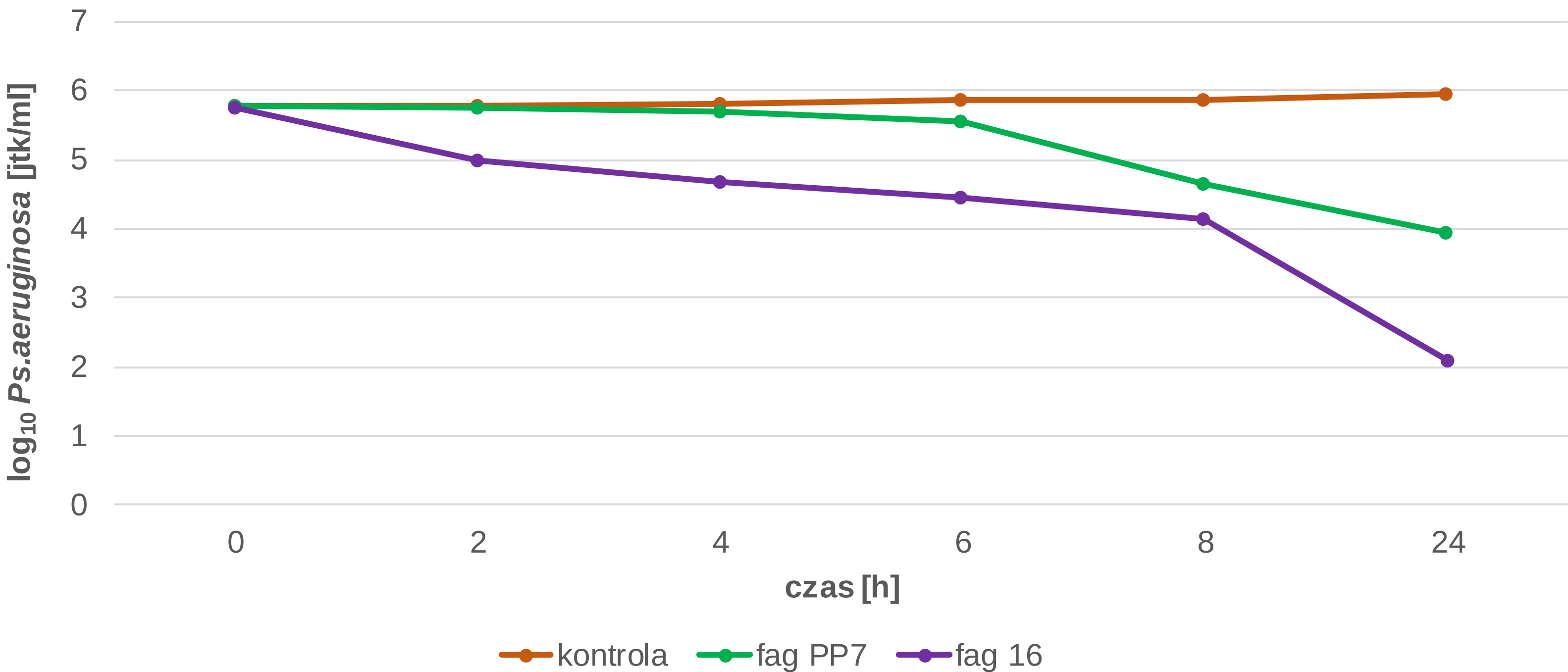
CEL BADAŃ

Celem tego badania była ocena redukcji liczby komórek bakteryjnych dzikiego szczepu *Pseudomonas aeruginosa* 287 (szczep wyizolowano z użytkowanych przez okres 6 miesięcy cieczy chłodzących stosowanych w obróbce metali; bakterie zidentyfikowano za pomocą techniki MALDI-TOF MS, indeks referencyjny = 2,35) pod wpływem wzorcowych szczepów bakteriofagów ATCC 15692-B4 PP7 i ATCC 14206-B1 16.

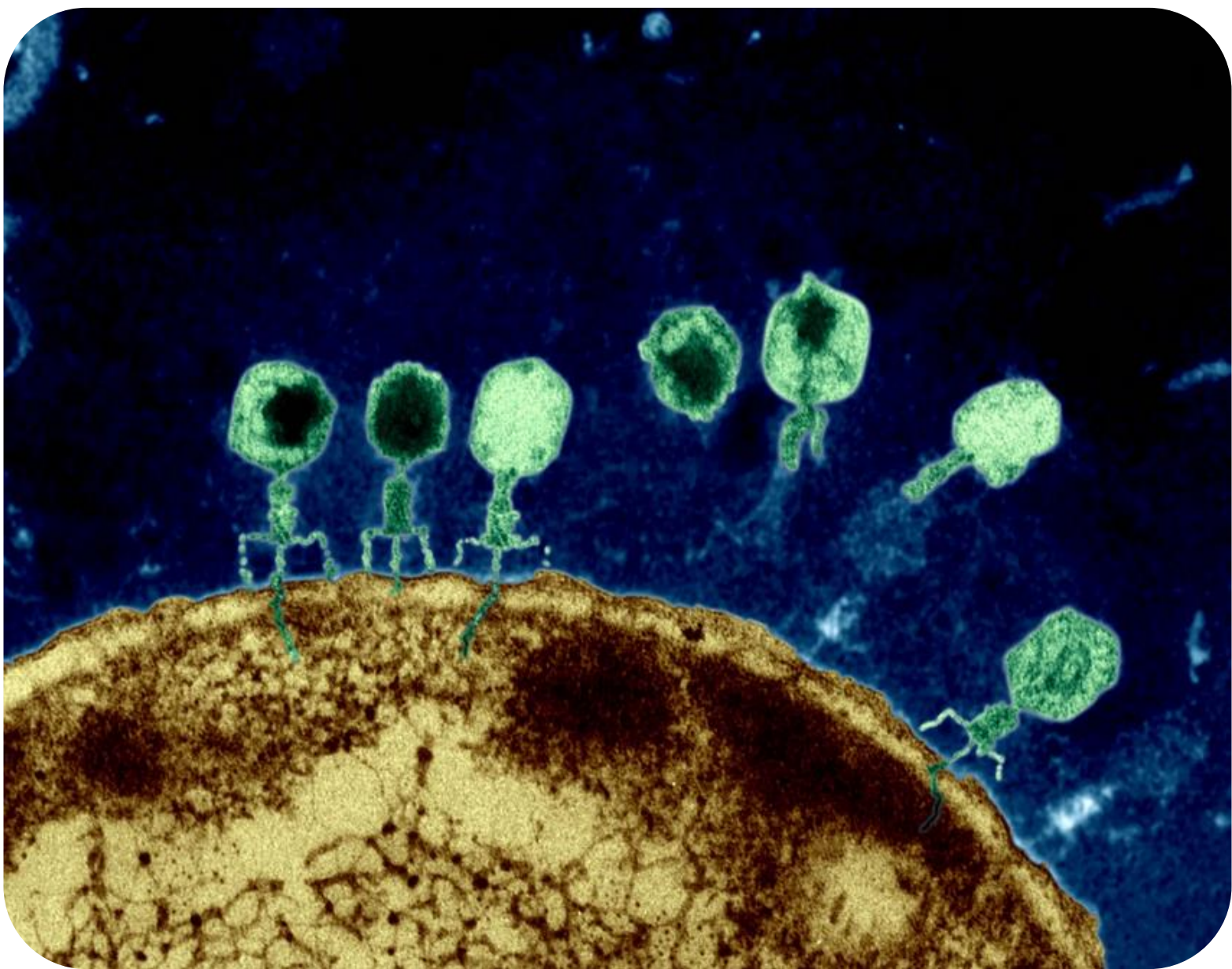


METODYKA

Namnażanie bakteriofagów zostało przeprowadzone zgodnie z zaleceniami ATCC, wykorzystując metodę dwuwarstwową według Adamsa (technika dwuwarstwowego testu łyśinkowego, ang. double-layer agar DLA), przy czym dolna warstwa zawierała 20%, a górna warstwa 5% agaru. Fag infekując komórki gospodarza powoduje pojawienie się półprzezroczystych lub przezroczystych stref (łyśinek) zawierających cząsteczki faga i fragmenty bakterii, który pozostały po procesie lizy. Do namnażania bakteriofagów zastosowano bulion/agar z infuzją mózgowo-sercową w przypadku faga ATCC 14206-B1 16 oraz agar odżywczy i bulion odżywczy z dodatkiem 5% NaCl (wszystkie podłoża: Becton Dickinson, Stany Zjednoczone) w przypadku faga 15692-B4 PP7. Propagację bakteriofagów prowadzono w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Oddziaływanie bakteriofagów na bakterie określono w roztworze podłoża zawiesinowego, które stanowił bulion odżywczy w rozcieńczeniu 1/500. Ocenę skuteczności oddziaływania bakteriofagów względem planktonicznych form bakterii *P. aeruginosa* określono poprzez wyliczenie stopnia redukcji logarytmicznej.



Rys. 1. Stężenia *P. aeruginosa* pod wpływem oddziaływania szczepów bakteriofagów PP7 i 16.



Fot. 1. Bakteriofagi atakujące komórki bakterii (źródło: Eye of Science)

Szczep bakteriofaga		Czas inkubacji				
		2h	4h	6h	8h	24h
<i>Ps. aeruginosa</i>	fag PP7	27,9232%	34,8837%	78,0822%	93,9474%	99,2846%
	fag 16	15,7143%	90,2713%	96,1644%	98,1316%	99,9094%

Tab. 1. Stopień redukcji log bakterii pod wpływem oddziaływania bakteriofagów. Kolorem czerwonym oznaczono stopień redukcji uznawany za istotny (> 90%).

WYNIKI

Biorąc pod uwagę oddziaływanie bakteriofagów na przeżywalność komórek bakterii *P. aeruginosa*, szybszą dynamikę redukcji liczby bakterii wykazywał szczep 16 – istotną redukcję liczby komórek bakteryjnych osiągnięto już po 4 h inkubacji (redukcja stężenia o 1 stopień log; ~ 90%) (rys. 1). Fag PP7 istotnie redukował liczbę komórek bakteryjnych po 8 h (o 1 stopień log; ~ 94%). Po 24 h inkubacji obserwowano redukcję liczby komórek bakteryjnych *P. aeruginosa* o 2 stopnie log (99%) dla faga PP7 i o 3 stopnie log (99,9%) dla faga 16.

WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały, że obydwa szczepy bakteriofagowe efektywnie redukują liczebność komórek bakterii *P. aeruginosa* w ciągu 24 h.