

## Bakteriofāgu lītisko spēju raksturojums *in vitro*

Kārlis Rācenis, Lāsma Eglīte, Andris Dišlers<sup>1</sup>,  
Velta Ose-Klinklāva<sup>1</sup>, Juta Kroiča

Rīgas Stradiņa universitāte, Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra, Latvija

<sup>1</sup> Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

**Ievads.** Mūsdienās arvien plašāk tiek novērota multirezistentu patogēno baktēriju izplatība. Viens no risinājumiem ir bakteriofāgu terapija, kuras pētījumiem pievērsušās daudzas Eiropas valstu klīnikas. Bakteriofāgi ir baktēriju vīrusi, kuriem piemīt unikāla spēja inficēt baktērijas, savairoties tajās un tās lizēt. Fāgi ir ļoti specifiski, tie spēj lizēt tikai katram fāgam atbilstīgas baktērijas; ja to nav, tad fāgi izdalās no organisma. Pie eikariotu šūnām tie nespēj piesaistīties. Šo īpašību dēļ bakteriofāgi var būt potenciāls līdzeklis cīņā ar infekcijām.

**Darba mērķis, materiāls un metodes.** Mērķis ir izpētīt komerciāli pieejamā fāgu preparātā esošu bakteriofāgu spēju lizēt mikroorganismus *in vitro* un apstiprināt fāgu klātbūtni elektronmikroskopiski. Izmantots fāgu lizāta preparāts "Sekstofag" (*Mirkogen*) un baktēriju references kultūras: *E. coli* (ATCC-33526 un 35218), *S. aureus* (ATCC-25923), *S. pyogenes* (ATCC-19615), *P. aeruginosa* (ATCC-27853), *P. mirabilis* (ATCC-43071). Kultivēšanai izmantota divslāņu agara metode barotnē (LB-Luria). Fāgu titrs noteikts negatīvo koloniju (plaku) veidojošās vienībās (pfu/ml). Fāgu attēli iegūti, lietojot caurstarojošo elektronmikroskopiju.

**Rezultāti.** Izmantojot "Sekstofag" lizāta preparātu un minētās baktēriju kultūras, tika izolēti astoņi dažādi dsDNS bakteriofāgi, kuri spēja lizēt izmantotās kultūras, no tiem – trīs *E. coli* fāgi ar sākotnējo titru preparātā:

- 1) V1 *E. coli* –  $2 \times 10^6$  pfu/ml, *Siphoviridae* dzimta, vidēja izmēra regulāru malu plakiem;
- 2) V2 *E. coli* –  $5 \times 10^7$  pfu/ml, *Myoviridae* dzimta, T4 līdzīgo fāgu ģints, vidēja izmēra regulāru malu plakiem;
- 3) V12 *E. coli* –  $2 \times 10^7$  pfu/ml, *Myoviridae* dzimta, T4 līdzīgo fāgu ģints, sīka izmēra regulāru malu plakiem.

Tika izmantoti arī divi *P. mirabilis* fāgi ar sākotnējo titru preparātā:

- 1) V3 *P. mirabilis* –  $1 \times 10^3$  pfu/ml, *Siphoviridae* dzimta, sīka izmēra regulāru malu plakiem;
- 2) V6 *P. mirabilis* –  $6 \times 10^3$  pfu/ml, *Siphoviridae* dzimta, vidēja izmēra regulāru malu plakiem.

Kā arī – divi *P. aeruginosa* fāgi ar sākotnējo titru:

- 1) V4 *P. aeruginosa* –  $4 \times 10^5$  pfu/ml, *Podoviridae* dzimta, liela izmēra saplūstošiem plakiem;
- 2) V11 *P. aeruginosa* –  $2 \times 10^5$  pfu/ml, *Myoviridae* dzimta, P2 ģints, vidēja izmēra regulāru malu plakiem.

Izmantots tika arī viens *S. aureus* fāgs ar sākotnējo titru: V9 *S. aureus* –  $1 \times 10^6$  pfu/ml, *Myoviridae* dzimta, P2 ģints, sīka izmēra regulāru malu plakiem.

Fāgi tika attīrīti, koncentrēti un tika pierādīta to spēja lizēt attiecīgās baktēriju kultūras. Tika iegūti astoņu morfoloģiski atšķirīgu bakteriofāgu elektronmikroskopijas attēli.

**Secinājumi.** Pētījumā tika pierādīts, ka "Sekstofag" preparātā esošajiem fāgiem piemīt spēja lizēt pētījumā izmantotās baktērijas. Pierādīts, ka *in vitro* ir iespējams savairot fāgus, tos attīrīt un sakoncentrēt, lai iegūtu fāgu elektronmikroskopijas attēlus. Pētījumā tika novērota fāgu izteikta lītiskā iedarbība pret noteiktu baktēriju celmu, ko apliecina, piemēram, divu dažādu *E. coli* celmu līze, izmantojot trīs dažādus *E. coli* bakteriofāgus. Plaku morfoloģiskais raksturojums parādīja atšķirīgas lītiskās spējas dažādiem fāgiem pret vienu baktēriju celmu. Izteiktākas lītiskās spējas bija V1, V2, V4, V6 un V11 fāgiem, bet mazāk izteiktas – V3, V9, V12 fāgiem. *S. pyogenes* celma līze netika novērota, jo iespējams, ka izmantotais celms ir rezistents pret konkrēto fāgu.

Izvērtējot rezultātus, redzams, ka mērķtiecīga ir tālāka bakteriofāgu lītisko spēju pētīšana.