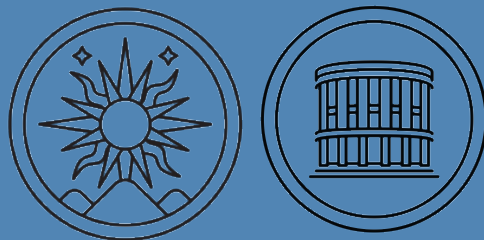


UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA



ŠTUDENTSKÁ VEDECKÁ KONFERENCIA PriF UK 2022

ZBORNÍK RECENZOVANÝCH PRÍSPEVKOV

ŠVK
PRIF UK
2022

**UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA**



**ŠTUDENTSKÁ VEDECKÁ
KONFERENCIA PriF UK 2022**

Zborník recenzovaných príspevkov

27. Apríl 2022
Bratislava, Slovenská republika
Univerzita Komenského v Bratislave
ISBN 978-80-223-5385-4

PREDESDA ŠVK PriF UK

RNDr. Eva Viglašová, PhD.

ODBORNÝ VÝBOR

doc. RNDr. Alžbeta Blehová, CSc.
RNDr. Petra Švábová, PhD.
doc. RNDr. Hana Drahovská, CSc.
RNDr. Regina Sepšiová, PhD.
Mgr. Andrej Ficek, PhD.
doc. RNDr. Peter Kabát, CSc.
Mgr. Renáta Švubová, PhD.
RNDr. Nora Tóth Hervay, PhD.
doc. RNDr. Tomáš Derka, PhD.
doc. Mgr. Peter Mikulíček, PhD.
doc. Mgr. Ľuboš Molčan, PhD.
RNDr. Katarína Stebelova, PhD.
RNDr. Igor Matečný, PhD.
doc. Mgr. Marcel Horňák, PhD.
prof. Mgr. Radovan Šebesta, DrSc.
doc. RNDr. Michal Galamboš, PhD.
RNDr. Lukáš Félix Pašteka, PhD.
doc. RNDr. Monika Jerigová, PhD.
PaedDr. Tibor Nagy, PhD.
RNDr. Soňa Nagyová, PhD.
prof. Ing. Bohdan Juráni, CSc.
prof. RNDr. Agáta Fargašová, DrSc.
doc. RNDr. Katarína Pavličková, CSc.
doc. RNDr. Ján Milička, CSc.
prof. RNDr. Daniela Reháková, CSc.
RNDr. Tatiana Durmeková, PhD.
prof. RNDr. Otilia Lintnerová CSc.
RNDr. Jana Fridrichová, PhD.
doc. Mgr. Martin Ondrejka, PhD.
doc. RNDr. Renáta Fľaková PhD.

PODPREDESDA ŠVK PriF UK

RNDr. Mária Chovancová, PhD.

Mgr. Táňa Sebechlebská, PhD.

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

RNDr. Michaela Dörnhöferová, PhD.
RNDr. Kamila Koči, PhD.
Mgr. Paulína Pidíková
Mgr. Dominik Kostoláni
Mgr. Dagmara Gajanová
Mgr. Petr Papežík
Bc. Michaela Kardohelyová
Mgr. Adriana Jariabková
Mgr. Lenka Kramarová
Mgr. Dominik Šmida
RNDr. Vojtěch Przybyla, PhD.
Matej Choreň
MSc. Olena Rybnikova
Mgr. Alexandra Molnárová
Bc. Julián Vrábel
Alexandra Chrenová
Mgr. Dominik Juračka
Bc. Alexander Kmet'
Mgr. Silvia Ihnačáková
RNDr. Adela Joanna Hamerníková

Izolácia a charakterizácia bakteriofágov infikujúcich bakteriálne patogény izolované z rán pacientov s Diabetickou nohou

Kristína Ivanová¹, Michal Kajsík^{1,2,3}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika;
kristina.ivanova2316@gmail.com

²Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, Slovenská republika

³Medirex Group Academy n.o. Novozámocká 1/67, 949054 Nitra, Slovenská republika

Abstract

Isolation and characterization of bacteriophages infecting bacterial strains isolated from patients with Diabetic Foot

Diabetic foot syndrome is complication in patients with diabetes mellitus. The most severe form of this condition are ulcers, which occur due to neuropathy, various degrees of ischemia and infection. The healing of wounds is often complicated by the infections caused by multi-resistant bacteria capable to survive conventionally used antibiotics. Therefore, the development of new and alternative approaches to the treatment of bacterial infection is currently needed. Bacteriophage therapy is a promising alternative to conventional antibiotics in the fight against bacterial infections because they have many advantages over antibiotics. The bacteriophages used in the therapy must be well characterized and specific to the target bacterium. Therefore, our aim was to isolate and characterize bacteriophages specific to *Enterococcus faecalis*. The result of the work is the capture and description of the basic biological properties of three specific phages, vB_Efa_VP14, vB_Efa_VP15 and vB_Efa_VP16.

Keywords: diabetic foot; bacterial pathogens; bacteriophages; phage therapy

Úvod a formulácia cieľa

Diabetes mellitus (DM, cukrovka) je jednou z najčastejších chronických chorôb 21. storočia, ktorá celosvetovo predstavuje finančne nákladný zdravotný problém pre pacienta ako aj pre samotný systém zdravotnej starostlivosti [1]. U pacientov s cukrovkou sú často pozorované komplikácie s dolnými končatinami, ktoré sa označujú pojmom „diabetická noha“ alebo „syndróm diabetickej nohy“ (SDN) [2]. Svetová zdravotnícka organizácia definuje syndróm diabetickej nohy ako ulceráciu chodidla, ktorá je spôsobená predovšetkým neuropatiou, rôznymi stupňami ischemie a infekcie [3]. U 60% diabetických pacientov je liečba vredov na nohách komplikovaná sprievodnou bakteriálnou infekciou [4]. Vredy na diabetickej nohe obsahujú často mnohé komenzálne alebo kolonizujúce baktérie, z ktorých niektoré majú potenciál stať sa invazívnymi patogénmi. V chronických vredoch sú najčastejšie izolovanými grampozitívnymi baktériami *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* a *Staphylococcus epidermidis* a z gramnegatívnych baktérií predovšetkým *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* [5]. V súčasnosti je veľkým problém, že mnohé patogénne mikroorganizmy sa stali rezistentné voči antibiotickej

liečbe. Bakteriálne biofilmy predstavujú dôležitú stratégiu pre prežívanie patogénnych bakteriálnych buniek a ich prítomnosť v ranách sa považuje za hlavný dôvod, prečo diabetické vtedy u pacientov s cukrovkou prechádzajú do ťažkých chronických stavov a prečo je tak náročné ich kontrolovať antibiotickou liečbou [6].

Vhodnou stratégiou v boji proti bakteriálnym infekciám by mohlo byť terapeutické použitie bakteriofágov, čo sú vírusy, ktoré výlučne infikujú baktérie a majú viacero výhod oproti klasickej antibiotickej liečbe. Preto je cieľom našej práce izolácia a charakterizácia bakteriofágov schopných infikovať a zabíjať bakteriálne bunky. V práci sme sa zamerali na bakteriálny druh *E. faecalis*, nakoľko sa jedná o multirezistentnú oportunistickú baktériu, ktorá spôsobuje infekcie u mnohých pacientov s diabetickou nohou.

Materiál a metódy

V našej práci sme použili bakteriálne kmene izolované z rán pacientov s diabetickou nohou v nemocnici v Malackách. V práci sme použili 40 bakteriálnych kmeňov zaradených do druhov *E. faecalis* (27 kmeňov), *Enterobacter cloacae* (9 kmeňov), *S. aureus* (3 kmene) a *Streptococcus agalactiae* (1 kmeň).

Izolácia bakteriofágov

Bakteriofágy sme izolovali z odpadovej vody z čističiek v Modre, Senici a v Petržalke amplifikáciou na bakteriálnych indikátorových kmeňoch *E. faecalis*. Následne sme bakteriofágy purifikovali trojnásobným odpichnutím jednotlivých plakov z dvojitého agaru s následnou amplifikáciou a pomocou purifikácie v gradiente chloridu cézneho sme získali čistý fágový preparát, ktorý sme ďalej používali na stanovenie hostiteľskej špecificity bakteriofágov, teplotnej stability a schopnosti adsorpcie bakteriofágov.

Stanovenie hostiteľskej špecificity bakteriofágov

Na vrchný agar obsahujúci príslušnú bakteriálnu kultúru sme nakvapkali bakteriofág a misky sme kultivovali cez noc v termostate pri teplote 37°. Na druhý deň sme pozorovali buď vznik plakov, ktorý hovoril o schopnosti bakteriofága lyzovať príslušný bakteriálny kmeň, alebo nám plaky nevznikli, čo znamenalo, že daný bakteriofág nie je účinný voči príslušnému bakteriálnemu kmeňu.

Stanovenie teplotnej stability bakteriofágov

Bakteriofágy sme vystavili rôznym teplotným podmienkam (4°C, 20°C, 37°C, 42°C, 56°C, 70°C, 80°C a 90°C) po dobu 5 minút. Bakteriofágy sme následne nariedili v mikroplatničke. Na vrchný agar obsahujúci indikátorový bakteriálny kmeň sme nakvapkali bakteriofága a misky sme vložili na noc do termostatu. Na druhý deň sme spočítali vzniknuté

plaky a stanovili titer fága (podľa vzorca uvedeného nižšie) po vystavení rôznym teplotným podmienkam.

$$\text{PFU/ml} = \text{počet plakov} \times \text{zried'ovací faktor} \times 1000 \mu\text{l} / 10 \mu\text{l} \quad [1]$$

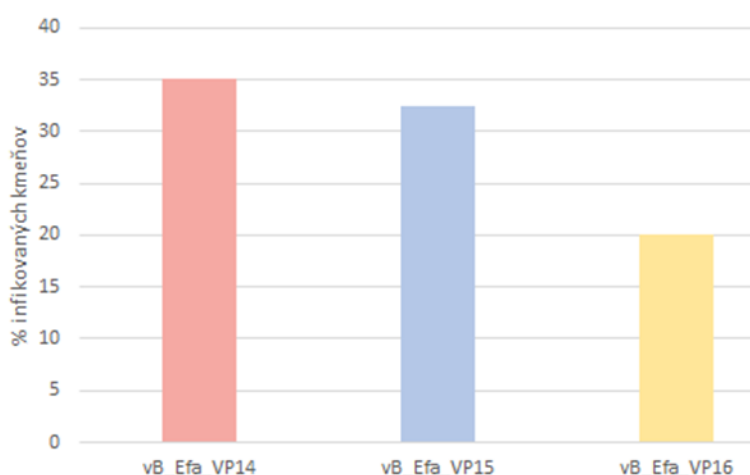
Stanovenie schopnosti adsorpcie bakteriofágov

K 90 μl bakteriálnej kultúre s $\text{OD}_{600}=1$ sme pridali 10 μl fágového lyzátu s titrom 10^7 PFU/ml a zmes sme inkubovali pri laboratórnej teplote 10 minút. Následne sme 100 μl zmesi pridali do 900 μl vychladeného SM pufru. Zmes sme následne centrifugovali, nariedili v mikropatničke a nakvapkali na vrchný agar obsahujúci príslušnú bakteriálnu kultúru. Misky sme vložili na noc do termostatu a na druhý deň sme stanovili titer fága.

Výsledky a diskusia

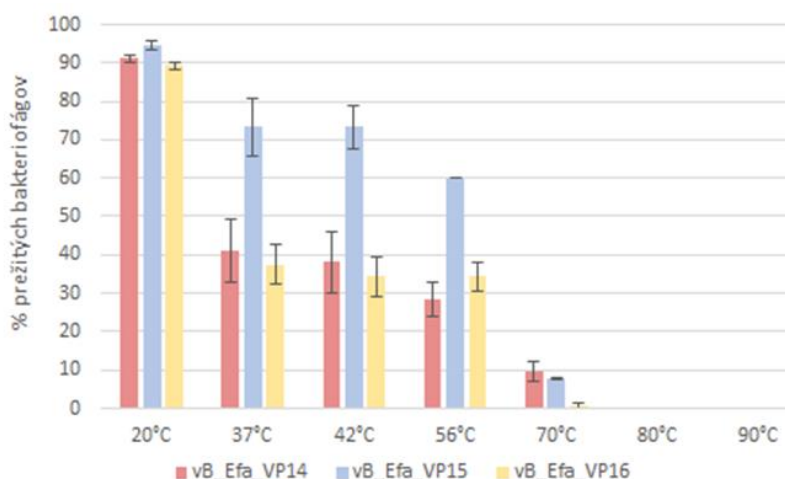
Z čističiek odpadovej vody sa nám podarilo izolovať tri bakteriofágy amplifikáciou na indikátorových kmeňoch *E. faecalis* 587A a *E. faecalis* 11883A.

Schopnosť bakteriofágov infikovať bakteriálne kmene sme stanovili na vzorke 27 kmeňov *E. faecalis*. Okrem toho sme hositeľskú špecificitu stanovovali aj na kmeňoch *E. cloacae* (9 kmeňov), *S. aureus* (3 kmene) a *S. alcaligenes* (1 kmeň). Najširšiu hositeľskú špecificitu vykázal bakteriofág vB_Efa_VP14, ktorý infikoval 14 kmeňov zo 40 a naopak najužšiu hositeľskú špecificitu mal bakteriofág vB_Efa_VP16, ktorý infikoval len 8 zo všetkých 40 kmeňov. Naše bakteriofágy infikovali predovšetkým grampozitívne kmene *E. faecalis* a zároveň všetky naše bakteriofágy infikovali dva gramnegatívne kmene *E. cloacae*.



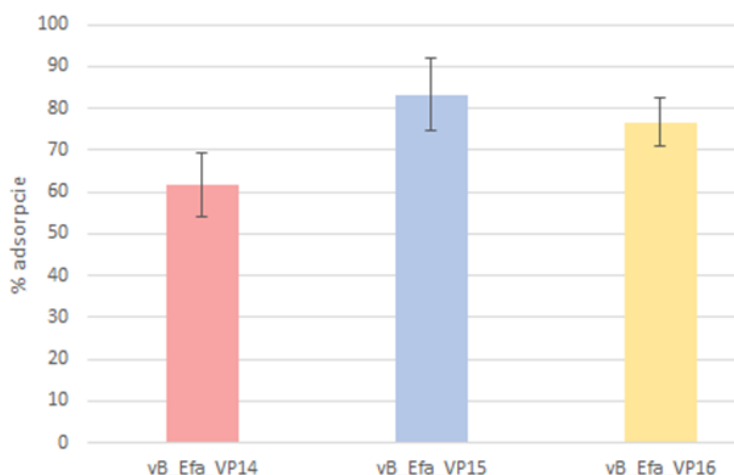
Obr. 1. Hositeľská špecificita bakteriofágov

Stanovili sme tiež teplotnú stabilitu bakteriofágov pri teplotách 20 - 90°C po dobu 5 minút. Ako kontrolu sme použili teplotu 4°C, čo je typická teplota pre uchovávanie fágov. Najvyššiu stabilitu vykázal bakteriofág vB_Efa_VP15 a najnižšiu bakteriofág vB_Efa_VP16 (Obr. 2). Teplote 70°C najlepšie odolával bakteriofág vB_Efa_VP14 a pri teplotách 80°C a 90°C nám už bakteriofágy nepreživali vôbec.



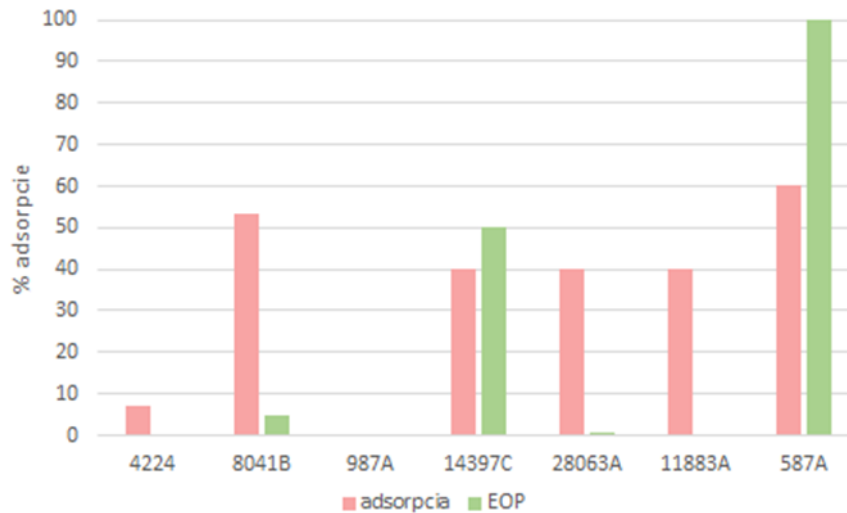
Obr. 2. Teplotná stabilita bakteriofágov

Ďalej sme pre každý bakteriofág stanovili krivku adsorpcie na indikátorový kmeň (Obr. 3). Zistili sme, že na hostiteľský kmeň za 10 minút adsorbovalo 61 – 83% fágov. V prípade fága vB_Efa_VP15 sme pozorovali najvyššiu adsorpciu (83%) a v prípade fága vB_Efa_VP14 sme pozorovali najnižšiu adsorpciu (61%).

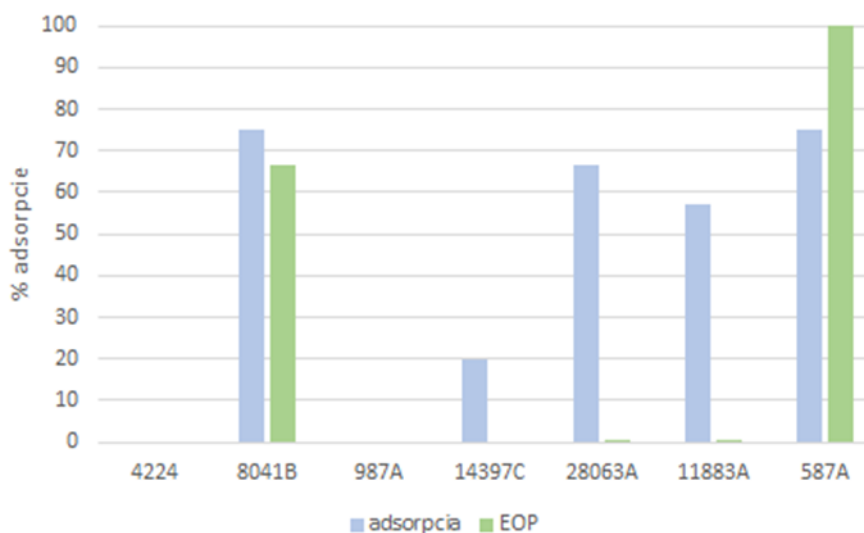


Obr. 3. Adsorpcia bakteriofágov na indikátorových kmeňoch *E. faecalis* V prípade fága vB_Efa_VP14 a vB_Efa_VP15 bol indikátorovým kmeňom *E. faecalis* 587A a v prípade fága vB_Efa_VP16 to bol kmeň *E. faecalis* 11883A

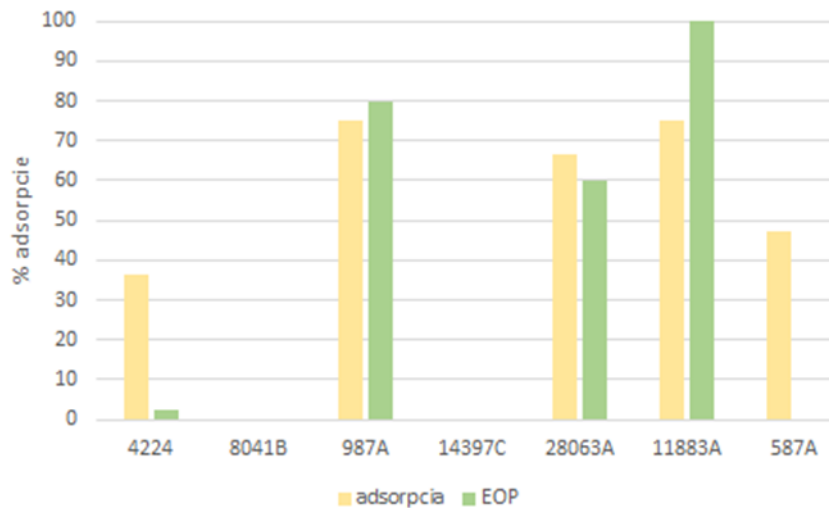
Pre každého bakteriofága sme určili tiež mieru adsorpcie na vybraných kmeňoch *E. faecalis*. Cieľom tohto experimentu bolo zistiť, či bakteriofágy, ktoré neinfikujú dané kmene sú schopné adsorpcie, čo sa nám potvrdilo napríklad v prípade bakteriofága vB_Efa_VP16 (Obr. 6), ktorý neinfikuje bakteriálny kmeň *E. faecalis* 587A a dosiahol adsorpciu 47%. Tiež môžeme vidieť napríklad, že napriek nízkej infekčnosti fága vB_Efa_VP15 (Obr. 5) voči kmeňu *E. faecalis* 28063A, je miera adsorpcie tohto fága na kmeň pomerne vysoká (67%).



Obr. 4. Adsorpcia bakteriofága vB_Efa_VP14 na vybraných kmeňoch *E. faecalis* – EOP (efficiency of plating)



Obr. 5. Adsorpcia bakteriofága vB_Efa_VP15 na vybraných kmeňoch *E. faecalis* EOP (efficiency of plating)



Obr. 6. Adsorpcia bakteriofága vB_Efa_VP15 na vybraných kmeňoch *E. faecalis* EOP (efficiency of plating)

Záver

Podarilo sa nám izolovať bakteriofágy z odpadovej vody a stanoviť ich hostiteľskú špecificitu, teplotnú stabilitu a mieru schopnosti adsorpcie na vybraných kmeňoch. Fágy sú stabilné, špecificky infikujú *E. faecalis* a po dokončení charakterizácie môžu byť použiteľné na fágovú terapiu.

PodĎakovanie

„Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Výskum a vývoj využiteľnosti autonómnych lietajúcich prostriedkov v boji proti pandémie spôsobenej COVID-19, kód ITMS: 313011ATR9, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.“

Zoznam použitej literatúry:

- [1] Hurlow J. J., Humphreys G. J., Bowling F. L., et al. (2018) *Int. Wound J.* 15(5), p. 814
- [2] Tuttolomondo A., Maida C., Pinto A. (2015) *World J. Orthop.* 6(1), p. 62
- [3] Jeffcoate W. J., Macfarlane R. M., Fletcher E. M. (1993) *Diabet. Med.* 10(7), p. 676
- [4] Monteiro-Soares M., Boyko E. J., Ribeiro J., et al. (2012) *Diabetes Metab. Res. Rev.* 28(7), p. 574
- [5] Charles P. G., Uçkay I., Kressmann B., et al. (2015) *Anaerobe* 34, p. 8
- [6] Milho C., Andrade M., Boas D. V. (2019) *Int. J. Pharm.* 557, p. 112

Štúdium možností uchovávania fágových preparátov

Nikola Kováčová¹, Michal Kajsík^{1,2,3}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika; kovacova457@uniba.sk

²Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, Slovenská republika

³Medirex Group Academy n. o. Novozámocká 1/67, 949054 Nitra

Abstract

Study of the phage preparation storing methods

Solid bacteriophage conservation methods that guarantee access to native or mutant stocks of unaltered properties have become crucial in view of the growing interest in bacteriophages. Any application of bacteriophages is based on phage collection which must be maintained in the short, medium or long term. A universal storage method that retains the infectivity of any species of bacteriophage virions, whether in a cell lysate or in a purified suspension, does not exist due to the vast diversity of bacteriophages. The aim of this work is to optimize the phage storage solution and compare the effect of stabilizers (sucrose, mannitol, glucose) while maintaining a viable and stable bacteriophage. Bacteriophages Dev2 and PetCM3-4 survived best at 4 °C. Glucose and sucrose had the best effect on maintaining stability in PetCM3-4. Dev2 showed stability regardless of the stabilizers used.

Keywords: bacteriophages; phage stability; storage conditions

Úvod a formulácia cieľa

V posledných rokoch záujem o bakteriofágy kontinuálne narastá, najmä pre ich atraktívne vlastnosti a rôznorodú aplikáciu. Fágy ponúkajú veľký potenciál v potravinárstve a poľnohospodárstve, biotechnológiách, globálnom kolobehu živín ako aj v zdravotníctve. Okrem toho pokroky v genetike, bakteriológii a syntetickej biológii otvorili mnoho príležitostí pre ďalšie terapeutiká založené na fágoch [1].

Väčšina aplikácií bakteriofágov začína od fágovej zbierky. Tá je uskladnená krátkodobo, strednodobo a dlhodobo. Bakteriofágy však nie sú statické a ich stabilita varíruje v závislosti od podmienok prostredia a citlivosti bakteriofága na ponúknuté podmienky. Nároky na prostredie, v ktorom sú bakteriofágy životaschopné a nestrácajú svoju infekčnosť sa líšia nie len medzi jednotlivými rádmi fágov ale už medzi fágovými čeľad'ami. Kvôli rozdielom v citlivosti jednotlivých fágov na fyzikálne podmienky a zloženie skladovacích puffrov, neexistuje univerzálna skladovacia metóda pre všetky bakteriofágy [2].

Cieľom práce bola optimalizácia skladovania fágového lyzátu, porovnanie jednotlivých podmienok uskladnenia a sledovanie, ktorá z daných podmienok bola ideálna a spĺňala nároky bakteriofága nie len na prežitie ale aj na zachovanie dostatočného fágového titra. V práci sme

sa zamerali na PetCM3-4, predstaviteľ a *Myoviridae*, a Dev2, ktorý patrí medzi *Podoviridae*.

Materiál a metódy

V našej práci sme používali bakteriálne kmene a bakteriofágy, ktoré boli izolované v predošlom období na našom pracovisku (Tab. 1).

Tab. 1. Indikátorové bakteriálne kmene a bakteriofágy použité v práci

Indikátorový kmeň	Bakteriofág	Morfológia bakteriofága
<i>Cronobacter malonaticus</i>	PetCM3-4	<i>Myoviridae</i>
<i>Cronobacter turicensis</i>	Dev2	<i>Podoviridae</i>

Stanovenie titra bakteriofága pomocou kvapkového testu na dvojitém agare

V práci sme používali fágový preparát s titrom fága 10^8 PFU/ml.. Do čistej skúmavky sme napipetovali 200 μ l bakteriálnej kultúry, ktorú sme kultivovali cez noc a k nej sme pridali 5 ml LB top agaru. Zmes sme vyliali na Petriho misku s tuhým LB médiom. Na stuhnutý povrch sme kvapkali 10 μ l fágového lyzátu nariadeného rôznych riedení. Po vyschnutí sme Petriho inkubovali pri teplote 37 °C cez noc. Na druhý deň sme spočítali vzniknuté plaky a určili sme titer bakteriofága.

Príprava vzoriek na skladovanie

Tlmivé pufre s fágmi sme pripravili podľa tabuliek 1. – 4. Alikvóty vzoriek sme skladovali pri 4 °C, - 20 °C, - 80 °C. Do vzoriek, ktoré boli predurčené na skladovanie pri - 20 °C a - 80 °C sme pridali 25 μ l 80% glycerolu. Lyofilizované vzorky sme skladovali pri 4 °C. V alikvótach sme stanovili množstvo fágov v troch časových intervaloch – hneď na druhý deň, po 3 a 6 mesiacoch.

Tab. 2. Príprava tlmivých pufrov s fágmi

Fágový lyzát v SM s obsahom solí	Fágový lyzát v SM bez solí	Fágový lyzát v LB s obsahom solí	Fágový lyzát v LB bez solí
5mM CaCl ₂ + 5mM MgCl ₂ + fágový lyzát	fágový lyzát	5mM CaCl ₂ + 5mM MgCl ₂ + fágový lyzát	fágový lyzát
skladovací roztok obsahoval 0,5M glukózu	skladovací roztok obsahoval 0,5M sacharózu	skladovací roztok obsahoval 0,5M manitol	skladovací roztok neobsahoval sacharidy

Výsledky a diskusia

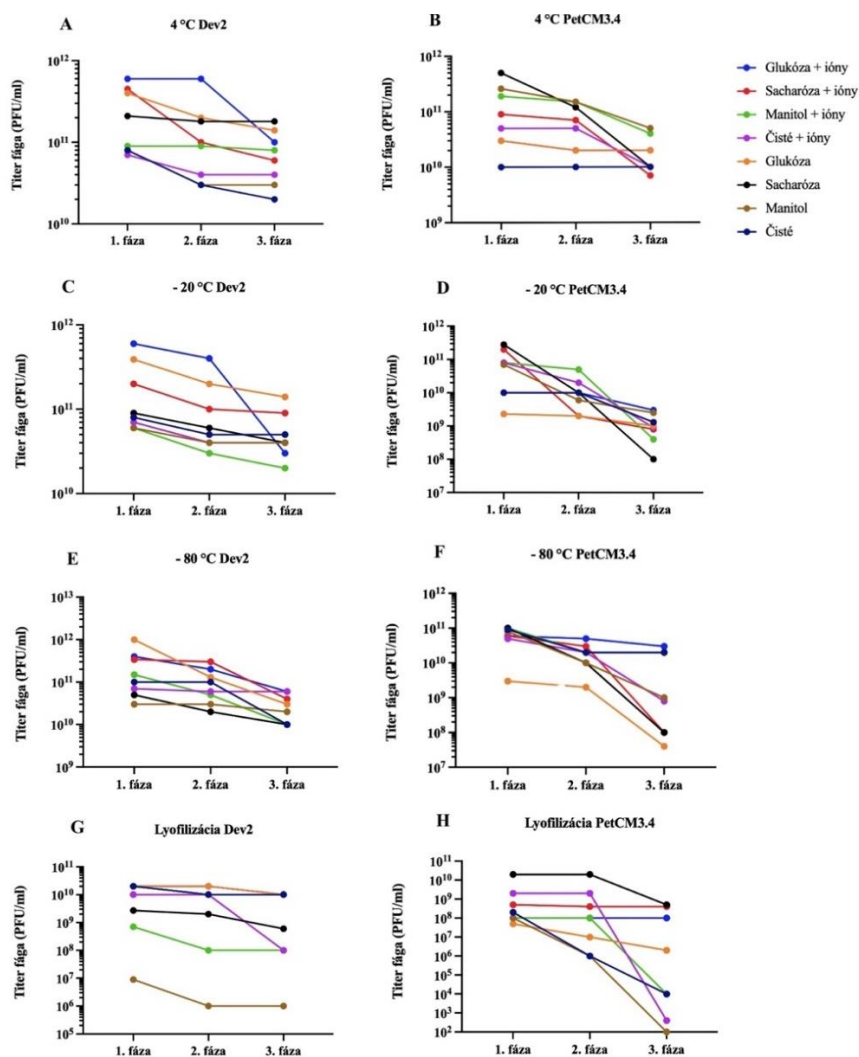
V našej práci sme použili dva *Caudovirales* bakteriofágy s odlišnou morfológiou skladované pri vybraných podmienkach (4, -20, -80 ° C a lyofilizácia). Bakteriofág Dev2 je robustný a nenáročný na podmienky skladovania. Súvisí to s jeho krátkym, nekontraktilným chvostíkom bez prítomnosti bazálnej platničky. Naopak, PetCM3.4 s jeho dlhým, kontraktilným chvostíkom a komplikovanou bazálnou platničkou je na skladovacie podmienky náročnejší. Oba testované bakteriofágy, Dev2 a PetCM3.4, boli vystavené rovnakým podmienkam pričom sa sledovala účinnosť vybraných stabilizátorov (glukóza, sacharóza, manitol, MgCl₂, CaCl₂). Sacharidy a ióny majú stabilizačný účinok. Sacharidy boli identifikované ako jeden z osmolytov, ktoré stabilizujú mikroorganizmy v nepriaznivých podmienkach, ako je dehydratácia a zvýšené teploty [3]. Fágová aktivita bola testovaná v troch časových intervaloch. V prvej fáze sa testovala fágová aktivita hneď na druhý deň. Účelom bolo zistiť, ako sa bakteriofágy adaptovali na stanovené podmienky. Ďalšie dve testovania sa uskutočnili s trojmesačným odstupom.

Obidva testované bakteriofágy boli najstabilnejšie pri 4 ° C. Pri uvedenej teplote sme u testovaných bakteriofágov nevidovali signifikantný pokles fágového titra (Obr. 1 A, B) a bakteriofágy dosiahli najvyššie percento prežívania po 6-tich mesiacoch v porovnaní s počiatočným stavom. Možným dôvodom je, že táto teplota predstavuje pre bakteriofágy teplotu ich prirodzeného prostredia. Nevýhodou danej skladovacej metódy je, že čo i len najmenšia odchýlka od 4 ° C môže viesť k destabilizácii až strate životaschopnosti bakteriofága.

Výraznejší pokles bol evidovaný u testovaného bakteriofága PetCM3.4, ktorý bol uskladnený pri - 20 a - 80 ° C. PetCM3.4 patrí do rodiny *Myoviridae*. Fágy, ktoré patria do tejto rodiny sú charakteristické dlhým, kontraktilným chvostíkom s komplikovanou bazálnou platičkou. Dev2 patrí medzi *Podoviridae*; má krátky nekontraktilný chvostík a vďaka tomu je bakteriofág Dev2 oveľa robustnejší čo sa týka skladovacích podmienok. PetCM3.4 má komplikovaný lyzačný aparát a vykazuje menšiu stabilitu pri uchovávaní mrazom (Obr. 1 D, F). Podobný výsledok získali aj González-Menéndez a kol. [4]. V ich štúdiu naznačujú, že deštrukcia fágov skladovaných pri - 20 ° C bola výraznejšia pre fágy patriace do rodiny *Myoviridae* napriek prítomnosti stabilizátorov, ktoré sa bežne používajú na kryokonzerváciu mikroorganizmov. Obr. 1 C-F sú v zhode s daným tvrdením. Jedným z možných vysvetlení je, že kryokonzervačný účinok disacharidov sa stráca počas pomalého zmrazovania [4].

Proteíny sú často stabilnejšie v suchom stave ako v roztoku. V roztoku sú vystavené stresovým podmienkam vrátane teploty, pH, iónovej sily, miešania, rizika mikrobiálnej

kontaminácie a chemickej degradácie súvisiacej s vodou [3]. V suchom práškovom stave existuje väčšia flexibilita v podmienkach prepravy a skladovania bakteriofága. Lyofilizácia predstavuje najatraktívnejšiu skladovaciu metódu. V počiatočnej fáze pri oboch testovaných bakteriofágoch došlo k výraznému poklesu v porovnaní s alikvótami, ktoré boli skladované pri 4, -20, -80 ° C (Obr. 1). V prípade bakteriofága Dev2 v ďalších testovacích fázach nedošlo k poklesu fágového titra a jeho aktivita ostala od prvej fázy bez zmeny. Všetky stabilizátory boli efektívne. V prípade testovaného PetCM3.4 sa ako účinné stabilizátory ukázali glukóza v kombinácii s iónmi a sacharóza v kombinácii s iónmi. V období testovania stability nedošlo k jej poklesu v prípade glukózy s iónmi; percento prežitia po 6-tich mesiacoch bolo 100%. Pri sacharóze v kombinácii s iónmi bolo percento prežitia 80%. V prípade lyofilizovaného fágového lyzátu s manitolom bakteriofág PetCM3.4 stratil svoju životaschopnosť.



Obr. 1. Prežívanie bakteriofágov Dev2 a PetCM3-4 počas skladovania v prítomnosti stabilizátorov pri: (A,B) 4 ° C; (C,D) - 20 ° C; (E,F) - 80 ° C a (G,H) 4 ° C po lyofilizácii

Záver

V našej práci sme boli schopní stanoviť optimálnu skladovaciu teplotu a určiť, ktorý stabilizátor vykazoval najvyššiu účinnosť v zachovaní stabilného a životaschopného bakteriofága. Dev2 prežíval vo všetkých podmienkach na porovnateľnej úrovni, bez výrazných zmien. PetCM3.4 prežíval najlepšie pri 4 ° C ale rovnako tak preukázal stabilitu vo forme lyofilizovaného lyzátu skladovaného pri 4 ° C v prítomnosti glukózy alebo sacharózy ako stabilizátora.

PodĎakovanie

„Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Výskum a vývoj využiteľnosti autonómnych lietajúcich prostriedkov v boji proti pandémiej spôsobenej COVID-19, kód ITMS: 313011ATR9, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.“

Zoznam použitej literatúry

- [1] Harada L. K., Silva E. C., Campos W. F., et al. (2018) *Microbiol. Res.* 2018, vol. 212-213, p. 38
- [2] Łobocka M. B., Głowacka A., Golec P. (2018) *Methods Mol. Biol.* 2018, vol. 1693, p. 219
- [3] Ohtake S., Kita Y., Arakawa T. (2011) *Adv. Drug. Deliv.* 2011, vol. 63, p. 1053
- [4] González M. E., Fernández L., Gutiérrez D., et al. (2018) *PLoS One.* 2018, vol. 219, p. 1693

Študentská vedecká konferencia 2022
Zborník recenzovaných príspevkov

Dátum a miesto konania: 27. apríl 2022
Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta

Editori: RNDr. Eva Viglašová, PhD.
RNDr. Mária Chovancová, PhD.
Mgr. Táňa Sebechlebská, PhD.
Mgr. Dagmara Gajanová

Recenzenti: Členovia odborného výboru

Grafická úprava: RNDr. Eva Viglašová, PhD.

Vydanie: prvé

Náklad: 400ks

Rozsah strán: 1189

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave

ISBN: 978-80-223-5385-4



ŠVK
PRIF UK
2022

ISBN 978-80-223-5385-4