

Απομόνωση και Χαρακτηρισμός Βακτηριοφάγων του είδους *Moraxella catarrhalis* από το Ανώτερο Αναπνευστικό

Π.Τζανή-Τζανοπούλου¹, Σ.Τάκα¹, Η.Wanstall^{1,2}, Ε.Λεγάκη¹, Σ.Μεγρέμης², Π.Α.Ξεπαπαδάκη¹, Ε.Λεμπέση³, Α.Δουδουλακάκης³, Γ.Καλτσάς⁴, Ν.Γ.Παπαδόπουλος^{1,2}

¹Μονάδα Αλλεργιολογίας, Β' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων «Π&Α Κυριακού», Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Division of Infection, Inflammation and Respiratory Medicine, University of Manchester, Manchester, United Kingdom

³Μικροβιολογικό Εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων, «Π&Α Κυριακού»

⁴Εργαστήριο Μικρορευστομηχανικής, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι βακτηριοφάγοι (φάγοι) μπορούν να αποτελέσουν θεραπευτικό μέσο για την αποκατάσταση της διαταραγμένης μικροχλωρίδας. Το άσθμα συνδέεται με αυξημένο αποικισμό από συγκεκριμένα παθογόνα όπως *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* ή/και *Staphylococcus aureus*. Η αποκατάσταση της δυσβίωσης στο άσθμα με τη χρήση φάγων βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό στάδιο, καθώς δεν έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί λυτικοί φάγοι για ένα από τα βασικότερα είδη που σχετίζονται με το άσθμα, το βακτήριο *M.catarrhalis*.

ΣΚΟΠΟΣ: Η παρούσα εργασία διενεργείται στα πλαίσια του προγράμματος CURE: «*Constructing a Eubiosis Reinstatement Therapy for Asthma*», και έχει ως στόχο την ανίχνευση, καλλιέργεια και ταυτοποίηση πιθανά λυτικών φάγων του είδους *M.catarrhalis* από ανθρώπινα ρινοφαρυγγικά δείγματα.

ΜΕΘΟΔΟΙ: Έγινε εμπλουτισμός των δειγμάτων με στελέχη τους είδους *M.catarrhalis* και στη συνέχεια έλεγχος για παρουσία λυτικών φάγων με τη μέθοδο διπλής επίστρωσης άγαρ. Έγινε απομόνωση DNA φάγων και στη συνέχεια χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και της αλληλούχισης κατά Sanger για τον χαρακτηρισμό των αλληλουχιών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Έγινε εντοπισμός και απομόνωση ενός βακτηριοφάγου που σχημάτιζε λυτικές πλάκες στην αποικία του βακτηρίου. Αυτό ήταν αποτέλεσμα επαγωγής με μυτομικίνη, για την απελευθέρωση των προ-φάγων. Η ειδική PCR επιβεβαίωσε ότι στην αποικία εντοπίστηκε προ-φάγος του βακτηρίου *M.catarrhalis*. Η περαιτέρω ανάλυση με στοχευμένη αλληλούχιση έδειξε ότι οι φάγοι που εντοπίστηκαν ήταν χαρακτηρισμένοι λυσιγονικοί-προφάγοι για τα βακτήρια του είδους *M.catarrhalis*.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ: Η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός λυτικών φάγων του αναπνευστικού για το είδος *M.catarrhalis* αποτελεί έναν από τους κυριότερους στόχους στην προσπάθεια αποτελεσματικού ελέγχου και πρόληψης της εκδήλωσης άσθματος για αυτό το λόγο είναι πολύ σημαντικός ο χαρακτηρισμός τους. Είναι αναγκαία η περαιτέρω μελέτη των χαρακτηριστικών του συγκεκριμένου είδους φάγων για τη αποτελεσματική απομόνωση και καλλιέργειά τους.