

DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS DEL BACTERIÓFAGO Φ ITL-1.

José Luis Mendoza, Jesús Hernández, María Inés Chávez.; Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Dirección de Biotecnología, Jiutepec, Morelos; C.P. 62550. mchavez@upemor.edu.mx.

Palabras clave: bacteriófagos, parámetros cinéticos, fagoterapia.

Introducción. Los bioprocesos son, actualmente, una plataforma industrial para la producción de diversos metabolitos de interés. La tecnologías enfocadas para la producción y aplicación de bacteriófagos aún están en desarrollo, en contraste con el gran avance en la producción de otros metabolitos y proteínas recombinantes de importancia biológica. En nuestro grupo de investigación en el aislamiento y caracterización de bacteriófagos líticos contra diferentes patógenos de importancia médica y agroindustrial. El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros cinéticos del bacteriófago Φ ITL-1 con la finalidad de desarrollar un bioproceso para su producción (1).

Metodología.

Cepas bacterianas. El fago fue amplificado en medio NBY empleando la bacteria *Ralstonia solanacearum*. **Medios de cultivo.** Se empleó un medio mineral enriquecido con 5 g/L de glucosa (MMG). **Cuantificación fágica.** Se determinaron las unidades formadoras de placa (PFU) mediante la técnica de vertido en placa. **Cuantificación del crecimiento bacteriano.** El crecimiento bacteriano se determinó por turbidimetría y por conteo en placa. **Determinación de la constante de adsorción fágica (δ).** Se cultivó a *R. solanacearum* en MMG y fue infectada con una multiplicidad de infección (MOI) de 0.001. Se emplearon como controles medio de cultivo sin infectar y sin inocular. Se determinó δ empleando el modelo reportado por Hyman y Abedon (2009) (1). **Curva de un solo paso.** En la determinación del periodo latente (α) y el tamaño de explosión (β) y la velocidad específica de producción viral (σ), se hizo una curva de un solo paso, que consistió en realizar una cinética de replicación viral de 4 h con una MOI de 1.5. **Velocidad de decaimiento fágico (π).** Se determinó la estabilidad del bacteriófago en MMG.

Resultados.

La velocidad de adsorción fágica (δ) se define como una relación de probabilidad entre la cantidad de fagos libres que son adsorbidos en una célula bacteriana, y su valor determina el grado de infectividad del virus (2). Los datos obtenidos fueron linealizados como se muestra en la figura 1. La pendiente de la línea recta es δX , donde X es la concentración bacteriana inicial. El valor de δ fue de 1.45×10^{10} mL/min, lo que sugiere que es un fago lítico y altamente infectivo.

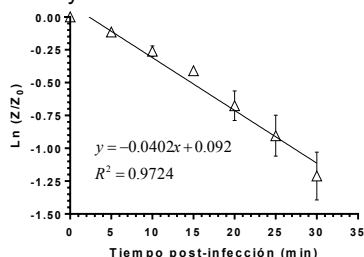


Fig. 1. Curva de adsorción para el fago Φ ITL-1.

En la figura 2 se muestra la curva de un solo paso, mediante la cual se determinó que β es de 57 PFU/CFU, σ es de 0.0503 h^{-1} , y α de 60 min.

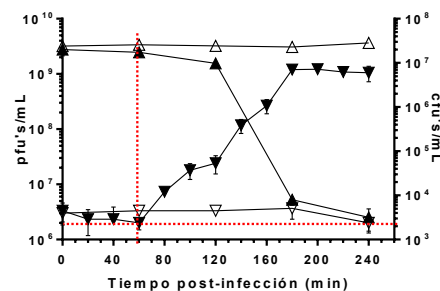


Fig. 2. Curva de un solo paso. Concentración fágica (▼), concentración bacteriana (▲), control negativo (▽), control positivo (■).

Finalmente, es muy importante que durante el bioproceso, los bacteriófagos seas estables durante la fermentación y la purificación. Por esta razón se determinaron los perfiles de estabilidad en MMG, que fue el medio empleado para su producción. En estos experimentos se determinó que a temperatura ambiente (TA) el tiempo de reducción decimal (T_{RD}) fue de 194 días; mientras que el T_{RD} a 4°C fue de 280 días. El valor para π a TA fue de 0.0199 d^{-1} , mientras que a 4°C fue de 0.008 d^{-1} .

Conclusiones. 1) Con base al valor δ el bacteriófago Φ ITL-1 es altamente infectivo, lo cual es adecuado para su uso en fagoterapia. 2) El bacteriófago es estable en el medio de cultivo para su producción, siendo mejor almacenarlo a 4°C .

Bibliografía

- (1) Mendoza-Porcayo, J.L. 2018. Tesis de maestría. Upemor.
- (2) Hyman, P., Abedon, S.T. (2009). Practical methods for determining phage growth parameters. En Bacteriophages protocols and methods. Vol. 502. Springer Link. p. 175-202.
- (3) Clokie, R. J.; Kropinski, M.A., Lavinge, R. (2009). Vol. 3. Life Sciences. p. 531.

