

New Developments in the Use of Bacteriophages in the Treatment of Bacterial Infections

Fatemeh Emaeilzadeh¹, Mohammad Soleimani^{2*}

¹ Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Qom Branch, Qom, Iran

² Department of Microbiology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: Resistance increase to a variety of antibiotics has caused microbiology researchers to develop new ways instead of the conventional treatment methods for preventing bacterial infections. Nowadays, Phages or bacterial contaminant particles are using as an efficient method in the treatment of many infectious diseases. The uses of live bacteriophages in the treatment of fatal diseases, that caused by Gram positive and negative bacteria, have been mentioned in various reports. Modern methods of genetic engineering improve the efficiency of phages in treatment of bacterial infections. Using these methods are one of the most important aspects of phase therapy for the prevention of bacterial infections. Phages were capable of destroying the cell wall of bacteria by producing lysosomal enzymes. Moreover, they can be used to reduce the rate of growth of bacterial infections.

Methods and Materials: This review article is a content analysis study that has been performed by searching phage therapy and antibiotic resistance in the related articles in reliable sites and books in this regard.

Results: The use of bacteriophage, as new method to limit the growth of bacteria, cause infectious diseases that create new perspectives in the development of new drugs to reduce the bacterial infections.

Discussion and Conclusion: Although, the use of phages, as new drugs in restricting the growth of bacterial infections, has high priority and importance, it seems to need more research in this area. In addition, more developed techniques should be done to evaluate and design new phages.

Keywords: Antibiotic resistance, Phage therapy, Bacterial diseases

*(Corresponding author) Mohammad Soleimani, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: m.soleimani@ajaums.ac.ir

پیشرفت‌های جدید در استفاده از باکتریوفازها در درمان عفونت‌های باکتریایی

فاطمه اسماعیل زاده^۱، محمد سلیمانی^{۲*}

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران.

^۲ گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: گسترش مقاومت به انواع مختلفی از آنتی بیوتیک‌ها سبب شده است تا محققان علوم میکروبیولوژی روش‌های جدیدی را جایگزین روش‌های درمانی مرسوم در پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی نمایند. استفاده فازها یا ذرات آلوده کننده باکتریایی، امروزه به عنوان روشی کارآمد در درمان بسیاری از بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از باکتریوفازهای زنده در درمان بیماری‌های مهلک و کشنده که توسط باکتری‌های گرم منفی و مثبت ایجاد می‌شود، در گزارشات مختلف به آن اشاره شده است. یکی دیگر از مهمترین جنبه‌های فاز درمانی برای پیشگیری از ابتلا به عفونت‌های باکتریایی، استفاده از روش‌های نوین مهندسی ژنتیکی برای تغییر سیستم ژنتیکی فازها و تراریخته کردن آنها، به منظور افزایش کارایی این فازها در درمان عفونت‌های باکتریایی است. فازها با تولید کردن آنزیم‌های لیزوزومال قادر به تخریب دیواره سلولی باکتری‌ها بوده و می‌توانند برای کاهش نرخ رشد باکتری‌های عفونی مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها: مقاله حاضر یک مقاله مروری می‌باشد که به شیوه تحلیل محتوا (Content Analysis) با جستجوی کلید واژه‌های فاز درمانی و مقاومت آنتی بیوتیکی در مقاله‌های مرتبط در پایگاه‌های اینترنتی معتبر و کتاب‌های مربوطه در این زمینه بدست آمده است.

یافته‌ها: استفاده از باکتریوفازها به عنوان هدف‌های جدید برای محدود ساختن رشد باکتری‌های عامل بیماری‌های عفونی می‌تواند چشم اندازهای جدیدی را در توسعه داروهای جدید برای کاهش میزان عفونت‌های باکتریایی فراهم نماید. **بحث و نتیجه‌گیری:** استفاده از فازها به عنوان داروهای جدید در محدود کردن رشد باکتری‌های عفونی از اولویت و اهمیت بالایی برخوردار است، اما به نظر می‌رسد در این زمینه بایستی تحقیقات بیشتری صورت گیرد و تکنیک‌های توسعه یافته‌تری برای ارزیابی و طراحی فازهای جدید مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، فاز درمانی، بیماری‌های باکتریایی

مقدمه

کارآمدی که امروزه در بسیاری از خانواده‌های باکتریایی مشاهده می‌شود، وجود مقاومت به انواع مختلفی از آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد (۱). اساساً باکتری‌ها دارای ژن‌های در درون ژنوم خود هستند که قادرند به راحتی در مقابله با یک یا گروهی از آنتی بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان دهند. مادامی که باکتری‌ها در مقابله طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شوند، اصطلاحاً گفته می‌شود که

همه انواع عناصر میکروبی شامل باکتری‌ها توانایی حفاظت از خودشان به صورت طبیعی در مقابله با انواع مختلفی از آنتی بیوتیک‌ها را دارند. مواد شیمیایی که گاه منشأ گیاهی دارند و از آنها برای مهار عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌ها استفاده می‌شود تحت عنوان آنتی بیوتیک نامگذاری می‌شوند. یکی از مکانسیم‌های

از باکتریوفازها به عنوان هدف‌های جدید برای محدود ساختن رشد باکتری‌های عامل بیماری‌های عفونی می‌تواند چشم اندازهای جدیدی را در توسعه داروهای جدید برای کاهش میزان عفونت‌های باکتریایی فراهم نماید. باکتریوفازها دسته‌ای از ویروس‌های آلوده کننده باکتری‌ها هستند. فازها پارازیت‌های داخل سلولی هستند که قادرند وارد سیستم سلول باکتریایی شوند و با در اختیار گرفتن دستگاه همانندسازی باکتریایی و سایر اجزای سلولی، باعث کاهش رشد باکتری‌ها و در نهایت محدود کردن عفونت‌های باکتریایی شوند (۷). با توجه به این ویژگی مفید فازها می‌توان از آنها برای درمان انواع مختلفی از بیماری‌های عفونی که در اثر باکتری‌های بیماری‌زا در انسان ایجاد می‌شوند استفاده کرد (۱-۵). مقاله حاضر به صورت کاملاً کلیدی موارد استفاده از باکتریوفازها را در درمان و مهار بیماری‌های عفونی باکتریایی بررسی می‌نماید و سعی بر ارائه چشم اندازی جامع و کلیدی در این مورد به خوانندگان عزیز دارد.

مواد و روش‌ها

مقاله حاضر یک مقاله مروری می‌باشد که به شیوه تحلیل محتوا (Content Analysis) با جستجوی کلید واژه‌های فاز درمانی و مقاومت آنتی بیوتیکی در مقاله‌های مرتبط در پایگاه‌های اینترنتی معتبر و کتاب‌های مربوطه در این زمینه بدست آمده است.

یافته‌ها

ویروس‌شناسی باکتریوفازها: در حال حاضر ۱۲ خانواده از فازها وجود دارند که از آنها برای فاز درمانی در مقابله با بیماری‌های عفونی باکتریایی استفاده می‌شود (جدول ۱) (۶).

این فازها به دو دسته فازهای پوشش دار و بدون پوشش تقسیم می‌شوند. همانندسازی فازها مشابه با سایر ویروس‌ها می‌باشد. بعد از اتصال به رسپتور اختصاصی در دیواره سلول باکتریایی، ژنوم فاز وارد سلول می‌شود. پوشش کپسیدی فاز معمولاً بر روی دیواره سلولی باکتری باقی می‌ماند و وارد باکتری نمی‌شود (۲). بعد از ورود فاز به درون سلول میزبان، ممکن است ژنوم فاز تخریب و تجزیه گردد (۷). از آن جا که فراوانی فازها در محیط زیاد است، لذا باکتری‌ها دارای مکانیسمی برای تخریب ژنوم فازی و جلوگیری از آلوده شدن توسط این ویروس‌ها هستند. در درون ژنوم فازها

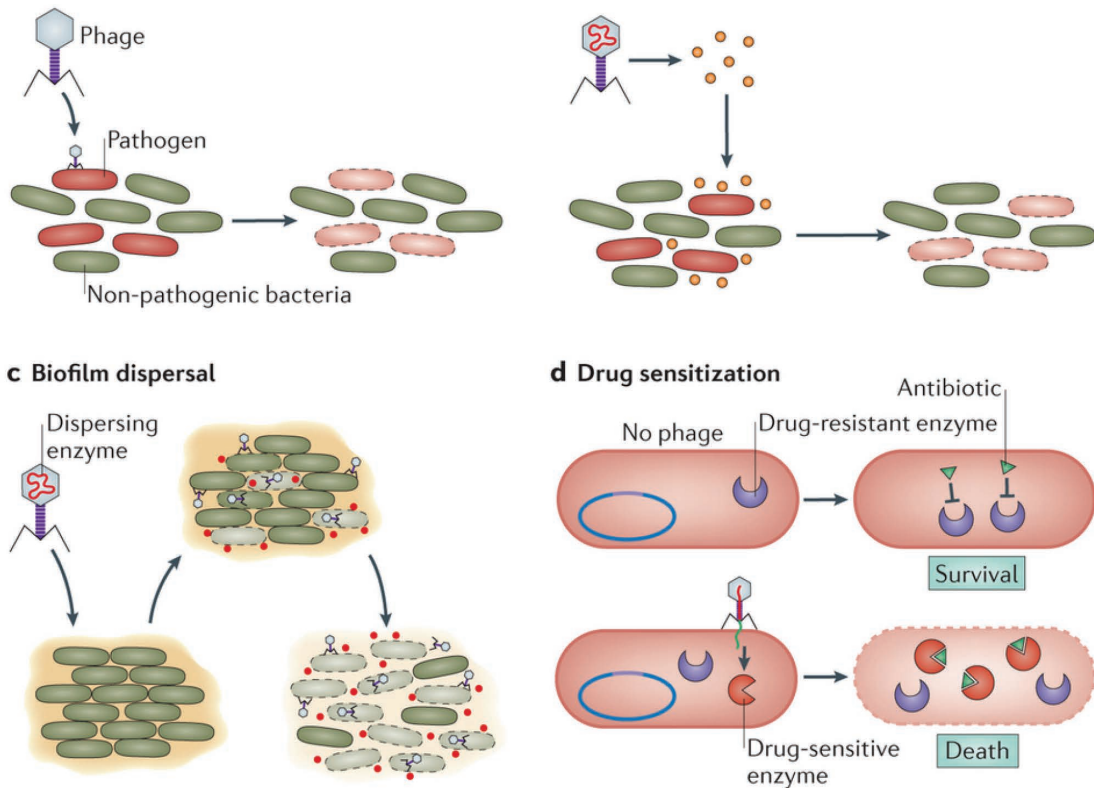
باکتری‌های موردنظر دارای ویژگی مقاومت چند دارویی هستند. امروزه مقاومت چند دارویی یکی از چالش بر انگیزترین بحث‌های پیش روی متخصصان علوم میکروبیولوژی و پزشکان برای درمان عفونت‌های باکتریایی می‌باشد (۲). تا به امروز، داروهای مختلفی برای رفع این مشکل در سرتاسر دنیا توسعه یافته است، اما با وجود همه پیشرفت‌هایی که در این زمینه صورت گرفته است، (۱، ۵) هنوز دانشمندان موفق به کشف دارویی که بتواند به صورت قطعی مشکل مقاومت چند دارویی را در میان خانواده‌های باکتریایی از بین ببرد نشده‌اند. برای فائق شدن بر این مشکل روش‌هایی مانند استفاده از ترکیبات پلیمری، ذرات نانو، سنتز داروهای جدید، استفاده از روش‌های پروتئومیکسی و ژنومیکسی نیز مدنظر قرار گرفته است (۳). در برخی از گزارشات استفاده از میکروارگانیسم‌های دریایی به عنوان ابزاری در مقابله با مقاومت چند دارویی در میان انواع خانواده‌های باکتریایی به عنوان روشی بهبود یافته در در مان عفونت‌های میکروارگانیسمی معرفی شده است. به هر حال امروزه، ایدولوژی‌هایی که در زمینه سنتز ترکیبات مصنوعی به وجود آمده است برای کنترل بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). فرآورده‌های طبیعی مشتق شده از گیاهان، یکی دیگر از راهکارهای پیشنهادی میکروبیولوژیست‌ها برای کاهش صدمات ناشی از بیماری‌های عفونی باکتریایی می‌باشد. فرآورده‌های گیاهی و مشتقات آنها امکان استحصال فرآورده‌های فارماکولوژیک را فراهم آورده و می‌توان از آنها به عنوان داروهای ضد التهاب استفاده نمود (۴) و وجود خاصیت‌هایی نظیر خواص آنتی آکسیدانسی، ضد میکروبی، ضد التهابی، و ضد درد در فرآورده‌های گیاهی آنها را برای محدود کردن بیماری‌های عفونی باکتریایی به عنوان کاندید بسیار مناسبی به صنایع داروسازی معرفی کرده است. هر چند که این روش‌های درمانی با موفقیت‌های نسبتاً خوبی همراه بوده است، اما در بسیاری از موارد مشاهده می‌شود که اثرات جانبی این فرآورده‌ها به مراتب بیشتر از خواص آنها است و ممکن است برای بیمارانی که چنین فرآورده‌هایی استفاده می‌کنند مشکلات فراوانی را بهمراه داشته باشند. به همین منظور برای رفع مشکل مربوط به مقاومت باکتریایی به نظر می‌رسد ابزارهای کارآمد و حرفه‌ای نیاز است که علاوه بر اینکه مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها را کاهش دهند، بلکه بتوانند باعث کاهش میزان عفونت نیز گردند (۵). استفاده

جدول ۱- خانواده‌های باکتریوفاژها

مثال	جنس	خانواده
فاژهای دارای کپسید		
فاژ اکولپلازما	پلاسمایروس	Plasmaviridae
Φ۶	سیستوویروس	Cystoviridae
فاژ ترموپروتوس ۱	لیپوتریکس ویروس	Lipothrixviridae
فاژهای بدون کپسید		
کولی فاژ fd	اینو ویروس	Inoviridae
فاژ اکولپلازما	پلکتوویروس	
کولی فاژ MS۲	لویویروس	Leviviridae
کولی فاژ Qbeta	آلوویروس	
کولی فاژ ۱۷۴Xφ	میکروویروس	Microviridae
فاژ اسپیروپلازما	اسپیروویروس‌ها	
کولی فاژ T۴		Myoviridae
PM۲	کورتیکوویروس	Corticoviridae
کولی فاژ TV		Podoviridae
فاژ لامبدا	خانواده فاژ لامبدا	Siphoviridae
SSV-۱		Sulpholobusshibate virus
فاژ PRD۱	تکتیویروس	Tectiviridae

پیوسته استفاده شده است. با این حال، در غرب، با روی کار آمدن آنتی بیوتیک‌ها این روش درمانی جدی گرفته نشد. دلیل اصلی استفاده نکردن از فاژ درمانی در غرب نبود دانش کافی در مورد بیولوژی باکتریوفاژها بود. باکتریوفاژها برای اولین بار در سال ۱۹۱۵ توسط یک محقق بریتانیایی در محیط باکتری‌ها مشاهده شدند. دو سال بعد شخص به نام دهلر در سال ۱۹۱۷ طی گزارشی وجود فاژها در محیط طبیعی رشد باکتری‌ها را گزارش داد. بعد از این کشف تا اواسط سال ۱۹۲۰ هویت فاژها برای دانشمندان مجهول بود. تا اینکه مجدداً دهلر توانست مکانیسم علم این فاژها را شناسایی کرده و در طی مقاله‌ای به تشریح عملکرد زیستی این فاژها بپردازد. بعد از شناسایی گسترده فاژها توسط محققان دیگر تمرکز بر روی فاژها در برنامه‌های باکتریوفاژ درمانی در طی سال‌های ۱۹۲۰ تا ۱۹۳۰ در ایالات متحده آمریکا به اوج خود رسید. در طی این سال‌ها شرکت آمریکایی Lilly توانست ژلی به نام استافیلوژل - که یک ژل نشاندار شده با باکتریوفاژها بود را بسازد و از این ژل برای مدیریت عفونت ایجاد شده توسط باکتری‌های استافیلوکوکوس و انواع باسیل‌ها استفاده شود. آزمایشگاه آبوت در سال‌های بعد موفق به تولید فیلترهای مجهز به ذرات فاژی گردید. در طی سالهای بعدی محققان موفق گردیدند که خواص آنتی بیوتیکی فاژها را در مقابله با عفونت‌های باکتریایی کشف نمایند (۱). به نظر می‌رسد فاژها به راحتی می‌توانند سیستم‌های باکتریایی را آلوده کنند و از این طریق رشد باکتری‌ها را محدود نمایند. در حال حاضر فاژها به عنوان ابزارهای کارآمدی در مطالعات مربوط به مهار عفونت‌های باکتریایی مورد توجه بسیاری از میکروبیولوژیست‌ها و محققان قرار گرفته‌اند. در بین سال‌های ۱۹۵۰ تا ۱۹۸۰ مقالات زیادی در رابطه با موضوع مورد بحث در این مقاله یعنی فاژ درمانی ارائه شده است (۲). در طی سال‌های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۶ این روند اضافه شده و اکنون با کلید واژه Phage therapy بیش از ۱۵۰۰۰ رکورد اطلاعاتی در ضمیمه ISI در اختیار کاربران قرار می‌گیرد. این حجم بالای اطلاعات نشان از اهمیت کاربردی فاژها در محدود نمودن رشد عوامل عفونی باکتریایی دارد. به عنوان مثال فاژها نشان داده‌اند، که می‌توان از آنها برای محدود کردن بیماری‌های عفونی که توسط باکتری‌هایی مانند *E. coli* (عامل انواع عفونت‌های سیستمیک)، *S. typhimurium* (عامل انواع اسهال‌های خونی) و همچنین *Pseudomonas aeruginosa*

جایگاهی به نام جایگاه‌های برشی یا محدود کننده وجود دارد که آنزیم‌های باکتریایی قادر به شناسایی این نواحی و برش ژنوم فاژ هستند (۶). بعد از برش ژنوم فاژ توسط آنزیم‌های باکتریایی DNA فاژ تخریب می‌گردد و در نتیجه باکتری سالم مانده و به عفونت زایی یا فعالیت طبیعی خود ادامه می‌دهد. فاژهای بیماری زا، مواد ژنتیکی خود را وارد سیستم ژنتیکی میزبان نمی‌نمایند، بلکه به صورت مستقل همانندسازی کرده و باعث تخریب سلول میزبان می‌شوند (۳). چنین چرخه آلودگی را تحت عنوان چرخه لیتیک نامگذاری می‌کنند. بنابراین ممکن از این فاژها برای نابود کردن باکتری‌ها استفاده شود و در اهداف درمانی بیماری‌های عفونی باکتریایی در فاژدرمانی مورد استفاده قرار گیرند (شکل ۱). (۸) تاریخچه فاژ درمانی: از سال ۱۹۱۹ در شرق اروپا و شوروی سابق از باکتریوفاژها برای درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده به طور



شکل ۱- استفاده از باکتریوفاژها در برنامه‌های فاز درمانی

که برای کاهش میزان عفونت ناشی از باکتری‌های عفونی‌کننده در انسان نیز تولید شده‌اند که از این ترکیبات می‌توان به انتولیزات، نیسولیزات، کولولیزات و استافیلولیزات اشاره کرد. این موارد از جمله کارآمدترین مواردی است که در رابطه با تهیه فاژها مورد استفاده قرار گرفته است (۹).

مقایسه فاژها و آنتی‌بیوتیک‌ها: در بسیاری از مقالات به خاصیت یکسان آنتی‌باکتریال ترکیبات فاژی و ترکیبات آنتی‌بیوتیکی اشاره شده است. به هر حال به نظر می‌رسد که فاژها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها از اثرات درمانی مطلوب‌تری برخوردار هستند. بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از فاژها برای تهیه ترکیبات دارویی می‌تواند به صورت موثرتری در درمان بیماری‌های عفونی مدنظر قرار گیرد. به عنوان مثال مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است مشخص نموده است که در بیمارانی که بوسیله باکتری‌های مولد عفونت ریه (استافیلوکوکوس ارئوس) الوده شده بودند، استفاده از ترکیبات فاژی توانسته بود با درصد بالایی گسترش بیماری را در این افراد محدود نماید (۶). در پژوهشی که در فاز بالینی و با استفاده از تیمارهای انسانی صورت گرفت در دو گروه A و B از

اشاره کرد. در برخی از مقالات گزارش شده است که در موش‌هایی که دچار نوعی عفونت باکتریایی که مولد آن باکتری ایکلای بود، به صورت موضعی از فاژها استفاده شود نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها اثرات قویتری در درمان عفونت مشاهده می‌شود. یکی از مهمترین داروهای آنتی‌باکتریال که توسط شرکت‌های دارویی با تاکید بر استفاده از فاژها برای کاهش میزان عفونت‌های باکتریایی تولید شده است، داروی MediPhage میباشد. این دارو در حال حاضر به عنوان یک داروی موثر در محدود کردن عفونت‌های باکتریایی توسط سازمان جهانی غذا و دارو (FDA) مورد تایید قرار گرفته است (۸). تهیه تجاری داروهای فاژی: در حال حاضر ۵ دسته از فاژها به عنوان اهداف مناسب در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی در درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این فاژها با اسامی تجاری Bacte-pyo-phage، Bacte-intesti-phage، Bacte-rhino-phage، Bacte-staphy-phage و Bacte-coli-phage موجود می‌باشند (۷). این فاژها بر علیه باکتری‌هایی مثل اشریشیاکلاسی، استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس و سایر عوامل باکتریایی که در انسان عفونت ایجاد می‌کنند به کار برده می‌شوند. همچنین ترکیبات مشتق شده از فاژها

استفاده از باکتریوفاژها در درمان عفونت‌های حیوانات انجام دادند. در نخستین مقاله‌ی آن‌ها، موش‌ها با سویه‌ای از *E. coli* که از یک کودک مبتلا به مننژیت جدا شده بود، و دارای کپسول بود و سم تولید می‌کرد، آلوده شدند (۳). باکتریوفاژی که از آن استفاده شد، ویژه‌ی آنتی ژن کپسولی k1 بود و مخصص شد که یک دوز داخل عضلانی (i.m) از آن اثری برابر با چندین دوز از تتراسایکلین، آمپی سیلین، کلرامفنیکل یا تری متوپریم + سولفامورازول دارد. استفاده از یک فاژ ضد k1 نه تنها تأثیر بسیار بیشتری نسبت به فاژهای دیگر داشت، بلکه بدین معنا بود که هر موتانت مقاومی که به وجود می‌آمد، باید بدون k1 می‌بود و بنابراین ویروانس بسیار کمتری داشت. کارهای بعدی انجام شده توسط این پژوهشگران شامل درمان اسهال ناشی از *E. coli* در گوساله‌ها، بچه خوک‌ها و بره‌ها، پیشگیری از اسهال در گوساله‌ها، و ارزیابی تأثیر شرایط محیطی بر ماندگاری باکتریوفاژهای درمانی بود (۸، ۶).

نتایج قابل قبولی در تمام این مطالعات بدست آمد و مدارک قابل اطمینان و تکرار پذیری بدست آمد که نشان می‌دهد باکتریوفاژ درمانی در درمان عفونت‌های حیوانات مؤثر است و می‌تواند در درمان عفونت‌های انسانی نیز جایگاهی داشته باشد. این کار توسط استویول و همکاران ادامه یافت. آن‌ها تأثیر فاژ در مهار عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا و *A. baumannii* در زخم‌های سوختگی را بررسی کردند. این پاتوژن‌ها بویژه در این موارد مشکل ساز هستند، زیرا هر دوی آن‌ها به چندین آنتی بیوتیک مقاوم هستند، می‌توانند منتشر شده و عفونت‌های عمومی در بدن ایجاد کنند. همچنین می‌توانند منجر به رد پیوند پوست شوند. استویول با استفاده از خوک‌های گینه‌ای بعنوان مدل، نشان داد که می‌توان از تخریب پیوندهای پوست توسط سودوموناس آئروژینوزا با تجویز فاژ پیش از پیوند جلوگیری کرد. همچنین نشان داد که فاژها سبب محافظت در برابر عفونت‌های سیستمیک ناشی از این پاتوژن در بدن موش آزمایشگاهی می‌شوند (۱۲). استفاده از فاژ اسپیتوباکتر با دوز کمتر از ۱۰۰ واحد تشکیل دهنده‌ی پلاک (PFU) در موش سبب ایجاد محافظت در برابر ۱۰^۸ واحد کلنی ساز (CFU) از باکتری *A. baumannii* شد، که این میزان از باکتری، ۵ برابر بیشتر از دوز کشنده‌ی آن (LD50) بود، و دیده شد که فاژ در بدن حیوان تکثیر می‌یابد. در مورد سودوموناس آئروژینوزا نیز نتایج مطلوبی بدست

بیماران که دارای جامعه آماری به ترتیب ۲۲۳ و ۱۱۷ نفر بودند دو مورد استفاده از آنتی بیوتیک و باکتریوفاژها اعمال گردید. در نتایج این پژوهش مشخص گردید که استفاده از باکتریوفاژها به صورت موثرتری توانست شیوع بیماری را در بین این افراد محدود نماید. بنابراین در نتایج این پژوهش مشخص گردید که علاوه بر مشاهده نشدن مقاومت باکتریها در گروهی که از باکتریوفاژها به عنوان داروی درمانی استفاده شده بود، همچنین مشاهده گردید که باکتریهای عفونی عامل بیماری با نرخ بالاتری سرعت رشد آنها کاهش یافته بود (۱۰).

باکتریوفاژهای مهندسی شده: با در نظر گرفتن نقش کاربردی فاژها در کاهش نرخ رشد بیماری‌های عفونی، امروزه با استفاده از تکنولوژی مهندسی ژنتیک فاژهای تراریختی تولید شده است که این فاژها قادرند با بیان پروتئین‌های اختصاصی به صورت متمایزی باکتری‌های عفونی را از بین ببرند. در بسیاری از فاژهای تراریخت توالی ژن SOS قرار داده شده است که پروتئین کد شده توسط این ژن در فاژ می‌تواند عکس پروتئینی که در باکتری وجود دارد عمل نماید و در نتیجه باعث کاهش رشد باکتری شود (۱-۵). از اینگونه فاژهای تراریخت در محدود کردن رشد بیماریهایی که باکتری اشریشیاکلای مولد آن است در حال حاضر استفاده می‌شود. فاژهای تراریخته همانند آنتی بیوتیک‌ها عمل کرده و باعث افزایش کارایی کاهش رشد باکتری می‌شوند. در مقایسه با آنتی بیوتیک‌هایی مانند کوئینولون‌ها، فاژها به مراتب بهتر عمل کرده و باعث افزایش کارایی کاهش نرخ رشد باکتری می‌گردند. این فاژهای تراریخت به عنوان ادجوانت‌های بسیار قوی در مقابله با بسیاری از بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود و دارای نقشی معادل با نقش آنتی بیوتیک‌هایی مانند خانواده بتا لاکتام و آمینوگلیکوزیدها هستند. اگر فاژهای مهندسی شده به درستی بتوانند شبکه‌های ژنی مرتبط با ژن SOS را در باکتری‌ها و گونه‌های مشابه را مهار نمایند می‌توان از آنها به عنوان آنتی بیوتیک‌های بسیار موثری در درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده نمود (۱۲).

مطالعات بالینی: هنگامی که پژوهشگران غرب از کارهای انجام گرفته در شوروی و شرق اروپا آگاهی یافتند، برخی از آنها تصمیم گرفتند که فاژ درمانی را با روش‌های قابل اطمینان‌تری ارزیابی کنند. دکتر اسمیث و همکاران مجموعه‌ای از آزمایشات بسیار دقیق را بر روی

ایمپلنت‌ها یافت می‌شوند. این مشکل در استفاده از بسیاری از ایمپلنت‌ها دیده شده است؛ مانند میل‌های (فنر) (catheters) درون سیاهرگ، فنر مجاری ادرار، لنزهای تماسی، ابزارهای درون‌رحمی جلوگیری از بارداری، رگ‌های مصنوعی قلب، و ایمپلنت‌های مورد استفاده در شکستگی استخوان. هیچ عفونت بیوفیلمی مرتبط با ابزارهای پزشکی در عفونت‌های دهان و دندان، عفونت پروستات، و عفونت‌های مزمن ریه در اثر سودوموناس آئروژینوزا که سبب سیستمیک فیبروزیس می‌شود، دیده نشده است (۷، ۹، ۱۲).

تغییر خواص اتصال میزبان: می‌توان باکتریوفازها را دستکاری ژنتیکی کرد تا چگونگی اتصال آن‌ها به میزبان تغییر کند. فاز رشته‌ای M13 که میزبان *E. coli* است، با تکنیک‌های نمایش فاز به گونه‌ای تغییر یافت که بتواند به هلیکوباکتر پیلوری متصل شود. قطعات مختلف یک زنجیره‌ی متصل شونده به آنتی ژن که در موش تکثیر یافته بودند و آنتی بادی‌های مونوکلونال را برضد هلیکوباکتر پیلوری تولید می‌کردند (۵)، بصورت پروتئین اتصال *g3p* روی سطح فاز M13 بیان می‌شدند. این فاز نوترکیب، توانست سویه‌های مختلف هلیکوباکتر پیلوری را از بین ببرد. این تکنولوژی در جاهایی کاربرد خواهد داشت که نتوان یک فاز لیتیک با ویرو لانس بالا را برای یک باکتری ویژه‌ای یافت (۱۳).

تکنولوژی **SASP**: اندوسپورهای گونه‌های باسیلوس مقاومت بالایی به گرما، پرتو تابشی، و مواد شیمیایی دارند و این مقاومت تا حد زیادی به دلیل کم بودن آب درون این اسپورهاست. بعلاوه، به دلیل اینکه DNA اسپور با پروتئین‌های محلول در اسید و کوچک نوع آلفا و بتا که در اسپور یافت می‌شوند (SASPs) اشباع شده است، از آسیب حفظ می‌شود (۱۴). سه نوع SASP (Small, Acid-Soluble Protein) وجود دارد که آلفا، بتا و گاما نام دارند و وزن مولکولی آن‌ها بین ۵ تا ۱۱ کیلودالتن است (۸). مشخص شده که SASP‌های نوع آلفا/بتا به DNA متصل می‌شوند و آن را از آسیب حفظ می‌کنند، در حالی که نوع گاما آمینواسیدها را برای جوانه زدن اسپور ذخیره می‌کند. Setlow و همکاران نشان داده‌اند که ژن کد کننده SASP نوع آلفا/بتا را می‌توان وارد پلازمید کرده و آن را تحت کنترل یک پروموتور قابل تحریک قرار داد. در این صورت، سلول رویانی ویژگی‌هایی شبیه اسپور خواهد داشت. Fairhead از این تکنولوژی برای ساختن یک سیستم ضد میکروبی استفاده کرده است که در آن

آمد، اما دوز بالاتری از فاز مورد نیاز بود. بنابراین پژوهش‌های استویول و همکاران گواه دیگری بود بر توانایی فازها در درمان عفونت‌ها. همچنین، دیدگاه‌هایی را که در حوزه‌هایی که باید مشکلشان برطرف شود، ارائه داد (۹).

کنترل عفونت‌های بیوفیلمی با باکتریوفازها: اگرچه مشکل اصلی درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های پاتوژن مقاومت آن‌ها به آنتی بیوتیک‌هاست، اما درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌هایی که به خاطر شرایط محیط رشدشان مقاومت فنوتیپی به دارو پیدا می‌کنند نیز خود یک مشکل است. علت اصلی بروز این مشکل، تشکیل بیوفیلم توسط باکتری‌هایی است که به سطوح می‌چسبند؛ بویژه روی سطح ابزارهای پزشکی. بعلاوه، این شکل رشد در محیط، بسیار متداول‌تر از رشد پلانکتونی است. تعریف بیوفیلم سالها مورد بحث بوده است اما به تازگی این تعریف برای آن ارائه شده است: «یک جمعیت میکروبی بهم چسبیده که در آن سلول‌ها به طور برگشت ناپذیر به یک بستر یا به یکدیگر چسبیده‌اند، غرق در مخلوطی از مواد پلیمری خارج سلولی‌ای هستند که خود تولید کرده‌اند، و بر اساس سرعت رشد و سرعت رونویسی ژن هایشان دچار تغییر شکل شده‌اند». نشان داده شده که بیوفیلم‌های باکتریایی بالغ می‌توانند در برابر غلظت‌هایی از آنتی بیوتیک‌ها مقاومت کنند که بیش از ۱۰۰۰ برابر غلظتی است که سلول‌های پلانکتونی قادر به تحمل آن هستند. مکانیسم‌های پیشنهاد شده برای این افزایش مقاومت به دارو شامل موارد زیر است (۶): (۱) مواد پلیمری برون سلولی (EPS) که توسط سلول‌های بیوفیلم ترشح می‌شوند، بعنوان سد در برابر انتشار مولکول‌های آنتی بیوتیک عمل می‌کنند؛ (۲) نحوه‌ی رشد بیوفیلم منجر به تغییر فعالیت متابولیکی در درون این ساختار و ایجاد شیب غلظت مواد مغذی می‌شود؛ و (۳) بیوفیلم، شامل زیرجمعیتی در درون جمعیت اصلی است که دارای سلول‌های بسیار مقاوم به دارو است. به خاطر همین مقاومت، بیوفیلم‌هایی که بر روی وسایل پزشکی کاشتنی (ایمپلنت‌ها) بوجود می‌آیند، اصلی‌ترین مشکل کلینیکی هستند و در بسیاری موارد بیرون آوردن ایمپلنت تنه‌راه چاره‌است. میکروارگانیزم‌های عفونت‌زای موجود بر روی ایمپلنت‌ها همیشه پاتوژن‌های شناخته شده نیستند، بلکه بخشی از میکروفلور طبیعی هستند. بنابراین میکروفلورهای پوست مثل استاف‌اپیدرمایدیس نیز به فراوانی در بیوفیلم‌های آلوده کننده‌ی

برخلاف جنگ‌افزارهای رایج، عوامل زیستی توانایی نابودی محصولات کشاورزی، ایجاد مسمومیت‌های غذایی و ایجاد آلودگی در فرآورده‌های دارویی را دارا می‌باشند (۱۵). از آنجا که فاژها به صورت موثری قادر به تخریب باکتری‌های بیماری‌زا هستند، می‌توان از این میکروارگانیسم‌ها در جهت مقابله با تهدیدات بیوتروریسمی استفاده نمود. اگرچه هنوز هم در دنیا ابزارهای جامعی در مقابله با این تهدیدات ارائه نشده است، ولی به نظر می‌رسد با توجه به پتانسیل بالای فاژها برای حذف الودگی‌های باکتریایی در آینده‌ای نزدیک این میکروارگانیسم‌ها بتوانند به صورت موثری زمینه را برای مقابله با این تهدیدات فراهم نمایند (۱۶).

بحث و نتیجه‌گیری

به طور خلاصه می‌توان گفت که باکتریوفاژها به صورت موثری می‌توانند در برنامه‌های درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرند. این فاژها به علت خاصیت‌های فراوانی که در تخریب انواع مختلف باکتری‌ها دارند، می‌توانند به عنوان هدف‌های درمانی جدید در ساخت و توسعه داروهای جدید در درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از فاژها در برنامه‌های درمانی بایستی با در نظر گرفتن سویه باکتریایی و همچنین نوع بیماری که فاژه توانایی محدود کردن عامل بیماری‌موردنظر را دارد بایستی در نظر گرفته شود. هر چند که در مطالعات مختلف استفاده از فاژها به عنوان داروهای جدید در محدود کردن رشد باکتری‌های عفونی از اولویت و اهمیت بالایی برخوردار است اما به نظر می‌رسد در این زمینه بایستی تحقیقات بیشتری صورت گیرد و تکنیک‌های توسعه یافته‌تری برای ارزیابی و طراحی فاژهای جدید مورد استفاده قرار گیرد.

از اختصاصی بودن فاژ برای هدف گرفتن ژن‌های SASP در درون باکتری‌های پاتوژن استفاده می‌شود. در این روش، باکتریوفاژها به گونه‌ای دستکاری می‌شوند، که ژن لیزکننده‌ی خود را از دست داده و جای آن را یک کدکننده‌ی SASP نوع آلفا/بتا می‌گیرد. این فاژ به باکتری هدف ویژه‌ای متصل می‌شود، DNA خود را به درون باکتری تزریق می‌کند، و تمام ژنها از جمله ژن‌های SASP بیان می‌شوند. SASP برای سلول باکتری سمی است زیرا به طور برگشت ناپذیر به DNA باکتری متصل می‌شود و تمام فعالیت‌های باکتری را مختل می‌کند. ویروس در درون باکتری تکثیر نمی‌یابد اما مشخص شده که به سرعت باکتری را می‌کشد. مکانیسم عمل این سیستم احتمال ایجاد گونه‌های مقاوم را کاهش می‌دهد و محصولاتی از این تکنولوژی در حال تولید است که برضد MRSA و کلستریدیوم دیفیسیل به کار می‌رود (۱۴).

فاژتراپی و بیوتروریسم: امروزه چالش بیوتروریسم به یکی از بحث برانگیزترین موضوعات روز دنیا تبدیل شده است. بیوتروریسم عبارت است از بکارگیری سلاح‌های بیولوژیکی در جهت اقدامات خرابکارانه بر علیه بشریت، که به شکل‌های مختلفی شامل استفاده از حیوانات تراریخت، باکتری‌های مهندسی ژنتیک شده، غذاهای آلوده، و توکسین‌های خطرناک می‌باشد (۱۵). سلاح‌های کشتار جمعی شامل سلاح‌های اتمی، عوامل زیستی، عوامل شیمیایی، جنگ افزارهای آتش‌زای سایر جنگ‌افزارهای نامتعارف، از پتانسیل بالایی برای تهدید سلامتی، امنیت، محصولات غذایی و محیط زیست دارا می‌باشند. در جنگ‌های بیولوژیکی از میکروارگانیسم‌ها و توکسین‌های مربوط به آنها برای تولید بیماری و مرگ انسان‌ها استفاده می‌شود. از طرف دیگر، بیوتروریسم، یک فعالیت تروریستی است که در آن از عوامل زیستی برای ترور افراد استفاده می‌شود.

References

- Ahmad M, Mahmood Q, Gulzar K, Akhtar MS, Saleem M and Qadir MI . Anti-hyperlipidaemic and hepatoprotective activity of *Dodonaea viscosa* leaves extracts in alloxan-induced diabetic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Pak. Vet. J. 2012; 32(1): 50-54.
- Ali M, Qadir MI, Saleem M, Janbaz KH, Gul H, Hussain L and Ahmad B . Hepatoprotective potential of *Convolvulus arvensis* against paracetamol-induced hepatotoxicity. Bangladesh J. Pharmacol. 2013; 8: 300-304.
- Amin N, Qadir MI, Khan TJ, Abbas G, Ahmad B, Janbaz KH and Ali M . Antibacterial activity of Vacuum liquid chromatography (VLC) isolated fractions of chloroform extracts of seeds of *Achyranthes aspera*. J. Chem. Soc. Pak. 2012; 34(3): 589-91
- Janbaz KH, Qadir MI, Jan A and Gilani AH . Anti-diarrheal activity of methanolic extract of *Tephrosia purpurea*. Acta. Pol. Pharm., 79(2): 345-347.
- Javed F, Qadir MI, Janbaz KH and Ali M (2011). Novel drugs

from marine microorganisms. *Critical Rev. Micro.* 2013; 37(3): 245-249.

- 6- Qadir MI and Malik SA (2009). Effect of *Eugenia jambolana* leaves extracts on blood glucose levels of experimental diabetic rabbits. *Pharmacologyonline*, 3: 829-835.
- 7- Qadir MI, Ali M, Ali M, Saleem M, Hanif M . Hepatoprotective activity of aqueous methanolic extract of *Viola odorata* against paracetamol-induced liver injury in mice. *Bangladesh J. Pharmacol.* 2014; 9: 198-202
- 8- Mallhi TH, Qadir MI, Khan YH, Ali M . Hepatoprotective activity of aqueous methanolic extract of *Morus nigra* against paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Bangladesh J. Pharmacol.* 2014; 9: 60-66
- 9- Sulakvelidze A, Alavidze Z and Morris JG . Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 649-659
- 10- Stroj L, Dabrowska BW, Partyka K, Mulczyk M and Wojcik M . Successful treatment with bacteriophage in purulent cerebrospinal meningitis in a newborn. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2000; 3: 693-698.
- 11- Sahoo C, Tamhankar AJ, Johansson E and Stalsby LC. Antibiotic use, resistance development and environmental factors. *BMC Public health.* 2012; 10: 629.
- 12- Lu TK and Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *PNAS.* 2009; 106: 4629-4634.
- 13- Mallhi TH, Qadir MI, Khan YH, Ali M. Hepatoprotective activity of aqueous methanolic xtract of *Morus nigra* against paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Bangladesh J. Pharmacol.* 2014; 9: 60-66.
- 14- Catherine SM, Merisela V and Joe AF . Phage Therapy of *Pseudomonas aeruginosa* Infection in a Mouse Burn Wound Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51: 1934-1938.
- 15- Rasouli H, Najafi S. Bioterrorism: A Threat to All. In The first international conference on new findings of Agriculture, Natural science, Tehran, Iran. 2014., P 12-23.
- 16- Rasouli H, Najafi S. Agroterrorism: The alarm for threatening of the global food security. In The first international conference on new findings of Agriculture, Natural science, Tehran, Iran. 2014., P 12-28.