Isolation of Bacteriophage Effective against *Shigella sonnei* in Hospital and Municipal Wastewaters

Serveh Molai[1], Mazaher Khodabandehloo[2,3,4] and Himen Salimizand[5]

1.MSc student of Medical Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Student of Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3219-7189
2.Associate professor of Medical Virology, Zoonoses Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. Tel: +98-78-33664645 -8266, Email: *mazaher-kh@muk.ac.ir*, ORCID ID: 0000-0002-8800-0501
3.Associate professor of Medical Virology, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. Tel: +98-78-33664645 -8266, Email: *mazaher-kh@muk.ac.ir*, ORCID ID: 0000-0002-8800-0501
4. Associate professor of Medical Virology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. Tel: +98-78-33664645 -8266, Email: *mazaher-kh@muk.ac.ir*, ORCID ID: 0000-0002-8800-0501
5.Assistant professor of Medical Bacteriology, Liver & Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000- 0002-2013-8694

ABSTRACT

Background and Aim: Infections of antibiotic-resistant bacteria make their treatment difficult and sometimes impossible. So, scientists are looking for new solutions to fight these bacteria. Phage therapy can replace antibiotic therapy, especially in multidrug-resistant bacteria. Therefore, we aimed to isolate bacteriophage that is effective against common gram-negative bacteria.

Materials and Methods: In this experimental study, 250 ml of hospital and municipal wastewater samples were gathered. The samples were centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes, the supernatants were filtered through a 0.22 µm filter. To phage enrichment, 50 ml of filtered water twice the volume of nutrient broth and host bacteria were incubated at 37 C for 24 hours in a shaker incubator. The double-layer agar method was used to see bacteriophage plaque. Transmission electron microscopy was used to investigate the characteristics of the isolated bacteriophage.

Results: Lytic bacteriophage effective to *Shigella sonei* was found by testing on municipal wastewater. Electron microscopy showed that the bacteriophage belonged to the family *Microviridae*. However, bacteriophage against other Gram-negative bacteria was not found in the test on hospital wastewater samples.

Conclusion: The found bacteriophage had a specific lytic effect against *Shigella sonei*, this bacteriophage could be used for the study of phage therapy for *Shigella* infection with antibiotic resistance.

Keywords: Bacteriophage, Antibacterial Effect, Multidrug Resistant Bacteria, *Shigella*, Phage Therapy

Received: May 10, 2021 **Accepted:** Oct 31, 2021

How to cite the article: Serveh Molai, Mazaher Khodabandehloo, Himen Salimizand. Isolation of acteriophage Effective against *Shigella sonnei* in Hospital and Municipal Wastewaters.ŞJKU 2023;27(1):126-134.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و هشت / فروردین اردیبهشت ۱۴۰۲/۱۳۴-۱۲۶

جداسازی باکتریوفاژ موثر بر *شیگلا سونئی* در فاضلاب‌های بیمارستانی و شهری

سروه ملائی[۱]، مظاهر خدابنده‌لو[۲،۳،۴] و هیمن سلیمی‌زند[۵]

۱. کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی، گروه آموزشی میکروب‌شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۷۱۸۹-۰۰۰۳-۳۲۱۹-۰۰۰۰

۲. دانشیار ویروس‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات زئونوز، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. پست الکترونیک: mazaher-kh@muk.ac.ir، تلفن: ۸۲۶۶-۳۳۶۶۴۶۴۵-۰۷۸، کد ارکید: ۰۵۰۱-۸۸۰۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۳. دانشیار ویروس‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. پست الکترونیک: mazaher-kh@muk.ac.ir، تلفن: ۸۲۶۶-۳۳۶۶۴۶۴۵-۰۷۸، کد ارکید: ۰۵۰۱-۸۸۰۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۴. دانشیار ویروس‌شناسی پزشکی، گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. پست الکترونیک: mazaher-kh@muk.ac.ir، تلفن: ۸۲۶۶-۳۳۶۶۴۶۴۵-۰۷۸، کد ارکید: ۰۵۰۱-۸۸۰۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۵. استادیار باکتری‌شناسی پزشکی، گروه آموزشی میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. hsalimizand@gmail.com، کد ارکید: ۸۶۹۴-۲۰۱۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، درمان آن‌ها را دشوار و گاهی غیرممکن می‌سازد. دانشمندان به دنبال یافتن روش‌های تازه برای مبارزه با این باکتری‌ها هستند. فاژ درمانی می‌تواند جایگزین آنتی‌بیوتیک به ویژه در درمان باکتری‌های مقاوم به چند دارو باشد. بنابراین هدف ما جداسازی و شناسایی باکتریوفاژ موثر بر باکتری‌های گرم منفی شایع بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی ۲۵۰ میلی لیتر از فاضلاب بیمارستانی و فاضلاب شهری نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌های فاضلاب با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی آن‌ها با فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر فیلتره شدند. سپس برای تقویت باکتریوفاژ ۵۰ میلی لیتر آب فیلتر شده را با حجم دو برابر نوترینت براث و باکتری میزبان در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار گذاشته شد. برای دیدن پلاک باکتریوفاژ از آگار دو لایه استفاده شد. برای بررسی ویژگی باکتریوفاژ جدا شده از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد.

یافته‌ها: با انجام آزمایش روی فاضلاب شهری باکتریوفاژ لیتیک علیه باکتری *شیگلا سونئی* پیدا شد. میکروسکوپ الکترونی نشان داد که این باکتریوفاژ از خانواده *میکروویریده* است. ولی در آزمایش روی نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی باکتریوفاژ علیه باکتری‌های گرم منفی دیگر پیدا نشد.

نتیجه‌گیری: باکتریوفاژ یافت شده اثر لیتیک اختصاصی علیه *شیگلا سونئی* دارد، این باکتریوفاژ می‌تواند در مطالعه فاژ درمانی علیه عفونت باکتری *شیگلا* مقاوم به آنتی‌بیوتیک به کار آید.

واژه‌های کلیدی: باکتریوفاژ، اثر ضد باکتریایی، باکتری‌های مقاوم به چند دارو، *شیگلا*، فاژ درمانی

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۰ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۰/۷/۲۵ پذیرش:۱۴۰۰/۸/۹

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

مقدمه

شیگلا (Shigella) یکی از مهمترین علل عفونت های حاد دستگاه گوارش انسان است. *شیگلاها* بیشتر به عنوان عوامل بیماریزای ناشی از آب و غذا شناخته می شوند. *شیگلاها* با دوز کم با وسایل آلوده از فردی به فرد دیگر منتقل می شوند. این امر به عنوان علت اصلی موارد شیگلوز در کودکان زیر ۵ سال در کشورهای جهان سوم گزارش شده است. با این حال، بسیاری از موارد گزارش شده سالانه شیگلوز در مسافران و کارکنان نظامی در کشورهای صنعتی نیز دیده می‌شود(۲, ۱).

برآورد جهانی این است که سالانه دست کم ۸۰ میلیون بیماری اسهال خونی و ۷۰۰۰۰۰ مرگ و میر رخ می‌دهد. به دلیل دو فاکتور خطر، انتقال مدفوع-دهانی (تماس مستقیم با بیماران یا مصرف غذاهای آلوده و آب) و دوز عفونی کم (کمتر از ۲۰۰ باکتری)، چندین شیوع در سراسر جهان گزارش شده است(۳).

گونه‌های شیگلا (*Shigella spp.*) باکتری‌های گرم منفی، غیرمتحرک و میله‌ای شکل هستند و از چهار گونه *S. dysenteriae*، *S. flexneri*، *S. boydii* و *S. sonnei* تشکیل شده اند. *شیگلا فلکسنری* در مقایسه با سایر گونه‌های شیگلا، عفونی‌ترین اسهال خونی باسیلی را ایجاد می کند، تقریباً دو میلیون عفونت در سراسر جهان در سال را تشکیل می‌دهد، زیرا در بسیاری از کشورهای در حال توسعه بومی است. از طرف دیگر، *شیگلا سونئی* به عنوان عامل اصلی *شیگلوز* در کشورهای توسعه یافته و یک نگرانی نوظهور در کشورهای در حال توسعه گزارش شده است. در چند سال گذشته، گونه‌های *شیگلا* به طور فزاینده‌ای در برابر داروهای ضدمیکروبی شایع مقاوم شده اند. بنابراین، برای کاهش بروز اسهال خونی و میزان مرگ و میر ناشی از آن، یافتن روش‌های کنترل جدید و موثر ضروری است(۱, ۲). استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک در پزشکی و صنعت دام به شیوع جهانی باکتری‌های مقاوم در برابر چند دارو (MDR) کمک کرده است (۴). در سال ۲۰۱۳، مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) اعلام کرد که انسان در دوران پساآنتی‌بیوتیک ایستاده است. در سال ۲۰۱۷، سازمان بهداشت جهانی (WHO) لیستی از عوامل بیماریزا که نیاز فوری به آنتی‌بیوتیک جدید یا به رویکردهای کنترل/درمان جایگزین دارند اعلام کرد(۳).

باکتری‌های *آنتروباکتریاسه* تولیدکننده بتا لاکتاماز با طیف گسترده (ESBL) مسئول دست‌کم ۲۶۰۰۰ عفونت های وابسته به مراقبت‌های بهداشتی و ۱۷۰۰ مرگ در سال، در گروه بحران قرار گرفته اند. در مورد گونه‌های *شیگلا*، میزان مقاومت آن‌ها در برابر داروهای ضدمیکروبی موجود طی ۲۰ سال گذشته (۲۰۰۹ تا ۲۰۱۹) به طور چشمگیری افزایش یافته است. سیستم پایش مقاومت ضدمیکروبی ملی (NARMS)در مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها ۲۵ نوامبر ۲۰۱۹ گزارش داد که در ایالات متحده، در سال ۱۹۹۹، از شیگلاهای جدا شده دارای فنوتیپ مقاومت، به ترتیب ۱٪ به سفتریاکسون، ۰/۳٪ به سیپروفلوکساسین، ۱/۶٪ به نالیدیکسیک اسید، ۵۶/۴٪ به استرپتومایسین و ۵۷٪ به تتراسایکلین مقاوم بودند. در سال‌های اخیر این میزان مقاومت به ۱/۸٪ (سفتریاکسون)، ۲۳/۱٪ (سیپروفلوکساسین)، ۹۸/۳٪ (نالیدیکسیک اسید)، ۵۷٪ (استرپتومایسین) و ۸۷٪ (تتراسایکلین) افزایش یافته است(۳).

علاوه بر این، عفونت‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فشار اقتصادی و مسئله مهم بهداشتی است که دوره بستری شدن در بیمارستان را افزایش و احتمال موفقیت درمان را کاهش می‌دهد. بنابراین، کشف روش‌های درمانی جایگزین برای کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش میزان ظهور جدایه‌های مقاوم ضروری است تا طول درمان کاهش یابد و میزان موفقیت درمان افزایش یابد. یک گزینه امیدوار کننده

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

برای چنین وظیفه حیاتی، باکتریوفاژها (فاژ درمانی) هستند(۳). باکتریوفاژها ویروس‌های باکتریایی هستند که تمایل طبیعی به باکتری میزبان ویژه خود دارند، با وجود مقاومت یا حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها. ویژگی میانکنش باکتریوفاژ- باکتری باعث می‌شود که باکتریوفاژها بدون هیچگونه نگرانی از عوارض جانبی بر باکتری‌های دیگر، به ویژه میکروبیوتای طبیعی میزبان، ایمن و مناسب باشند(۲, ۳, ۵).

فاژ درمانی به کارگیری باکتریوفاژهای طبیعی است تا باکتری‌ها را در محل عفونت آلوده کرده و آن‌ها را لیز کند. پیشرفت‌های بیوتکنولوژی بکارگیری باکتریوفاژهای بالقوه را گسترش داده است. کاربرد باکتریوفاژهای مهندسی شده و پروتئین‌های لیتیک ویژه باکتریوفاژ استراتژی های تازه هستند. پژوهش‌های امروزی در مورد استفاده از باکتریوفاژها و پروتئین‌های لیتیک آن‌ها، به ویژه در برابر عفونت‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو، نشان می‌دهد که فاژ درمانی می‌تواند جایگزین یا مکمل درمان آنتی‌بیوتیک باشد(۶). فاضلاب و زباله‌های بیمارستانی منابع آماده باکتریوفاژها هستند. علاوه بر این، هزینه‌های تصفیه و تولید باکتریوفاژ بسیار ارزان تر از آنتی‌بیوتیک‌ها است(۷).

با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و وجود باکتریوفاژها در بیوسفر و تاثیر لیتیک آن‌ها بر باکتری‌ها، هدف ما جداسازی و شناسایی باکتریوفاژ لیتیک ویژه شیگلا و دیگر باکتری‌های گرم منفی در فاضلاب بیمارستانی و شهری بود.

مواد و روش‌ها

نمونه آب: ۲۵۰ میلی لیتر فاضلاب از چهار بیمارستان آموزشی شهر سنندج (بعثت، کوثر، قدس و توحید) همچنین فاضلاب شهری جمع‌آوری کردیم.

نمونه‌های باکتریایی: باکتری *شیگلا سونئی* استاندارد (ATTC: 25931) و باکتری‌های (*سالمونلا تیفی‌موریوم*، *اسینتوباکتر بومانی*، *سودوموناس ائروژنوزا*، *اشرشیا کلی*، *شیگلا فلکسنری* و *شیگلا سونئی*) که از بخش‌های ICU، سوختگی و دیابت بیمارستان‌های آموزشی شهر سنندج جمع‌آوری و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شده بودند.

جداسازی باکتریوفاژ : نمونه‌های فاضلاب با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی را با فیلتر غشایی دارای منافذ ۰/۲۲ میکرومتر (MCE Gridded Membrane Filter) با پمپ خلاء فیلتر شد. آب فیلتر شده را در لوله فالکون‌های استریل در یخچال نگهداری و هر هفته روی یک نمونه کار انجام شد. برای تقویت فاژ (Phage Enrichment) ۵۰ میلی لیتر از آب فیلتر شده را با حجم دو برابر از محیط کشت نوترینت براث دارای ۵ میلی مولار $MgSO_4$ در ارلن‌مایر استریل مخلوط شد. سپس ۱ میلی لیتر باکتری با غلظت نیم مکفارلند (0.5 McFarland) افزوده شد و ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلیسوس شیکردار با دور ۱۶۰ انکوبه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به مخلوط یادشده افزوده و در انکوباتور شیکردار به مدت ۱۰ دقیقه برای از بین بردن باکتری‌ها گذاشته شد. سپس مخلوط در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی آن با فیلتر دارای منافذ ۰/۴۵ میکرومتر فیلتراسیون انجام شد(۸).

تکنیک آگار دولایه: ویژگی باکتریوفاژ جدا شده روی باکتری گرم منفی استاندارد با روش آگار دولایه (double-layer agar) تعیین شد. نخست از فاضلاب فیلترشده رقت سریال درست کردیم. در ده لوله آزمایش ۹۰۰ میکرولیتر نوترینت براث ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر نمونه فیلتر شده به لوله اول افزوده شد. سپس از لوله اول ۱۰۰ میکرولیتر به لوله دوم، از لوله دوم ۱۰۰ میکرولیتر به لوله سوم اضافه و تا آخرین لوله این کار انجام شد و در پایان از لوله شماره ۱۰، ۱۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر باکتری با غلظت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند در مرحله رشد نمایی و ۳۰ میکرولیتر $CaCl_2$ ۱ میلی مولار در لیتر (برای کمک به چسبیدن باکتریوفاژ به باکتری) به هرکدام از لوله ها اضافه شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر نوترینت آگار (۰/۷ درصد آگار، در بن ماری) به هر لوله افزوده شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

پس از مخلوط کردن به پتری دیش‌های دارای محیط کشت جامد نوترینت آگار (۱/۵ درصد در پتری دیش‌های ۱۵ سانتی‌متری) منتقل و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از پیدایش پلاک تکی (Single plaque) با کمک سواب استریل از پلاک برداشت شد.

آزمایش پلاک و شمارش فاژ: شمارش باکتریوفاژ به روش آزمایش پلاک (plaque assay) و با فرمول شماره (۱) انجام شد(۸). فاژ خالص شده به ۵۰ میلی‌لیتر (10^6 CFU/mL) کشت باکتریایی نوترینت براث افزوده شد و ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه شیکردار با دور ۱۶۰ مخلوط شد. سپس مخلوط در دور ۶۰۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی با فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر با کمک پمپ خلاء فیلتر شد. آزمایش پلاک به منظور تولید فاژ خالص سه بار تکرار شد.

فرمول ۱: تعداد باکتریوفاژ (PFU/mL): رقتی که در آن باکتریوفاژ جدا شده است × ۱۰ × تعداد پلاک

میکروسکوپ الکترونی: ۱ میلی‌لیتر از باکتریوفاژ خالص شده با ۳۰ میکرو لیتر پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (۳ درصد) به مدت ۳۰ ثانیه رسوب داده شد. سپس نمونه با یک قطره یورانیل استات ۲٪ با pH 4.3 به مدت ۳۰ ثانیه رنگ آمیزی منفی شد. سپس با میکروسکوپ الکترونی عبوری (EM208S, PHILIPS, 100KV, NETHPLAND) بررسی و عکس‌برداری شد (آزمایشگاه نانوساختار آریا رستاک، تهران).

یافته‌ها

در آزمایش جستجوی باکتریوفاژ روی نمونه‌های فاضلاب شهری پلاک باکتریوفاژ لیتیک مربوط به باکتری *شیگلا سونئی* دیده شد. باکتریوفاژ جدا شده با روش آزمایش پلاک خالص شد. پلاک‌های دیده شده در پلیت (رقت 10^{-5}) شمارش و شمارش باکتریوفاژ جدا شده محاسبه شد (۲۹×۱۰^{۴} PFU/mL) (تصویر شماره ۱). ولی انجام آزمایش‌ها روی فاضلاب بیمارستانی نتیجه‌ای مثبت در پی نداشت.

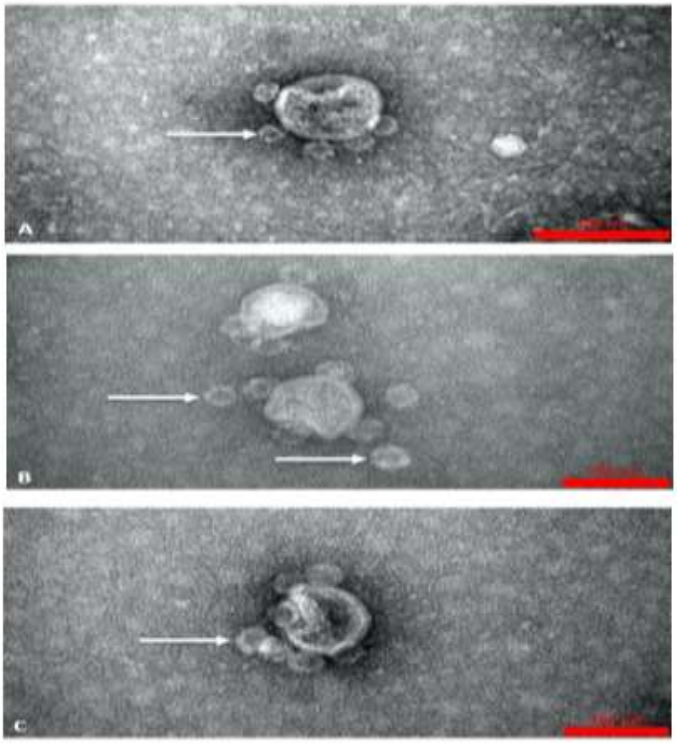


تصویر ۱: پلاک‌های باکتریوفاژ ویژه شیگلا سونئی. پلاک‌های در پلیت شماره ۵ (با رقت 10^{-5}) باکتریوفاژ ویژه باکتری شیگلا سونئی

از باکتریوفاژ خالص شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری تصویربرداری شد. با توجه به تصاویر به دست آمده این باکتریوفاژ که دارای شکل متقارن، بدون انولوپ و بدون دم است. این ویژگی‌ها نشان می‌دهد که این باکتریوفاژ از خانواده *میکروویریده (Microviridae)* است (تصویر ۲).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]



تصویر ۲: Error! No text of specified style in document.**در تصاویری که با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) به دست آمد تنها یک نوع باکتریوفاژ دیده می‌شود. در تصاویر A، B و C باکتریوفاژها دارای شکل متقارن، بدون انولوپ و دم دیده می‌شوند که نشان دهنده باکتریوفاژ از خانواده *میکروویده (Microviridae)* است. در تصویرها باکتریوفاژها در کنار لاشه باکتری دیده می‌شوند.**

بحث

در این مطالعه با انجام آزمایش روی فاضلاب شهری باکتریوفاژ لیتیک مربوط به *شیگلا سونئی* پیدا شد. میکروسکوپ الکترونی نشان داد که این باکتریوفاژ از خانواده *میکروویریده (Microviridae)* است. آزمایش جستجوی باکتریوفاژ روی نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی نتیجه‌ای مثبت نداشت. شاید به دلیل متفاوت بودن باکتری‌های میزبان در فاضلاب و باکتری آزمایشگاهی بکار رفته در این پژوهش باشد.

در خانواده *میکروویریده* باکتریوفاژها متقارن، بدون انولوپ و دارای DNA تک رشته‌ای حلقوی، با قطر ۲۵ تا ۲۷ نانومتر هستند. ویریون ۶۰ نسخه از پروتئین‌های F، G، J و ۱۲ نسخه از پروتئین H دارد. دارای ۱۲ پنتامر شیپوری (طول ۷/۱ نانومتر و عرض ۳/۸ نانومتر) است که هرکدام از آن‌ها از ۵ پروتئین G و یک پروتئین H تشکیل شده اند. امروزه ۲۱ گونه در این خانواده وجود دارند که در دو زیرخانواده و شش جنس قرار گرفته اند. اگرچه بیشتر گونه‌های این خانواده چرخه زندگی لیتیک دارند، ولی شمار اندکی از آن‌ها چرخه زندگی معتدل (temperate) دارند(۹-۱۱).

عفونت‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، درمان آن‌ها را دشوار و گاهی غیرممکن می‌سازد. عفونت‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باعث اقامت طولانی در بیمارستان، مراجعه زیاد به پزشک و درمان پرهزینه و عوارض سمی برای بیمار دارد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از مشکلات بهداشت عمومی در جهان است. یکی از راه‌هایی که پژوهشگران برای مبارزه با باکتری‌های مقاوم به دارو پیشنهاد داده‌اند فاژدرمانی است(۱۰). استفاده از باکتریوفاژها به عنوان آنتی‌باکتریال‌های هدف دار، می‌تواند

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

طول عمر آنتی‌بیوتیک‌های فعلی را افزایش دهد و به طور بالقوه بروز عفونت‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را کاهش دهد(۱۲).

در یک مطالعه، باکتریوفاژ *مایوویریده (Myoviridae)*، با نام pSs-1 از آب محیطی در کره جنوبی جدا شد که برای *شیگلا فلکسنری* و سویه های *شیگلا سونئی* موثر بود. آنالیز رشد یک مرحله ای نشان داد که pSs-1 دوره نهفتگی کوتاه (۲۵ دقیقه) و اندازه انفجار (Burst size) بزرگی (97 PFU/cell) دارد. آنالیز ژنومی نشان داد که pSs-1 ۱۶۴۹۹۹ جفت باز و G+C ۳۵/۵۴ ٪ دارد و عضوی از باکتریوفاژهای T4 بود(۲).

شاهین و همکاران در سال ۲۰۱۸ برای جداسازی باکتریوفاژهای ویژه *گونه‌های شیگلا* از نمونه‌های تصفیه خانه فاضلاب استفاده کردند. ویژگی‌های رشدی باکتریوفاژها و آنالیز ژنومی آن‌ها انجام شد. باکتریوفاژ *سیفوویریده* (*Siphoviridae*)، با نام vB_SsoS-ISF002، از فاضلاب شهری در ایران جدا شد و عفونت‌زایی به *شیگلا سونئی* و *شیگلا فلکسنری* نشان داد. vB_SsoS-ISF002 در pH های مختلف و دمای بالا پایدار بود. دوره نهفته کوتاه (۱۵ دقیقه)، اندازه انفجار بزرگ (۷۶PFU/cell ± ۹) و فعالیت لیتیک با Multiplicity of Infection) MOI) بالایی داشت. ژنوم آن (dsDNA) ۵۰۵۶۴ جفت باز با GC ۴۵/۵۳ ٪ با توجه به آنالیز ژنوم و درخت فیلوژنیتیک، فاژ جداشده عضوی از جنس T1 در نظر گرفته شد(۱).

قجاوند و همکاران در سال ۲۰۱۷ با هدف جداسازی باکتریوفاژهای ضد *آسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو (MDR) در اصفهان مطالعه‌ای انجام دادند. آن‌ها نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی، رودخانه کارون، دریای خزر، خلیج فارس و آب پرورش ماهی را سانتریفیوژ کردند. سپس مایع رویی آن را با استفاده از فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرومتر فیلترکردند و شناسایی فاژ با روش آگار دو لایه انجام شد. دو فاژ لیتیک برای *آسینتوباکتر بومانی* از فاضلاب بیمارستانی جدا و نامگذاری شد. میکروسکوپ الکترونی نشان داد که فاژ IsfAB78 به خانواده *مایوویریده* و فاژ IsfAB39به خانواده *پودوویریده (Podoviridae)* مربوط بودند. فاژها طیف میزبانی محدود داشتند(۱۳).

در سال ۲۰۱۷ با هدف جداسازی باکتریوفاژ از فاضلاب در نپال که توانایی آلوده کردن چند میکروارگانیسم خانواده *آنتروباکتریاسه* را داشته باشد مطالعه ای انجام شد. باکتری‌های پاتوژن *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *انتروکک فکالیس*، *استافیلوکوک اورئوس*، *سیترو باکتر*، *انتروباکتر ائروژنز*، *پروتئوس میرابلیس* و *سودوموناس ائروژینوزا* بودند. باکتریوفاژهای جداشده تنها توانایی آلوده کردن *اشرشیا کلی*، *انتروکک فکالیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* را داشتند. ولی نتوانستند *استافیلوکوک اورئوس*، *سیتروباکتر*، *انتروباکتر ائروژنز*، *پروتئوس میرابلیس* و *سودوموناس ائروژینوزا* را آلوده کنند(۱۴).

در سال ۲۰۱۷ پژوهشی با هدف جداسازی باکتریوفاژ برای باکتری‌های MDR جدا شده از زخم‌های سپتیک در هند انجام شد. نمونه‌های باکتریایی را از ۴۹ زخم دیابتی، ۶۹ زخم بعد از عمل و ۱۲ زخم سوختگی جمع‌آوری کردند. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای باکتری‌ها با ۱۱ آنتی‌بیوتیک انجام دادند. باکتریوفاژهای لیتیک از نمونه‌های فاضلاب شهری با روش آگار دولایه به دست آوردند. روی *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا پنمونیه* و *سودومونا ائروژینوزا* پلاک‌های باکتریوفاژ تشکیل شد ولی اشکال میکروسکوپی آن‌ها متفاوت بود(۷).

بهشتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ با هدف جداسازی و شناسایی دو باکتریوفاژ در تصفیه فاضلاب برای *اشرشیا کلی* و کاربرد آن در فاژ درمانی پژوهشی انجام دادند. یک گونه *اشرشیا کلی* بومی اصفهان (E. coli SBSWF27) از تصفیه‌خانه فاضلاب شهری شناسایی شد. همچنین دو باکتریوفاژ از زاینده‌رود با روش آگار دو لایه جداسازی کردند. فاژها از خانواده‌های *میوویریده* و *پودوویریده* بودند و اثر لیتیک بر روی گونه‌های *E. coli PTCC1399* و *E. coli SBSWF27* و همچنین کلیفرم‌های فاضلابی داشتند(۱۵).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

شاهین و همکاران در سال ۲۰۲۰ با هدف بررسی اثر دو باکتریوفاژ vB_SflS-ISF001 و vB_SsoS-ISF002 روی دو گونه *شیگلا سونئی* و *شیگلا فلکسنری* تولید کننده بتالاکتاماز با طیف گسترده (ESBL) و دارای مقاومت چند دارویی پژوهشی انجام دادند. نمونه‌های باکتریایی را از چندین مرکز بیمارستانی و آزمایشگاهی از استان‌های مختلف (اصفهان، فارس، هرمزگان، کهگیلویه و بویراحمد) جمع آوری کردند. آن‌ها از باکتریوفاژ آماده استفاده کردند و تیتر باکتریوفاژ را با روش آگار دو لایه تعیین نمودند. ظرفیت عفونت‌زایی و لیز این دو باکتریوفاژ بر *شیگلا سونئی* و *شیگلا فلکسنری* دارای مقاومت چند دارویی با روش تست نقطه‌ای (Spot test) ارزیابی شد. نتیجه نشان داد که ۳۶/۶٪ و ۷۲/۷٪ از سویه‌های *شیگلا سونئی* به ترتیب به وسیله vB_SflS-ISF001 و vB_SsoS-ISF002 لیز شد(۳).

در سال ۲۰۱۹ پژوهشی با هدف بررسی اثر دو باکتریوفاژ روی موش آلوده به *آسینتوباکتر بومانی* مقام به دارو انجام شد. در این پژوهش سویه‌های OXA-23 و AmpC و ۸۲ سویه *آسینتوباکتر بومانی* از بیمارستان دانشگاه لوزان جمع آوری شد. برای جداسازی باکتریوفاژ از فاضلاب شهر لوزان استفاده شد. پس از سانتریفیوژ فاضلاب مایع رویی آن را با فیلترهای سرنگی ۰/۲۲ نانومتر فیلتراسیون کردند. سپس برای شناسایی باکتریوفاژ از روش آگار دو لایه و میکروسکوپ الکترونی استفاده کردند. دو باکتریوفاژ vB_AbaM_3054 و vB_AbaM_3090 شناسایی شدند که از خانواده *میوویریده* بودند. آزمایش فاژ درمانی روی دو گروه موشی انجام شد. در گروه کنترل در روز نخست عفونت باکتری منجر به مرگ موش‌ها شد. ولی در گروه آزمایش دو ساعت پس از تزریق باکتری با باکتریوفاژ درمان شدند که موش‌ها تا هفت روز زنده ماندند(۱۶).

در پژوهش‌های یادشده نتیجه‌گیری شده است که فاژها را می‌توان برای فاژدرمانی بکار گرفت. ما جستجوی باکتریوفاژ را همانند مطالعات گذشته روی نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی و شهری انجام دادیم. ولی ما ویژگی‌های مانند دامنه میزبان، پایداری به دما و pH، سرعت رشد، آنالیز ژنومی و اثر درمانی باکتریوفاژ جدا شده را بررسی نکردیم. پیشنهاد می‌شود جداسازی باکتریوفاژها با هدف درمان جایگزین برای درمان عفونت با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک ادامه یابد. همچنین ویژگی‌های رشد، آنالیز ژنومی و اثر درمانی باکتریوفاژهای جدا شده بررسی شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ما توانستیم باکتریوفاژی پیدا کنیم که از خانواده *میکروویریده* بود. این باکتریوفاژ قادر به لیز اختصاصی *شیگلا سونئی* بود. بنابراین این باکتریوفاژ می‌تواند برای مطالعه فاژ درمانی عفونت باکتری *شیگلا* دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان بخاطر بودجه پژوهشی و همچنین از آزمایشگاه تحقیقاتی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت بخاطر استفاده از سیستم فیلتراسیون تشکر و قدردانی می‌کنند. این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی سروه ملایی بوده که در کمیته اخلاق دانشگاه به شماره پرونده: IR.MUK.REC.1397/260 به تصویب رسیده است.

بودجه پژوهشی از دانشگاه علوم پزشکی کردستان دریافت شده است. نویسندگان مقاله در باره مواد و روش‌های به کار رفته در این پژوهش تعارض منافع ندارند.

منابع

1.Shahin K, Bouzari M, Wang R. Isolation, characterization and genomic analysis of a novel lytic bacteriophage vB_SsoS-ISF002 infecting *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. J Med Microbiol. 2018;67(3):376-86.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]

2.Jun JW, Giri SS, Kim HJ, Yun SK, Chi C, Chai JY, et al. Bacteriophage application to control the contaminated water with Shigella. Sci Rep. 2016;6:22636.
3.Shahin K, Bouzari M, Komijani M, Wang R. A New Phage Cocktail Against Multidrug, ESBL-Producer Isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* with Highly Efficient Bacteriolytic Activity. Microb Drug Resist. 2020;26(7):831-41.
4.Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acinetobacter baumannii Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(10).
5.Shende RK, Hirpurkar SD, Sannat C, Rawat N, Pandey V. Isolation and characterization of bacteriophages with lytic activity against common bacterial pathogens. Vet World. 2017;10(8):973-8.
6.Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 2017;8(3):162-73.
7.Pallavali RR, Degati VL, Lomada D, Reddy MC, Durbaka VRP. Isolation and in vitro evaluation of bacteriophages against MDR-bacterial isolates from septic wound infections. PLoS One. 2017;12(7):e0179245.
8.Clokie MR, Kropinski AM, Lavigne R. Bacteriophages, Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions: Springer; 2009.
9.Krupovic M, Forterre P. Microviridae goes temperate: microvirus-related proviruses reside in the genomes of Bacteroidetes. PLoS One. 2011;6(5):e19893.
10.Ghosh S, Persad E, Shiue TY, Lam C, Islam A, Mascibroda LG, et al. Explorative Study on Isolation and Characterization of a Microviridae G4 Bacteriophage, EMCL318, against Multi-Drug-resistant *Escherichia coli* 15-318. Antibiotics (Basel). 2018;7(4).
11.Wang H, Ling Y, Shan T, Yang S, Xu H, Deng X, et al. Gut virome of mammals and birds reveals high genetic diversity of the family Microviridae. Virus Evol. 2019;5(1):vez013.
12.Chan BK, Sistrom M, Wertz JE, Kortright KE, Narayan D, Turner PE. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa*. Sci Rep. 2016;6:26717.
13.Ghajavand H, Esfahani BN, Havaei A, Fazeli H, Jafari R, Moghim S. Isolation of bacteriophages against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. Res Pharm Sci. 2017;12(5):373-80.
14.Gautam B, Aryal L, Adhikari S, Rana M, Rajbhanshi A, Ghale S, et al. Isolation of bacteriophage from Guheswori sewage treatment plant capable of infecting pathogens. Research in pharmacy and health sciences. 2018;4(2):465-70.
15.Beheshti Maal K, Soleimani Delfan A, Salmanizadeh S. Isolation and Identification of Two Novel *Escherichia coli* Bacteriophages and Their Application in Wastewater Treatment and Coliform's Phage Therapy. Jundishapur J Microbiol. 2015;8(3):e14945.
16.Leshkasheli L, Kutateladze M, Balarjishvili N, Bolkvadze D, Save J, Oechslin F, et al. Efficacy of newly isolated and highly potent bacteriophages in a mouse model of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia. J Glob Antimicrob Resist. 2019;19:255-61.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.126]