



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
ISSN: 1309-4769, e-ISSN 2667-8381, 11 (1): 38-43, 2020
DOI: 10.38137/vetfarmatoksbulleten.648999

BAKTERİYOFAJLAR (BAKTERİ VİRUSLARI): ANTİBİYOTİKLERE ALTERNATİF TEDAVİ

Bülent BAŞ

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

ORCID: 0000-0001-9992-8738

*Sorumlu Yazar: Bülent BAŞ
E-Posta: bbas@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: 20.11.2019
Kabul Tarihi: 24.04.2020

ÖZET

Bakteriyofajlar, bakterilerin lizisine neden olan bakteri virüsleridir. Keşfedildikten sonra tedavi amacıyla kullanılmalarına rağmen antibiyotiklerin keşfedilmesinin ardından kullanımı oldukça azalmıştır. Büyüyen küresel nüfus ve gıda ihtiyacı sonrasında üretimdeki artışa paralel olarak sık ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonrasında antibiyotiklere karşı direnç oldukça artmıştır. Buna bağlı olarak hem insanlarda hem de hayvanlarda ölüm oranlarında artış gözlenmiştir. Yeni bulunan antibiyotiklerin sayısının yetersiz olması, tekrar fajlara olan ilginin artmasına neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, Faj, Tedavi, Virüs.

BACTERIOPHAGES (BACTERIAL VIRUSES): ALTERNATIVE TREATMENT TO ANTIBIOTICS

ABSTRACT

Bacteriophages are bacterial viruses that cause lysis of bacteria. Although they have been used for therapeutic purposes after being invented, their use has decreased considerably after the discovery of antibiotics. In parallel to increasing production in response to growing global population and food demand, resistance to antibiotics has increased considerably after frequent and unconscious use of antibiotics. Accordingly, a rise in mortality rate has been observed both in humans and animals. The insufficient number of newly discovered antibiotics has led to increased interest in phages again.

Keywords: Bacteria, Phage, Treatment, Virus.

GİRİŞ

Bakteriyofajlar, bakteriyel hücrelere saldıran, bakteri metabolizmasını çökerten ve bakterinin lize olmasına sebep olan bakteriyel virüslerdir. Genel yapı olarak, DNA ve RNA'dan oluşan genetik materyal, onun çevresini kaplayan protein zar ve bakterilere tutunup genetik materyalini aktarmaya yardımcı olan proteinlerden yapılmış kuyruk bölümünden meydana gelmektedir. Bakteriyofajların keşfedilmesi antibiyotiklerden çok daha öncesine dayanmaktadır. Antibiyotiklerin keşfinden sonra fajların kullanımı ve fajlarla ilgili çalışmalar ciddi olarak sekteye uğramıştır. Fakat son yıllarda antibiyotiklere karşı bakteriler tarafından oluşturulan direnç nedeniyle alternatif çözümler aranmakta ve fajlar yeniden gündeme gelmektedir. Her bakteriyofajın etkilediği (lize ettiği) bakteri suşu farklıdır ve bu suşa "konak bakterisi" adı verilir. Biyosferde bulunan yoğun miktardaki faj partiküllerinin her 48 saat içerisinde dünyada bulunan bakterilerin yaklaşık olarak yarısını yok ettiği öngörülmektedir. Bakteriyofaj tedavisinin genel prensibi, belirlenen dozda saf olarak elde edilmiş fajın hastaya verilmesini takiben, etkenle rekabete girmesi ve etkeni lize ederek yok etmesi esasına dayanmaktadır. Fajlar, hem hayvanlarda hem de insanlarda tedavi amacıyla kullanılabilir gibi, bakterilerin adlandırılmasında, gıda ve tarım alanında biyolojik kontrol maddesi olarak, biyoteknolojik çalışmalarda ve yeni kuşak rekombinant antikor geliştirilmesinde kullanılabilir. Günümüzde Gürcistan ve Polonya gibi ülkelerde fajlarla çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu ülkelerde açılan faj terapi merkezlerinde düzenli olarak fajlar üretilip çoğaltılmaktadır. Fajlar, oral yolla, aerosol yolla, rektal yolla, parenteral yolla ve lokal olarak uygulanabilir (Sulakvelidze ve ark., 2001; Pirnay ve ark., 2011; Yaman Aydoğan ve

Hadımlı, 2016; Yüksel ve ark., 2016; Doss ve ark., 2017; Gündoğdu ve Ulu-Kılıç, 2018; Squires, 2018).

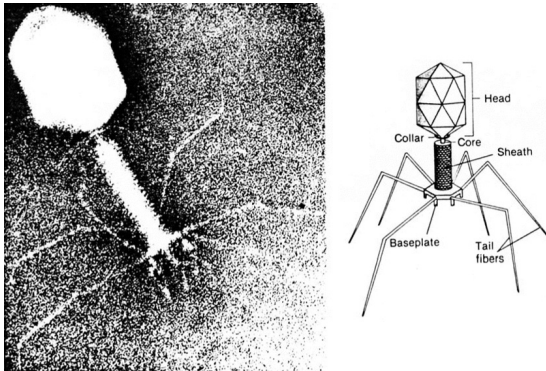
Bakteriyofajlar, sindirim sistemi, dışkı, lağım suları, göller, dereler, gübreli topraklar gibi bakterilerin de yoğun olduğu yerlerde bulunurlar ve buralardan kolaylıkla izole edilebilirler. Dışkı ve dışkı ihtiva eden sıvılar fajların izolasyonu için en çok tercih edilen numunelerdir (Arda, 2011).

Antibiyotiklerin keşfinden ve yaygın olarak kullanılmasından önce bakteriyel infeksiyonların, bakteriyofajların yönetimiyle önlenilebileceği ve/veya tedavi edebileceği önerilmiştir. Bakteriyofajlarla yapılan ilk klinik çalışmalar, Birleşik Devletler ve Batı Avrupa'da önemle izlenmesine rağmen sadece Eski Sovyetler Birliği ve Doğu Avrupa'da fajların kullanılmasına devam edilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları genel olarak İngilizce olmayan (Rusça, Gürcüce ve Polonyaca) dergilerde yayımlanmış ve bu yüzden batı bilimsel topluluğunun okuyabilmesi için erişilebilir olmamıştır (Sulakvelidze ve ark., 2001). Bakterilerin bağışıklık kazanması nedeni ile bilim adamları yeni antibiyotiklerin ve metodların arayışına girmişler, ancak gelişen biyoteknolojik imkanlara rağmen uzun süredir yeni antibiyotikler bulunamamıştır. Bu da eski bir metodun yeniden gündeme gelmesine neden olmuştur. Bakteriyofaj (ya da kısaca faj) denen virüslerin, bakterileri yok etmekte kullanılması. 7-11 Haziran 2000 Montreal/Kanada'da yapılan EvergreenFaj Biyoloji toplantısında araştırmacılar bakteriyel hastalıkların tedavisinde geliştirilen bakteriyofajların kullanımına kesin olarak karar vermişlerdir (Baş, 2003).

Veteriner hekimlikte fajlarla ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. Salmonella türleri, *E. coli*, *Campylobacter* türleri sıklıkla çalışılan bakterilerdir. Özellikle kanatlı ve büyükbaş

hayvanlarda (sürü olarak) çalışmalar ağırlık kazanmıştır (Borie ve ark., 2014).

Beşeri hekimlikte diyabet, ayak ülserleri, kronik otitis ve idrar yolu enfeksiyonlarında faj tedavisinin potansiyel faydaları araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Cobb ve ark. 2019; Furraro ve ark., 2018).



Şekil 1. Bir bakteriyofajın elektron mikroskoptaki görüntüsü ve anatomik yapısı (Todar, 2019).

Bakteriyofajların Keşfi

Bir İngiliz bakteriolojist olan Ernest Hankin 1896'daki raporunda Hindistan'ın Jumna ve Ganges nehri sularında gözlemlediği (*Vibrio cholera*'ya karşı) işaretlenmiş antibakteriyel hareketlerin bulunduğunu belirtmiş ve (ince porselen filtreden geçen ve ısıya duyarlı) kimliği belirlenemeyen bir maddenin bu olaydan ve kolera salgın hastalığının yayılmasının sınırlı kalmasından sorumlu olduğunu ileri sürmüştür. Fakat tıp eğitimi almış İngiliz bakteriolojist Frederick Twort, Hankin'in araştırmasından yaklaşık 20 yıl sonra benzer bir olayı belirten bir rapor sunarak ve hipotezi sebebin bir virus olabileceği (diğer olasılıklar arasında) şeklinde geliştirmiştir. Felix d'Herelle, Haziran-Ağustos 1913 tarihleri arasında Maisons-Laffitte bölgesinde Fransız askerleri arasında ciddi bir hemorajik dizanteri salgınıyla ilgili olarak bakteriyofajları gözlemiştir. Birçok asker hastaneye kaldırılmış ve d'Herelle, salgını

araştırmayı yönetmekle görevlendirilmiştir. Bu çalışmalar sırasında hastaların fekal örneklerinin bakterisiz filtratlarını yapmış ve bunları hastalardan izole edilmiş *Shigella* soyları ile karıştırıp inkübasyona bırakmıştır. Karışımın bir parçasını (bakteriyel dizanteriye karşı bir aşı geliştirmesi üzerine yaptığı çalışmaların bir parçası olarak) deney hayvanlarına inokule etmiş ve bakterinin gelişimini gözlemek amacıyla bir kısmını agara ekmiştir. Hankin ve Twort'un aksine d'Herelle'nin olayın doğası hakkında küçük şüpheleri vardı ve buna parazitik bakteri yeteneğinde bir virusun sebep olduğunu ileri sürmüştür. "Bakteriyofaj" ismi de d'Herelle tarafından önerilmiştir. D'Herelle, ilk olarak Maisons-Laffitte salgınından yaklaşık 1 yıl sonra 1916'nın yazında bakteriyofajları izole etmiştir. Bu zaman süresince Twort'un aksine d'Herelle bakteriyofajların çalışmalarını aktif olarak takip etmiş ve fajların viruslar olduğunu (kendisini takip eden birçok araştırmacının düşündüğü gibi enzimler olmadığı) fikrini güçlü kanıtlarla desteklemiştir. Işık mikroskopu ile fajları göremediğinden ilk olarak ultra mikrop adını vermiştir. Fakat daha sonra elektron mikroskop ile baktığında fajların birer virus olduğu sonucuna varmıştır (Sulakvelidze ve ark., 2001; Summers, 2001; Baş, 2003; Fernandez ve ark., 2019).

Fajların Üremesi

Bakteriyofajların duyarlı bakterilerde üreyerek enfeksiyon oluşturması 4 aşamada gerçekleşir (Arda, 2011).

1- Adsorbsiyon: Fajların bakteriyeye bağlanması, kuyruklu olanlarda kuyrukla, diğerlerinde ise fajın yüzeyi ile sağlanır. Bakteri yüzeyindeki pilus, teikoik asit, flagella, lipoprotein, protein ve lipopolisakkarid molekülleri ve hücre duvarının bazı

diğer komponentleri bakteriyofaj adsorbsiyon noktaları olarak bilinmektedir. Bakterinin yüzey antijenik (somatik) yapısı ile faj adsorbsiyonu arasında çok sıkı bir ilişki vardır (Arda, 2011).

2-Penetrasyon: Adsorbsiyondan kısa bir süre sonra genetik materyal hücre içine aktarılır. Aktarılan delik bakteri tarafından kısa bir süre içerisinde tamir edilir. Eğer bir bakteriye çok sayıda faj adsorbe olursa, bunların açtıkları delikler vasıtasıyla hücre materyalinin dışarı çıkması nedeniyle faj üreyemeden, hücre lize olabilir (Arda, 2011).

3-Latent Dönem: Bu dönem, fajların genetik materyallerinin bakteri stoplazmasına girmesinden, olgun fajların oluşumuna kadar geçen süreyi içine almaktadır. Bu periyod fajlara göre değişmekle birlikte genellikle iki bölümden meydana gelmektedir. Hiçbir olgun faja rastlanılmadığı ve latent periyodun ilk yarısını teşkil eden eklips dönemi ve sentezlenen faj komponentlerinin birleştirilerek olgun faj partiküllerinin meydana getirildiği olgunlaşma dönemidir. Birinci kısım, faj genetik materyallerinin sentezi ve replikasyonu ile bunlar için gerekli ilk proteinler ve fajın çeşitli komponentlerinin sentezi tamamlandığı kısımdır. İkinci kısım ise, bir montaj dönemidir. Komponentler birleştirilir ve olgun infektif faj partikülleri meydana getirilir (Arda, 2011).

4- Lizis ve Dışarı Çıkış: Fajların bakteriyi parçaladığı ve dışarı çıktığı safhadır. Non-litik enfeksiyonlarda, bakterilerde lizis meydana gelmez. Olgun fajlar hücrede üredikten sonra hücre duvarından dışarı çıkarlar. Bakterilerde hiçbir değişiklik olmaz ve bakteriler normal yaşamlarına devam ederler. Ancak, bakterinin kendi normal

üreme fonksiyonlarında bir yavaşlama meydana geldiği belirtilmektedir (Arda, 2011).

Bakteriyofajlar konakçı veya duyarlı bakterilerde genellikle 3 tür enfeksiyona neden olurlar.

1) Litik İnfeksiyon (litik form, litik siklus): Bazı virulent fajlar, kendisine duyarlı konakçı bakteriyi enfekte ederek, belli bir süre sonra çapları, şekli ve görünümü faj ve konakçının türüne göre değişmek üzere gözle görülebilecek büyüklükte odaklar (plaklar) meydana getirirler. Bunlar, fajların bakterileri parçalayarak oluşturdukları litik odaklar veya dejenerasyon odaklarıdır. Sonunda konakçı lizis sonucu ölür ve bakteri içinde çoğalan fajlar yeni bir bakteri bulmak için etrafa saçılır (Arda, 2011; Jassim ve Limoges, 2014).

2) Nonlitik İnfeksiyon: Bu tür enfeksiyonda fajlar hücreler içinde üremesine ve dışarı çıkmalarına karşın, konakçının beslenmesinde ve çoğalmasında büyük problemler şekillenmez. Konakçının her bölünmesinde faj da çoğalarak bir kopyasını diğer hücreye aktarır (Arda, 2011).

3) Lizojenik Form (latent enfeksiyon): Bazı fajlar, konakçının içine girdikten sonra faj DNA'sı konakçının genomu ile birleşir ve onun bir devamı haline gelir. Genomun her replikasyonunda faj DNA'sı da birlikte replike olarak kardeş hücreye transfer edilir. Böyle bakteride lizojeni meydana gelir (Arda, 2011).

Bakteri üzerindeki reseptörleri tanıyarak bağlanan fajlar, genetik materyalini bakterinin içine aktarır. Bu bağlanma fajın kuyruk kısmı ile olmaktadır. Kuyruk etrafında, bunu dışarıdan çevreleyen bir protein kılıf bulunmaktadır. Genetik

materyalin bakteriye aktarılması sırasında bu kılıfta bir kasılma meydana gelerek kuyruk kısmının bakteri hücre duvarını delerek stoplazmik membrana kadar ulaşmasını ve genetik materyalin güvenle periplasmik boşluğa kadar iletilmesini sağlar. Faj DNA'sı bakteri içinde kontrolü ele alır ve bakterinin organellerini, maddelerini kullanarak yeni fajlar üretir. Bakteri bu saatten sonra bir virus fabrikası gibi çalışır. Daha sonra bu fajlar bakteriyi lize ederek etrafta yeni bakteriler aramaya başlar. Yaklaşık 30 dakika içerisinde fajın enfekte ettiği bakteride 200

faj üretilir. İkinci nesilde 40000, üçüncü nesilde 8 milyon ve dördüncü nesilde 1.6 trilyon faj elde edilmiş olur. Bir mililitre su içerisinde sayıları bir trilyon civarında olabilir (Boyd ve ark., 2001; Gündoğdu ve Ulu-Kılıç, 2018).

Bakteriyofajların antibiyotiklere göre birçok avantajı olmasına rağmen bazı dezavantajları da mevcuttur. Fajlar ve antibiyotikler arasındaki avantaj ve dezavantajlar Tablo-1'de gösterilmiştir (Hanlon, 2007; O'Flaherty, 2009; Yaman Aydoğan ve Hadımlı, 2016).

Tablo 1. Antibiyotik ve Fajların avantaj ve dezavantajları.

	Antibiyotikler	Fajlar
1	Yalnızca hedef bakteriyi değil diğer yararlı ve zararlı bakterileri de etkileyebilir.	Yalnızca hedef bakterileri etkiler.
2	Direnç gelişebilir.	Direnç gelişemez (Faj da kendini yeniler).
3	Bakterileri öldürür veya çoğalmasını durdurur.	Bakterileri öldürür.
4	Belirli dozda, periyodik olarak uzun süreli kullanılmalıdır.	Hedef ortamda çoğalabildiklerinden dolayı bir kez ve az miktarda kullanılabilir.
5	Tekrar doz gerektirebilir.	Tekrar doza gerek yoktur (hedef hücre içerisinde kendiliğinden üstel olarak çoğaldığından) (otodozajlama).
6	Yan etkiler çıkması muhtemeldir.	Yan etkisi, doğru kullanıldığında yoktur.
7	Maliyeti fazladır.	Maliyeti daha azdır.
8	Yeni antibiyotik bulmak zordur.	Yeni fajlar bulmak (fajların da mutasyon yeteneğinden dolayı) kolaydır.
9	Antibiyotiğe direnç kazanan bakterinin virulensinde bir değişiklik olmaz.	Tedavi esnasında faja direnç kazanan bakterinin genellikle virulensinde azalma olur.

Sonuç olarak son yıllarda antibiyotiklere karşı direnç ciddi bir sıkıntı olarak karşımıza çıkması, uzun süredir yeni bir antibiyotik bulunamaması gibi durumlar bakteriyofajların tekrar gündeme gelmesine olanak sağlamıştır. Birçok ülkede fajlarla yapılan çalışmalarda artış gözlenmektedir. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda fajların çalışıldığı bir faj laboratuvarı kurulmuş ve lisansüstü öğrencilerin tezlerinde fajlarla ilgili konuların çalışılması teşvik edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Arda M. (2011). Bakteriyofajlar (Bakteriyel Viruslar). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi-Ankara. 182-194.
- Baş B. (2003). Bakteriyofaj Tedavisi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Seminer. 1-26.
- Borie C., Robeson J., Galarce N. (2014). Lytic bacteriophages in Veterinary Medicine: a therapeutic option against bacterial pathogens? Arch. Med. Vet. 46 : 167-179.
- Boyd, E. F., Davis, B. M., Hochhut, B. (2001). Bacteriophage-bacteriophage interactions in the evolution of pathogenic bacteria. Trends Microbiol. 9 (3) . 137-144.
- Cobb L. H., Park J. Y., Swanson E. A., Beard M. C., McCabe E. M., Rourke A. S., Seo K. S., Olivier A. K., Priddy L. B. (2019). CRISPR-Cas9 modified bacteriophage for treatment of *Staphylococcus aureus* induced osteomyelitis

- and soft tissue infection. . PLoS ONE 14(11): e0220421.
- Doss J., Culbertson K., Hahn, D., Camacho, J., Berekzi N. (2017) A Review of Phage Therapy against Bacterial Pathogens of Aquatic and Terrestrial Organisms. *Viruses*, 9:50, 1-10.
- Fernandez L., Gutierrez D., Garcia P., Rodriguez A. (2019) The Perfect Bacteriophage for Therapeutic Applications-A Quick Guide. *Antibiotics*. 8:126. doi:10.3390/antibiotics8030126.
- Furfaro L. L., Payne M. S., Chang B. J. (2018). Bacteriophage Therapy: Clinical Trials and Regulatory Hurdles. *Front Cell Infect Microbiol*. 8:376.
- Gündoğdu, A., Ulu-Kılıç, A. (2018). Bakteriyofaj Terapisi: Unutulmuş Bir Şifa Kaynağı. *Klinik Dergisi*. 31 (2) : 78-87.
- Hanlon GW, (2007). Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *IJAA*. 30, 118- 128.
- Jassim S. A. A., Limoges R. G. (2014). Natural solution to antibiotic resistance: bacteriophages 'The Living Drugs'. *World J Microbiol Biotechnology*. 30 : 2153-2170.
- O'Flaherty S, Ross RP, Coffey A, (2009). Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS*. 33, 801-819.
- Pirnay JP, De Vos D, Verbeken G, Merabishvili M, Chanishvili N, Vaneechoutte M, Laire MZG, Lavigne R, Huys I, Mooter GV, Buckling A, Debarbieux L, Pouillot F, Azeredo J, Kutter E, Dublanchet A, Górski A, Adamia R, (2011). The phage therapy paradigm: prêt-à-porter or sur-mesure? *Springer Science Pharm Res*. 28, 934-937.
- Squires R. A. (2018). Bacteriophage therapy for management of bacterial infections in veterinary practice: what was once old is new again. *New Zealand Veterinary Journal* 66 (5) . 229-235.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., Morris, G.A.J. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agentsch*. 45 (3) : 648-9-659.
- Summers, W. C. (2001). Bacteriophage therapy. *Annu. Rev. Microbiol*. 55 . 437-451.
- Todar K. (2019). <http://textbookofbacteriology.net/phage.html> . Erişim Tarihi: 19.11.2019.
- Yaman Aydoğan, D., Hadımlı, H. H. (2016). Bakteriyofaj Tedavisi. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg*. 27 (1) : 38-47.
- Yüksel H. T., Erbaş G., Parın U., Kırkan Ş. (2016). Antibiyotik Dirençli Bakterilerin Tedavi ve Biyokontrolünde Bakteriyofaj Kullanımı. *Animal Health Prod. And Hyg.*, 5 (2) : 477-480.