



Derleme

Antibiyotik Dirençli Bakterilerin Tedavi ve Biyokontrolünde Bakteriyofaj Kullanımı

H. Tuğba Yüksel, Göksel Erbaş, Uğur Parın, Şükrü Kırcan

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; Aydın, Türkiye

ÖZET

Öz bilgi/Amaç: Bakteriyofajlar veya fajlar bakterileri istila eden bakteriyel viruslardır. Üreme özelliklerine göre litik, lizojenik ve nonlitik olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadırlar. Konakçı spesifitesi bulunması nedeniyle belirli bir bakteri türü veya cinsine etki göstermektedirler. Patojenlerin kontrolünde, hastalıkların önlenmesinde, antibiyotik dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bu derlemenin amacı antibiyotiklere alternatif bir tedavi yöntemi olabilecek bakteriyofajların tanımı ve tedavilerde kullanımının avantaj ve dezavantajları hakkında bilgi vermektir.

Sonuç: Bakteriyofajlar antibiyotiklere dirençli bakterilerde alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir. Konakçı spesifitesi nedeniyle yararlı bakterilere herhangi bir etki göstermeksizin spesifik türe etki göstermesi, bilinen bir yan etkilerinin bulunmaması avantajları arasında sayılabilir. Ancak lizojenik bakterilerin bakteri DNA'sında değişikliklere neden olarak daha dirençli bakteriler ortaya çıkarabileceği unutulmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyofaj, Bakteriyofaj Tedavisi

Use of Bacteriophage in Treatment and Biocontrol of Antibiotic Resistant Bacteria

ABSTRACT

Background/Aim: Bacteriophages or phages are bacterial viruses that infect bacteria. According to their reproduction characteristics, they are divided into three groups; lytic, lysogenic and nonlitic. Due to the presence of host specificity, they show a certain bacterial strain or genus. They are used in the control of pathogens, in the prevention of diseases, in the treatment of diseases caused by antibiotic-resistant bacteria. This review provides information on the definition of bacteriophages, which may be an alternative therapeutic method and the advantages and disadvantages of its use in treatments.

Conclusion: Bacteriophages can be used as an alternative treatment in antibiotic-resistant bacteria. Advantages of the absence of known side effects are that the beneficial bacteria due to the hoster specificity have no effect on the specific species without any effect. It should be kept in mind, however, that lysogenic bacteria may produce more resistant bacteria due to changes in bacterial DNA.

Keywords: Bacteriophage, Bacteriophage treatment

Correspondence to: H. Tuğba Yüksel, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; Aydın, Türkiye.
E-mail: tugba.yuksel@adu.edu.tr

Giriş

İngiliz Ernest Hanbury Hankin 1896'da Hindistan'daki Ganj ve Yamuna nehirlerindeki suların kolera içeren bakteri kültürlerini yok eden biyolojik bir madde içerdiğini tespit etmiştir. Bu maddenin bakteri gibi daha büyük mikroorganizmaları tutabilen milipor filtrelerden geçebildiğini bildirmiştir. İngiliz Mikrobiyolog, Frederick Twort 1915'te hücreden ari agar besiyerinde aşı virüsü üretmeye çalışırken, kültürdeki bakterileri tamamen yok eden, filtreden geçebilen, şeffaf maddelerin saf bakteri kültürleriyle birlikte bulunduğunu belirtmiştir. Bu yayından 2 yıl sonra, Felix d'Herelle basiller dizanteriden iyileşen veya hastalığı devam eden hastalarla çalışırken bağımsız olarak benzer deneysel bulgular tanımlamıştır. Shigellozisten iyileşen hastaların dışkısını 18 saat inkübe edip filtre ederek anti-Shiga mikrobuunu izole etmiştir. Bu aktif filtrat, shiga basilinin emülsiyonu veya kültürüne eklendiğinde, kültürün durmasına, ölümüne ve son olarak basilin lizisine neden olabilmekteydi. Elektron mikroskopun icadı Alman Doktor Helmut Ruska'nın 1940'ta yuvarlak partiküllerin yanında, bakteriyel membrana bağlanan bakteriyofaj süspansiyonundaki 'sperm şekilli' partiküllerin de ilk kez tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Aleksander Sulakvelidze bakteriyofajları "dünyadaki mikrobiyel dengenin devamlılığında önemli bir rol oynayan, dünyadaki en yaygın organizmalar" olarak tanımlamıştır (Sulakvelidze, 2011). Bakteriyofajlar veya fajlar bakterileri istila eden bakteriyel viruslardır, litik bakteriyofajlar bakteriyel metabolizmaya hasar verir ve bakterinin lizisine neden olurlar (Abhilash ve ark, 2008). Bakteriyofajların genetik materyali bir protein kabuk veya ikosehedron formuna sahip olan kapsid içinde bulunur; bu baş bir yaka ile kontraktıl olan veya olmayan bir kuyruğa bağlıdır ve distal ekstremite bakteriyel hücre yüzeyindeki reseptör alanlarına bağlanmayı sağlayan kuyruk fibrilleriyle temas halindedir (Wittebole ve ark, 2013).

Tüm kuyruklu bakteriyofajlar çift sarmallı DNA'ya sahiptir (Gutman ve ark, 2005). Bakteriyofajlar çift iplikçikli veya tek iplikçikli DNA veya RNA'ya sahiptir. Kuyruklu, polihedral, filamentöz veya pleomorfiktir (Ackermann, 2009).

Bakteriyofaj klasifikasyonunun öncüleri 1937'de bakteriyofajları büyüklükleri ve fizikokimyasal ajanlara karşı dirençlerine göre farklılaştıran Avusturyalı Mikrobiyolog Sir Macfarlane Burnet ve bakteriyofajları morfolojik olarak çeşitlendiren H.Ruska'dır. Ruska 1943'te elektron mikroskopu vasıtasıyla virusların sınıflandırılmasını önermiştir. Holmes 1948'de virusları 3 familyaya ayırmıştır. Bakteriyofajlar Phaginae familyasını oluşturur. Holmes klasifikasyonu konakçı özelliğine ve hastalık semptomlarına dayalıdır (Ackermann, 2011).

Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) 1971'de yılında yayınlanan ilk raporunda 6 bakteriyofaj cinsi tanımlanmıştır. Gruplar türlerin tip ve özelliklerine göre listelendirilmiştir. Bu bakteriyofaj klasifikasyonunun başlangıç noktası olarak değerlendirilebilir (Ackermann, 2011). Bradley sınıflandırmasına göre bakteriyofajlar, baş ve kuyruk özelliklerine göre 6 grupta toplanmaktadır. Ackermann sınıflandırmasında ise morfolojik karakterler yanında diğer bazı özellikler dikkate alınarak kuyruklu, kübik, filamentöz ve pleomorfik olmak üzere 4 temel gruba ayrılmaktadır (Poyraz 2013).

Bakteriyofajların üremeleri üç aşamada inceleyebilir:

1. Adsorbsiyon: Bakteriyofajların bakteriye bağlanması, kuyruklu olanlarda kuyruklarla, kuyruksuz veya filamentöz olanlar ise 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 bu adsorbsiyon özelliği, bakteriyofajların yüzeyindeki veya kuyruklarındaki özel komplementer bölgeler ile bakteri yüzeyi arasındaki spesifik reseptörler arası ilişki ile bağlantılıdır (Arda, 1997).

2. Penetrasyon: Bakteriyofajların spesifik reseptörlerine bağlanması üzerine, bakteriyofajlar bakterinin hücre duvarında deliğe neden olur. Adsorbsiyondan çok kısa bir süre sonra, bakteriyofaj nükleer materyali hücre içine sırınga edilir. Kuyruklu bakteriyofajlarda kuyruğun etrafındaki 24 halkalı helezoni kılıf, bir kas gibi kontraksiyon yaparak, kuyruk kısmının hücre duvarına girmesini sağlar. Kapsid içinde bulunan genetik materyal, kuyruk içindeki kanaldan geçerek periplazmik boşluğa gelir ve buradan kısa süre içinde sitoplazmaya geçer. Sonra açılan delik bakteri tarafından hemen tamir edilir (Arda, 1997). DNA'sını hücre içine enjekte ederken viral kapsid bakterinin dışında kalır (Weinbauer, 2004).

3. Latent Dönem: Bakteriyofajlar konak bakterileri infekte ettiğinde koruyucu protein tabaka üretmek ve kendi nükleik asitlerini replike etmek için bakteri tarafından sağlanan mitokondri ve ribozoma gereksinim duyarlar (Abhilash ve ark, 2008). İnfeksiyon sonrası, viral DNA konak hücrenin işleyişini ele geçirir ve yeni virüs parçalarının üretimi için gerekli proteinler ve nükleik asitlerin üretimi için kullanılır. Viral DNA hem replikasyon hem transkripsiyon için taslak olarak konakçı hücre DNA'sının yerine geçer. DNA replikasyonu, protein sentezi ve virüs parçalarının birleşmesi sırayla gerçekleşmektedir (Abhilash ve ark, 2008).

Bakteriyofajlar üreme döngülerine göre de üçe ayrılmaktadır:

1. Litik Bakteriyofajlar: Bir virulent bakteriyofaj konakçı bakteriyi infekte ettiği zaman, konakçı hücreden çok daha hızlı replike olur. Bakteriyofaj, üreme için konakçıya bağlı olan bir parazittir. Konakçının biyolojik fonksiyonlarını bozar ve üremek için konakçı metabolizmasını kullanır. Konakçı hücre lizise maruz kalır ve ölür, aynı anda özgür kalan birçok genç bakteriyofajın her biri yeni komşu bakteriyel hücreleri etkileyecek diğer bir döngüye başlamaya hazırdır. Bu döngü litik 'virulent' döngü olarak bilinir (Jassim ve Limoges, 2013).

2. Nonlitik Bakteriyofajlar: Bu tür infeksiyonda bakteriyofajlar hücre içinde üremesine ve dışarı çıkmasına karşın, konakçının beslenme ve çoğalmasında herhangi bir bozukluk gözlenmez. Bir kısım bakteriyofajlar da konakçının stoplazmasında bulunmasına karşın bağımsız bir replikasyon karakterinde değildir. Ancak, konakçısının her bölünmesinde bakteriyofaj da replike olarak bir kopyası kardeş hücreye aktarılır. Bu tür bakteriyofajlar da konakçısında herhangi bir zararlı etkiye yol açmazlar. Viruslar hücrelerde üremelerine ve dışarı çıkmasına karşın hücrelere zararlı etkileri bulunmamaktadır. (Arda, 1997).

3. Lizojenik Bakteriyofajlar: Lizojenik döngü antibiyotik direnç genlerini de kapsayan, bakteriyel konakçı için seçici avantajları olan genlerin transferini sağlayabilir ve terapotik olarak bakteriyofaj kullanılarak gen transfer edilmiş bakterileri bazı antibiyotiklere daha duyarlı hale getirmek için de kullanılmaktadır (Edgar ve ark, 2012). Bakteriyofajların bakteriyel virulens genleriyle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu ilişkinin muhtemelen bakteriyofajla kodlama sonucu elde edilen virulens faktörlerinin hareketliliğinden kaynaklandığı ve bakteri popülasyonu içerisinde bu virulens faktörlerinin bakteriler arasında yayılmasına neden olduğu açıklanmıştır (Wagner ve Waldor, 2002). Üstelik bakteriyofajla kodlanan virulens faktörlerinin, bakteri tarafından kodlanana nazaran daha iyi bir şekilde

çevre koşullarına dayanabildiği bulunmuştur.

Bakteriyofajların yüksek spesifliği, sadece hedef mikroorganizma üzerinde etkili olması, insanda fazla miktarda alınmasının zararlı etkisinin bulunmaması bakteriyofajların antimikrobiyal olarak kullanımını önemli hale getirmektedir (Hagens ve Loessner, 2010).

Bakteriyofaj tedavisi, patojenlere karşı kimyasal ajanların kullanımının azaltılmasında bazı kolaylıklar sağlanmasıyla birlikte diğer biyolojik kontrol mekanizmalarına benzerlik göstermektedir (Fujiwara ve ark. 2011). Bakteriyofajlar bakterisidal olabilir, normal florayı çok az düzeyde hasara uğratma eğilimindedir, antibiyotik dirençli bakterilere karşı eşit şekilde etkilidir, sıklıkla kolayca bulunabilir, bakteriyel biyofilmleri hasara uğratabilme yeteneği olabilir. Patojenlerin kontrolünde farklı bir yaklaşım olarak bakteriyofajların kullanımı antibiyotik dirençli bakterilerin varlığından dolayı ilgi uyandırmaktadır (Sulakvelidze ve ark, 2001; Merrill ve ark, 2003; Jassim ve ark, 2012). Bakteriyofajlar, cilt infeksiyonları, göz infeksiyonları, bakteriyel dizanteri, septisemi, yenidoğan menenjit, yenidoğan sepsisi, abse, osteomyelit, nazal mukoza infeksiyonları, pleural infeksiyonları, solunum yollarının supuratif infeksiyonları, stafülakokal akciğer-infeksiyonları, kistik fibrozis, peritonit, frunkulozis, kanser olgularında postoperatif infeksiyonlar, üriner infeksiyonların tedavisinde kullanılabilmektedir (Midilli, 2012).

Bakteriyofaj tedavisinin ekonomik yönü ümit vaat edici görünmektedir. Tedavi süresinin oldukça uzun olduğu gerçeğine rağmen, bakteriyofaj tedavisinin maliyeti metisilin dirençli *S. aureus*'u da kapsayan çeşitli stafülakokal infeksiyon olan hastalardaki klasik antibiyotik tedavilerinden daha düşüktür (Miedzymbrodski ve ark, 2007). Terapotik bakteriyofaj preparatlarının antibiyotik dirençli *Pseudomonas aeruginosa* kaynaklı kronik otitisteki ilk kontrollü klinik denemesi 2009'da yürütülmüş ve etkili ve güvenli olduğu görülmüştür (Wright ve ark, 2009). Bakteriyofajlar gıda sektöründe hastalığın önlenmesi, karkas, taze meyve ve sebze gibi ham maddelerin dekontaminasyonu, ekipman ve temas yüzeylerinin dezenfeksiyonu, kolay bozulabilir ürünlere doğal koruyucu olarak kullanım ile raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca bakteriyofajların diğer koruma yöntemleri ile kombine edilerek koruyucu olarak kullanımları üzerinde de çalışmalar bulunmaktadır (Leverent ve ark, 2003; Abedon, 2009).

Bakteriyofaj tedavisi patojenik bakteriyel infeksiyonların tedavisi için litik bakteriyofajların terapotik kullanımınıdır. Bakteriyofaj tedavisi Doğu Avrupa ve Amerika'daki araştırma grupları tarafından klinik kullanım için geliştirilmiştir ve antibiyotiklere bir alternatiftir. Bakteriyofaj tedavisi sadece insan hekimliğinde değil aynı zamanda diş hekimliği, veteriner hekimliği, gıda sektörü ve tarımda potansiyel uygulama alanına sahiptir. Bakteriyofaj tedavisinin ilaçların aksine neredeyse yok denecek kadar az yan etkisi vardır ve karaciğer üzerinde strese neden olmaz. Bakteriyofajlar hedef hücrede kendini replike ettiği için tek, küçük doz uygulama teorik olarak etkilidir. Dolayısıyla bakteriyofaj kokteyli başarı şansını artırmak için uygulanabilir veya klinik örnekler toplanarak uygun bakteriyofajlar identifiye edilerek üretimi sağlanabilir (Abhilash ve ark, 2008).

Bakteriyofajları herhangi bir infeksiyonun tedavisi için sihirli bir silah olarak tanımlamak zordur. Aslında optimal doz, uygulama rutini, sıklığı ve tedavinin süresi yaygın klinik denemeler tasarlanmadan belirlenmesi gerekir. Bakteriyofaj tedavisinin en önemli dezavantajı infeksiyona neden olan mikroorganizmanın hızlı ve kesin bir şekilde tespit edilmesine ihtiyaç duyulmasıdır.

Spesifik patojenlere karşı bakteriyofaj tedavisinin hassas spesifliği en önemli avantajdır, ancak aynı zamanda da dezavantajdır. Spesifik bakteriyofaj tanımlamadan önce patojeni identifiye etmek için klinik örnekler standart mikrobiyolojik tanı prosedürleri kullanılarak izole edilmeli ve sonrasında hastalara uygulanmalıdır. Bu birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarı ve kısıtlı kaynaklı sağlık kuruluşları için zaman alıcı bir süreçtir. Bu problem kullanıma hazır bakteriyofaj kokteylleri ile çözülebilmektedir (Drulis-Kawa ve ark, 2012). Bakteriyofaj tedavisindeki bir diğer düşünülmesi gereken nokta bakteriyofajların DNA'yı bir bakteriden diğer bakteriye transfer edebilmesidir. Bu genetik materyal transferi veya transdüksiyon, patojenik determinantların ve virulens faktörlerinin transferinden sorumlu olabilir, yeni mikrop gelişimine veya daha dirençli bakterilerin oluşumuna yol açabilir (Brabban ve ark, 2005; Maiques ve ark, 2007).

Sonuç

Bakteriyofajlar antibiyotiklere dirençli bakterilerde alternatif bir tedavi olarak kullanılabilmektedir. Konakçı spesifitesi nedeniyle yararlı bakterilere herhangi bir etki göstermeksizin spesifik türe etki göstermesi, bilinen bir yan etkilerinin bulunmayışı avantajları arasında sayılabilir. Ancak lizogenik bakterilerin bakteriyel DNA'sında değişikliklere neden olarak daha dirençli bakteriler ortaya çıkarabileceği unutulmamalıdır.

Kaynaklar

- Abedon ST (2009). Kinetics of phage-mediated biocontrol of bacteria. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6, 807-815.
- Abhilash M, Vidy A, Jagadevi T (2008). Bacteriophage Therapy: A War Against Antibiotic Resistant Bacteria. *The Internet Journal of Alternative Medicine*. 7(1), 5.
- Ackermann HW (2009). Phage classification and characterization. In *Bacteriophages. Methods and Protocols*, Vol. I, Isolation, Characterization, and Interactions (Clokier M.R.J. and Kropinski A.M, eds), Humana Press, Clifton, NJ. *Methods in Molecular Biology*, 501, 127-140.
- Ackermann HW (2012). Who went into phage research? *Bacteriophage*, 2, 55-9.
- Arda M (1997). Bakteri Virusları (Bakteriyobakteriyofajlar). *Temel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınları. 209-224.
- Brabban AD, Hite E, Callaway TR (2005). Evolution of foodborne pathogens via temperate bacteriophage-mediated gene transfer. *Foodborne Pathogen Disease*, 2, 287-303.
- Drulis-Kawa Z, Majkowska-Skrobek G, Maciejewska B, Delattre AS, Lavigne R (2012). Learning from bacteriophages advantages and limitations of phage and phage-encoded protein applications. *Curr Protein Pept Sci*. 13, 699-722.
- Edgar R, Friedman N, Molshanski-Mor S, Qimron U (2012). Reversing bacterial resistance to antibiotics by phage-mediated delivery of dominant sensitive genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 744-51.
- Fujiwara A, Fujisawa M, Hamasaki R, Kawasaki T (2011). Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Appl Environ Microbiol*. 77(12), 4155-4162
- Guttman B, Raya RA, and Kutter E (2005). Basic Phage Biology. In: *Bacteriophages Biology and Applications*. Eds: E. Kutter and A. Sulakvelidze. CRC Press, USA, 510, 29-66.
- Hagens S, Loessner MJ (2010). Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11, 58-68.
- Jassim SAA, Abdulmir AS, Abu Bakar F (2012). Novel phage-based bio-processing of pathogenic *Escherichia coli* and its biofilms. *World J Microbiol Biotechnology*, 28, 47-60.
- Jassim SAA, Limoges RG (2014). Natural solution to antibiotic resistance: bacteriophages 'The Living Drugs'. *World J Microbiol Biotechnology*, 30, 2153-2170
- Leverentz B, Conway WS, Camp MJ, Jan-Isiewicz WJ, Abuladze T, Yang M, Saftner R, Sulakvelidze A (2003). Biocontrol of *Listeria*

- monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 4519–4526.
- Maiques E, Ubeda C, Tormo MA, Ferrer MD, Lasa I, Novick RP, Penadés JR (2007). Role of staphylococcal phage and SaPI integrase in intra- and interspecies SaPI transfer. *J Bacteriology*, 189, 5608–16.
- Merril CR, Scholl D, Adhya SL (2003). The prospect for bacteriophage therapy in Western medicine. *Nat Rev Drug Discov*, 2, 489–497.
- Midilli K (2012). İnfeksiyonlara Antibiyotik Dışı Tedavi Yaklaşımları: Bakteriyofaj ve Mikro-RNA Kullanımı.
- Miedzymbrodzki R, Fortuna W, Weber-Dabrowska B, Górski A (2007). Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 61, 461–5.
- Sulakvelidze A (2011). Bacteriophage: A new journal for the most ubiquitous organisms on Earth. *Bacteriophage*, 1, 1–2.
- Wagner PL, Waldor MK (2002). Bacteriophage control of bacterial virulence. *Infect Immun*, 70(8), 3985–93.
- Weinbauer MG (2004). Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Review*, 28, 127–81.
- Wittebole X, Roock S, Opal SM (2014). A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 5, 1.
- Wright A, Hawkins CH, Änggård EE, Harper DR (2009). A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clinical Otolaryngology*, 34(4), 349–357.