



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

مطالعات تعیین ساختاری و بررسی تاثیر pH و دما بر روی دو باکتریوفاژ کشنده
علیه *Escherichia coli* O157:H7

نگارش:

الهه رحیمی صباغ کمال آبادی

استاد راهنما:

دکتر صالحه صبوری

استاد مشاور:

دکتر باقر امیر حیدری

شماره پایان نامه: 1142

پاییز 1398



Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy

PharmD Thesis

Title:

Structural determination studies and evaluating the effect of pH and O157:H7 temperature on two lytic bacteriophages against *Escherichia coli*

By:

Elahe Rahimi Sabagh Kamalabadi

Supervisor:

Dr. Salehe Sabouri

Advisor:

Dr. Bagher Amirheidari

Autumn 2019

Thesis No: 1142

چکیده

مقدمه: اشرشیا کولی مولد شیگا توکسین بویژه زیر گونه O157:H7 پاتوژنی است که در سراسر دنیا وجود دارد و باعث طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌شود. باکتریوفاژها (فاژها)، ویروس‌هایی هستند که به طور اختصاصی باکتری‌ها را آلوده می‌کنند. روشی که در آن از فاژها برای درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود، فاژتراپی نام دارد. برخلاف بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها، فاژها اختصاصی عمل می‌کنند و بنابراین به فلور نرمال بدن آسیب کمتری وارد می‌شود. همچنین فاژها خود محدود کننده هستند، در حضور میزبان تکثیر می‌شوند و بعد از نابود کردن آن، خود نیز کم کم حذف می‌شوند. هدف از این مطالعه استفاده از روش فاژتراپی بخاطر بیماری زایی *E. coli* O157:H7 و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آن می‌باشد.

روش‌ها: در ابتدا دو فاژ OR و GH که در مطالعه قبلی از فاضلاب جدا شده بودند، تکثیر، تغلیظ و خالص‌سازی شدند. سپس تاثیر pH و دما بر روی آن‌ها بررسی شد. همچنین زمان جذب از 0 تا 8 دقیقه و MOI¹ (نسبت فاژ به باکتری) بهینه نیز بررسی شد. برای بررسی الگوی پروتئین‌های فاژ از ژل پلی‌اکریلامید و برای بررسی مورفولوژی فاژها از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد.

نتایج: هر دو فاژ به pH و دما مقاوم بودند. دو فاژ متعلق به خانواده Myoviridae بوده و الگوی پروتئین‌های پوشش یکسانی داشتند. اندازه فاژ OR کمی بزرگتر از فاژ GH بود. زمان جذب نیز برای دو فاژ، 4 دقیقه محاسبه شد. فاژها در جلوگیری از رشد میزبان حتی در نسبت‌های پائین نیز اثر بسیار خوبی داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات مناسبی که دو فاژ در جلوگیری از رشد باکتری *E. coli* O157:H7 نشان دادند و نیز مقاومت ذرات فاژ به pH و دماهای آزمایش شده، می‌توان از آنها برای مقابله با این پاتوژن استفاده کرد.

کلمات کلیدی: فاژ کشنده، اشرشیا کلی، pH، دما، Myoviridea.

¹ Multiplicity of Infection

Abstract

Introduction: Shiga toxin producing *Escherichia coli*, especially subtype O157:H7, is a pathogen that exists throughout the world and causes a wide range of diseases. Bacteriophages (phages) are viruses that specifically infect bacteria. Phage therapy is a method in which phages are used to treat bacterial infections. Unlike most antibiotics, phages act specifically, which results in less damage to the normal flora. Also, phages are self-limiting, propagated in the presence of the host and disappearing after removal of the host. The aim of this study was phagotherapy for *E. coli* O157:H7 pathogenicity and antibiotic resistance.

Methods: Methods: At first, two phages (OR and GH) isolated from wastewater in the previous study, were propagated, concentrated, and purified. Then, the effect of pH and temperature were investigated. The adsorption time from 0 to 8 minutes and the optimum MOI (multiplicity of infection) was investigated. Polyacrylamide gel was used to investigate the pattern of phage proteins and transmission electron microscopy was used to determine the morphology of phages.

Results: Both phages were resistant to pH and temperature. Both belonged to Myovoridae family and showed a same pattern of capsid proteins. Phage OR was slightly larger than phage GH. Adsorption time was calculated 4 minutes for both phages. Phages had powerful effects on preventing the growth of host even at low MOIs.

Conclusion: Based on the suitable effect of phages in preventing the host growth and also their resistance to tested pH and temperature values, they can be used to combat this pathogen.

Keywords: Lytic Phage, *Escherichia coli*, pH, Temperature, Myoviridea.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم الهه رحیمی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۲ به شماره : ۱۱۴۲

تحت عنوان:

مطالعات تیسین ساتاری و بررسی تاثیر $p3f$ و دابروی دو باکتریوفاج کشنده علیه *Escherichia coli* O157:H7

اساتید راهنما:

۱- دکتر صالحه صوری

۲- دکتر باقر امیرحیدری

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر بهزاد بهنام

۲- دکتر حمید فروتن فر

۳- دکتر داوود کلانتر

در تاریخ ۹۸/۰۹/۱۰ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸.۸۰
(با حروف) به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنهادی
رئیس اداره پایان نامه

دکتر باقر امیرحیدری
رئیس دانشکده

