



جداسازی و تعیین اختصاصیت باکتریوفاژ بومی اشیریشیاکلی از فاضلاب خام

نویسندگان: سید مصطفی ایمنی^۱، عباس اخوان سپهی^۲، محمد مهدی سلطان دلال^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی

۲. دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی

۳. نویسنده مسئول: استاد میکروب شناسی مواد غذایی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email: msoltandallal@gmail.com

تلفن تماس: ۹۸۲۱۸۸۹۹۲۹۷۱

چکیده

مقدمه: باکتریوفاژها ویروس‌هایی هستند که بر سلول‌های پروکاریوت و به‌ویژه در تخریب باکتری‌ها اثر گذارند. مکانیسم اثر آن‌ها بسیار انتخابی است، به گونه‌ای که هر باکتریوفاژ تنها بر باکتری خاصی اثر می‌گذارد. باکتریوفاژها به دلیل داشتن خواص ویژه، می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی باشند. هدف این تحقیق جداسازی باکتریوفاژ مخصوص باکتری اشیریشیاکلی از فاضلاب است.

روش بررسی: هشت نمونه از فاضلاب که هر کدام شامل حدود ۵۰ میلی‌لیتر فاضلاب خام بود و بافاصله زمانی ۱۰ دقیقه از تصفیه‌خانه زرگنده واقع در تهران جمع‌آوری شد. سپس با محیط کشت (BHI: Brain-Heart Infusion Medium) به‌عنوان محیط کشت مایع جهت رشد میکروارگانیسم‌ها مخلوط شد. مراحل دیگر کار شامل خالص‌سازی، تلقیح باکتری و تعیین میزان نیز برای جداسازی باکتریوفاژ انجام شدند. جهت انتخابی بودن تأثیر باکتریوفاژ بر روی میکروارگانیسم‌هایی مانند: *E. coli* (ATCC25922)، *Enterococcus faecalis* (ATCC19433)، *Staphylococcus aureus* (ATCC2392) و *Yersinia enterocolitica* (ATCC9610) بررسی شد.

یافته‌ها: از هر هشت نمونه باکتریوفاژ منتخب اشیریشیاکلی جدا شد. آزمایش تعیین میزان نشان داد که این فاژها، به‌خوبی قادر به لیز کردن و از بین بردن باکتری اشیریشیاکلی هستند، اما روی سایر باکتری‌های مورد استفاده، هیچ تأثیری ندارند.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست آمده نشان داد که باکتریوفاژها به‌صورت اختصاصی عمل می‌کنند. با توجه به اینکه میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است، باکتریوفاژها می‌توانند جایگزین مناسبی برای کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریایی باشند.

واژه‌های کلیدی: باکتریوفاژ، فاضلاب، اشیریشیاکلی، آنتی‌بیوتیک

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال پانزدهم

شماره: اول

فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵

شماره مسلسل: ۵۵

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۵/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۱۸

امروزه مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به موضوعی مهم و نگران‌کننده در بهداشت و درمان جهانی تبدیل شده است. از این رو تلاش‌ها برای یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها که مضرات آن به خصوص ایجاد مقاومت در برابر درمان را نداشته باشد یک امر ضروری می‌باشد. یکی از مواردی که می‌تواند در درمان‌های باکتریایی استفاده شود، باکتریوفاژها هستند. باکتریوفاژها یا فاژها ویروس‌هایی هستند که بر سلول‌های پروکاریوت اثر می‌گذارند. باکتریوفاژ به معنی خورنده باکتری می‌باشد و این نام‌گذاری به دلیل آن است که در ابتدای کشف آن‌ها گمان می‌شد که آن‌ها باکتری‌ها را می‌خورند (۱،۲). همانند سایر گونه‌های ویروس‌ها باکتریوفاژها ارگانیسم‌هایی هستند که برای زنده ماندن نیاز به یک سلول میزبان دارند و از طریق تغذیه از آن سلول قادر به بقا و تکثیر می‌باشند، تفاوت فاژها در خاصیت انتخابی بودن آن‌ها می‌باشد به گونه‌ای که هر فاژ تنها بر باکتری خاصی اثرگذار و بر سایر میکروارگانیسم‌ها بی‌تأثیر می‌باشد (۳،۴). باکتریوفاژها در سراسر طبیعت و در سلول‌های میزبان باکتریایی به صورت گسترده پراکنده هستند (۵،۴). در دهه‌های اخیر استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان موجب پدیده مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده است که این بالقوه یک خطر جدی برای آینده بهداشت جهانی می‌باشد. از این رو باکتریوفاژها که موجب مقاومت نمی‌شوند و خود نیز سبب از بین رفتن باکتری و متلاشی شدن آن می‌شوند، در سال‌های اخیر درمان عوامل باکتریایی توجهات زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۶).



باکتریوفاژها در شکل متفاوت هستند و بیشتر آن‌ها دارای طولی به اندازه ۲۰۰-۲۴۰ نانومتر دارند. هر فاژ دارای یکسر و یک کپسید است که اطلاعات ژنتیکی سلول در آن قرار دارد و نیز می‌تواند در اندازه و شکل متفاوت باشند (۹-۷). برای ورود به سلول میزبان، باکتریوفاژها به سطح سلول چسبیده و با تزریق نوکلئوتیک اسید خود به داخل سلول و استفاده از اطلاعات ژنتیکی آن قادر به تولید مثل می‌باشد (۱۰). اشیریشیاکلی از باکتری‌هایی است که به‌طور طبیعی در فلور روده انسان حضور دارد ولی در شرایط خاصی مانند حالات غیرعادی روده، ضعف سیستم ایمنی سلول میزبان و یا شرایط نامساعد محیطی می‌تواند موجب بیماری‌هایی از جمله سپسیس، عفونت‌های زخم، گاستروانتریت و مننژیت نوزادی ایجاد کند (۱۱،۱۲). هدف این مطالعه تلاش بر جداسازی باکتریوفاژ بومی باکتری اشیریشیاکلی از فاضلاب خام می‌باشد.

روش بررسی

جداسازی باکتریوفاژ: هشت نمونه از فاضلاب هر کدام شامل حدود ۵۰ میلی‌لیتر فاضلاب خام و نیز بافاصله زمانی ۱۰ دقیقه از تصفیه‌خانه زرگنده واقع در تهران جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها از شماره ۸-۱ شماره‌گذاری شده و مدت یک شبانه‌روز در یخچال به منظور ته‌نشینی آلودگی اولیه آن‌ها نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها هر کدام با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی آن در لوله‌های جداگانه جمع‌آوری شد. ۸۰ میلی‌لیتر از BH Broth (Brain, Heart Broth) در ارلن مایر تهیه و سپس ۱۰ میلی‌لیتر از هر نمونه پس از عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرون با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول براث تهیه‌شده ترکیب شدند. عبور از فیلتر با



و بعد از ۱۰ دقیقه که پلیت ها کاملاً در دمای اتاق خشک شدند، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

تعیین سلول میزبان باکتریوفاژ: در گام بعدی هدف تعیین باکتری میزبان فازی است که به دست آمده است. به منظور بررسی تأثیر فاج استخراج شده و همچنین به منظور آزمایش اختصاصی عمل کردن آن، محلول فاج به سایر باکتری ها اضافه گردید. برای این منظور چند کشت تازه در محلول BHI Broth که همگی در فاز لگاریتمی منحنی رشد بودند، از باکتری های E.coli(ATCC 25922) ، Yersinia enterocolitica (ATCC 9610) ، Enterococcus و Staphylococcus aureus (ATCC 2392) faecalis(ATCC 19433) تهیه کرده سپس هر کدام از محلول های باکتریایی را در پلیت حاوی آگاروز ریخته شدند و در گام آخر ۱ میلی لیتر از محلول حاوی باکتریوفاژ به هر یک از این پلیت ها اضافه گردید. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

یافته ها

بعد از خالص سازی باکتریوفاژ، آن را بر روی پلیت حاوی اشیریشیا کلی اضافه نموده و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت، مشاهده شد که باکتریوفاژ بر باکتری اثر گذاشته و آن را به خوبی لیز کرده و از بین برده و سبب ایجاد نقاط خالی در سطح آگار شده است (شکل ۱).

باکتریوفاژها بسیار انتخاب پذیر عمل می کنند: باکتری های متفاوت در برخورد با یک نوع باکتریوفاژ، انتخاب پذیری بالای باکتریوفاژ

ابعاد ذکر شده سبب می شود تا هیچ باکتری وارد لوله حاوی محلول برات نشود. بعد از این مراحل ۱۰ میلی لیتر از محلول کشت تازه باکتری اشیریشیا کلی (ATCC 25922) که تنها یک شبانه روز از کشت آن می گذرد، به هر لوله اضافه می شود. نمونه ها به منظور اختلاط بهتر به خوبی به وسیله دستگاہ Vortex به هم زده می شوند. در پایان تمام نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می گیرند.

خالص سازی باکتریوفاژ: بعد از ۲۴ ساعت نمونه ها خارج و میزان کدورت هر لوله بررسی می شود که نمونه ها دارای کدورت تقریبی ۱ الی مک فارلند بودند. لوله شماره ۳ که کدورت کمتری را دارا بود، به عنوان نمونه ای که بیشترین باکتریوفاژ در آن است، انتخاب گردید و کلیه مراحل توضیح داده شده برای این نمونه ۳ مرتبه تکرار گردید تا حدوداً به کدورت ۰/۵ مک فارلند برسد. نمونه مجدداً سانتریفوژ شده و سوپرناتانت به داخل یک لوله استریل، منتقل شد. در خالص سازی باکتریوفاژ که به آن شکل دهی واحد پلاک یا Plaque Forming Units که به اختصار (PFU) میگویند از روش Double-Layer Agar یا (DLA) که در مطالعه Sambrook و Russel (۱۳،۱۴) به آن پرداخته شده است، استفاده گردید. به طور خلاصه، ۱۰۰ میلی لیتر از محلول نمونه فاج با ۱۰۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری تازه کشت داده شده که ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بوده، مخلوط شده و سپس به ۴ میلی لیتر از آگار ۰/۷٪ اضافه گردید. باید دقت شود که اختلاط مناسب آن ها حائز اهمیت است. سپس مخلوط روی پلیت ۹۰ میلی متری که حاوی ۱۰ میلی لیتر آگار ۱/۵٪ است، ریخته شد



در شکل ۲ مشاهده می‌شود که باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Yersinia enterocolitica* و *Enterococcus faecalis* در برابر باکتریوفاژ اشیریشیا کلی بی‌تغییر مانده و این در حالی است که پلیت مربوط به اشیریشیا کلی نشان‌دهنده این است که مقدار قابل ملاحظه‌ای از این باکتری لیز شده و از بین رفته است.

بحث و نتیجه‌گیری

نگرانی‌ها در مورد نقش باکتری‌ها در بیماری‌ها و نیز مکانیسم عمل آن‌ها در محدود نمودن اثر آنتی‌بیوتیک‌ها که به مقاومت باکتریایی مشهور است، در جهان رو به افزایش است (۱۶، ۱۵).

ظرفیت و مقدار مصرف آنتی‌بیوتیک که در نتیجه آن موجب ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود، همواره از مشکلات سلامت عمومی در جهان است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند مدت‌ها پس از دوره استفاده از آن در محیط یافت شود (۱۸، ۱۷).

Raghu و همکارانش مطالعه‌ای که انجام دادند نتیجه گرفتند که می‌توان از باکتریوفاژها در محیط‌زیست و محیط اطراف، کنترل بیوفیلم‌ها و نیز در تصفیه آب و فاضلاب استفاده نمود (۱۹).

مطالعات کمی نیز به نقش مؤثر باکتریوفاژ موجود در فاضلاب در تصفیه آب و فاضلاب به‌ویژه در پروسه لجن فعال اشاره دارند. این فاژها می‌توانند به‌سادگی باکتری‌های مضر پیرامون ما را از بین ببرند بی‌آنکه خود ضرری داشته باشند (۲۲-۲۰).

به همین علت است که Borrego و همکارانش و نیز Abdulla و همکارانش اشاره کردند که می‌توان از باکتریوفاژها به‌عنوان

ها را نشان دادند به‌گونه‌ای که باکتریوفاژ، اشیریشیا کلی را به‌خوبی لیز کرده و تأثیر مطلوبی گذاشته و این در حالی است که در برابر سایر گونه‌های باکتری تقریباً بی‌اثر بوده است (شکل ۲).



شکل ۱: تأثیر باکتریوفاژ بر روی پلیت حاوی اشیریشیا کلی



شکل ۲: تأثیر باکتریوفاژ بر روی باکتری‌های مورد مطالعه



جایگزین مناسبی باشند. باکتریوفاژها حتی چنانچه داخل بدن انسان شوند پس از معدوم کردن باکتری هدف یا خود در اثر نبود مواد غذایی به دلیل خاصیت انتخابی، از بین می‌روند و یا از بدن دفع می‌شوند. همچنین مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که فاژها می‌توانند به خوبی با به کارگیری در تصفیه پساب‌ها و حتی پساب‌های بیمارستانی، به کمک محیط زیست بیایند.

با توجه به اهمیت‌های ذکر شده در مورد باکتریوفاژها، در این تحقیق باکتریوفاژ بومی مربوط به باکتری اشریشیاکلی از فاضلاب شهری خام جداسازی و توانایی آن در از بین بردن باکتری اشریشیاکلی مشاهده شد بنابراین می‌توان از این منبع فراوان باکتریوفاژ در صنایع بهداشتی و درمانی و نیز در تصفیه فاضلاب شهری بهره برد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق که حاصل پایان‌نامه دانشجویی می‌باشد، در دانشگاه علوم پزشکی تهران و در بخش پاتوبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی غذایی صورت پذیرفت. از دکتر فرهاد نیکخواهی، سرکار خانم زهرا رجبی و نیز مهندس سعید خانجانی به دلیل حمایت‌ها و زحمات فراوانشان کمال تشکر و قدردانی را دارد.

References

- 1- Alisky J, Iczkowski K, Rapoport A, Troitsky N. Bacteriophage show promise as antimicrobial agents. *Journal of Infection*. 1998; 36(1):5-15.
- 2- Krukowska A, Slopek S. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol Ther exp*. 1987; 5:553—561.

نابودکننده‌های بیولوژیکی باکتری‌های پاتوژن در تصفیه پساب استفاده کرد (۲۳،۲۴).

Zumstein و همکارانش مطالعه‌ای را بر روی جمعیت باکتری‌ها و باکتریوفاژها در تصفیه بی‌هوازی پساب انجام دادند و اعلام کردند که باکتریوفاژها قادرند بر نفوذ بر جمعیت باکتریایی در این پروسه تأثیرگذار باشند (۲۵).

در ادامه Periasamy و Sundaram گزارش دادند که باکتریوفاژها قادر به از بین بردن باکتری‌های پاتوژن نظیر اشریشیاکلی را در پساب بیمارستانی هستند (۲۶).

با توجه به مطالب عنوان شده به نظر می‌رسد با در نظر گرفتن خطر بزرگ مقاومت آنتی‌بیوتیکی و این نکته که روزی خواهد رسید که بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها دیگر قادر به درمان بیماری‌ها نیستند و علاوه بر آن یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید نیز دشوار خواهد بود و همچنین با بررسی تأثیرات جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها، بشر مجبور است راهی تازه برای درمان بیماری‌های باکتریایی و جلوگیری از فاجعه انسانی در آینده، پیدا کند. در این بین، باکتریوفاژها که گونه‌ای از ویروس‌ها هستند که قادرند بی‌هیچ ضرری و با خاصیت انتخاب پذیری بالا، باکتری‌های هدف خود را نابود کنند، می‌توانند



- 3- Perepanova, Darbeeva T.OS, Kotliarova GA, Kondrateva EM, Maiskala LM, Malysheva V.F, Baiguzina FA , Grishkova NV. The efficacy of bacteriophage preparations in treating inflammatory urologic diseases. *Urol. Nefrol.* 1995; 5:14-17.
- 4- Waldor MK, Friedman DI, Adhya SL. Phages: their role in bacterial pathogenesis and biotechnology. ASM Press. Washington D.C; 2005
- 5- BeheshtiMaal K, Bouzari M, Arbabzadeh Zavareh F. Characterization of two lytic bacteriophages of *Streptococcus sobrinus* isolated from Caspian sea. *Asian J Biology Sci.* 2012; 5:138–47.
- 6- Sulakvelidze A, Kutter E. Bacteriophage Therapy in Humans. *Bacteriophages: Biology and Applications.* CRC Press, Boca Ratan FL. 2005; 381-436
- 7- Eiserling FA, Fraenkel-Conrat H, Wagner RR. Bacteriophage structure in comprehensive virology. Plenum Press, New York. 1979; 13: 543
- 8- Hershey AD, Chase M. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of Gen Physiol.* 1952; 36(1):39-56.
- 9- Ptashne M. Isolation of lambda phage repressor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1976; 57(2):306-13.
- 10- Beaudoin R.N, DeCesaro D.R, Durkee D.L, Barbaro S.E. Isolation of a bacteriophage from sewage sludge and characterization of its bacterial host cell, *River academic journal*, 2007; 3(1)
- 11- Zhao S, Maurer JJ, Hubert S, DeVillena JF, McDermott PF, Meng J, Ayers S. et al. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Vet Microbiol* 2005; 107; 215–224. A.
- 12- Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor New York.* 2001
- 13- Sílvio B Santos, Carla M Carvalho, Sanna Sillankorva, Ana Nicolau, Eugénio C Ferreira and Joana Azeredo. The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double layer agar technique, *journal of BMC Microbiology.* 2009; 9:148



- 14- Steele PRM. Morphological manifestations of freezing and thawing injury in bacteriophage T4Bo.J. Hyg. 1971; 77: 119.
- 15- Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet Res 2001; 32; 201–225.
- 16- Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers. Poult Sci 2004; 83, 1944–1947.
- 17- Levy SB. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2002; 49, 25–30.
- 18- De Francesco MA, Giuseppe R, Laura P, Riccardo N, Nin M. Urinary tract infections in Brescia, Italy: Etiology of uro pathogens and antimicrobial resistance of common uro pathogens. Med Sci Moni. 2007;13(6):136-144
- 19- Raghu HV, Gaare M, Manjunatha BM, Mishra S, Sawale P. Beneficial face of bacteriophages: Applications in food processing. International Journal for Quality research. 2012; 6(2):101-108.
- 20- Hantula J, Kurki A, Vuoriranta P, Bamford D.H. Ecology of bacteriophages infecting activated sludge bacteria. Applied Environmental Microbiology. 1991; 57(8):2147–51.
- 21- Hertwig S, Popp A, Freytag B, Lurz R, Appel B. Generalized transduction of small Yersinia enterocolitica plasmids. Applied Environmental Microbiology. 1999; 65(9):3862–6.
- 22- Khan MA, Satoh H, Mino T, Katayama H, Kurisu F, Matsuo T. Bacteriophage-host interaction in the enhanced biological phosphate removing activated sludge system. Water Science Technology. 2002; 46(1-2):39–43.
- 23- Borrego JJ, Morínigo MA, De Vicente A, Cornax R, Romero P. Coliphages as an indicator of faecal pollution in water. Its relationship with indicator and pathogenic microorganisms. Water Res. 1987; 21(12):1473–80.
- 24- Abdulla H, Khafagi I, El-Kareem M.A, Dewedar A. Bacteriophages in Engineered Wetland for Domestic Wastewater Treatment. Research Journal Microbiology. 2007; 2(12):889–99.



- 25- Zumstein E, Moletta R, Godon J.J. Examination of two years of community dynamics in an anaerobic bioreactor using fluorescence polymerase chain reaction (PCR) single-strand conformation polymorphism analysis. *Environmental Microbiology*.2000; 2(1):69–78.
- 26- Periasamy D, Sundaram A. A novel approach for pathogen reduction in wastewater treatment. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*.2013; 11(1):12.

Archive of SID



Isolating E.Coli Bacteriophage from Raw Sewage and Determining its Selectivity to the Host Cell

Imeni SM (M.Sc)¹, Akhavan Sepahi A (Ph.D)², Soltan Dallal MM (Ph.D)³

1. M.Sc, Department of Chemical engineering, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Associate Professor, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Corresponding Author: Professor of Food Microbiology, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Bacteriophages are viruses that infect and destroy prokaryote cells, specifically the bacteria. They act too selective, so as each bacteriophage affects only on specific type of bacteria. Due to their specific features, bacteriophages can be used as an appropriate substitute for antibiotics in infectious diseases treatment. Therefore, this study aimed to isolate E. coli-specific bacteriophage from raw sewage.

Methods: Eight samples of raw sewage, each containing approximately 50 ml of raw sewage with 10 minute gap, were prepared from Zargandeh wastewater treatment plant, Tehran, Iran. The sewages were mixed with Brain-heart infusion medium (BHI) as a liquid culture medium in order to let the microorganisms grow. Incubation, purification and determination of bacteria were followed repeatedly to isolate the bacteriophage. Then it was tested on E.coli (ATCC 25922), Enterococcus faecalis (ATCC 19433), Staphylococcus aureus (ATCC 2392), and Yersinia enterocolitica (ATCC 9610) in order to determine the bacteriophage selectivity.

Results: The E.coli bacteriophages were successfully isolated from all the eight samples, that were completely able to lyse and destroy E.coli bacterial cells, though no effect was observed on other types of bacteria.

Conclusion: The study findings revealed that bacteriophages act selectively. Considering the raise of antibiotic resistance in the world, bacteriophages can serve as a good substitute for antibiotics in treating infectious diseases.

Keywords: Antibiotics, Bacteriophage, E.coli, Sewage