

تصميم مزيج واسع الطيف من العاثيات للتغلب على الزوائف الزنجارية المتعددة، الشديدة
وشاملة المقاومة للمضادات الحيوية

**Design of a Broad-Range Bacteriophage Cocktail to overcome MDR, XDR
and PDR *Pseudomonas aeruginosa***

م.د. مروان محمود صالح أ.م.د. زهراء كامل زيدان أ.م.د. مجيد ارشيد سباح

كلية العلوم التطبيقية-جامعة الانبار كلية التقنيات الاحيائية- جامعة النهريين مركز الدنا العدلي- جامعة النهريين

majeedbio@gmail.com zahraa.alfahad@yahoo.com ah.marwan_bio@uoanbar.edu.iq

07704281929

07706096253

07810844884

تصميم مزيج واسع الطيف من العاثيات للتغلب على الزوائف الزنجارية المتعددة، الشديدة وشاملة المقاومة للمضادات الحيوية

الموجز: يتطلب الانتشار المثير للقلق للسلاسل البكتيرية المقاومة للأدوية المتعددة (MDR) إجراء دراسات حول العلاجات غير المضادات الحيوية. من بين هذه العلاجات العاثيات، يعد استخدام العاثيات كعوامل مضادة للميكروبات غير تقليدية ، فالعلاج بالعاثيات، استراتيجية علاجية واعدة مدعومة بنتائج العلاجات الناجحة الحديثة في أوروبا والولايات المتحدة. تبحث الدراسة الحالية في الفعالية التحليلية لمزيج العاثيات في المختبر ، وتحديدًا ضد مقاومة الأدوية المتعددة (MDR) ، ومقاومة الأدوية على نطاق واسع (XDR) ومقاومة الأدوية الشاملة *P. aeruginosa* (PDR) المعزولة من إصابات مختلفة. في هذا العمل ، قمنا بدمج بين النطاق الواسع للعاثي ضد العزلات البكتيرية والمعلومات الجينومية لتصميم كوكتيل (خليط) مكون من 3 عاثيات قتلت عدة عزلات مرضية من *Pseudomonas aeruginos*. أظهرت العزلات (114 عذلة) حساسية متفاوتة للمضادات الحيوية ضد 13 مضاد حيوي. تم عزل كوكتيل (مزيج) العاثي باستخدام تقنية اغناء العاثي. تم الحصول على محلول عاثي عالي العيارية ($109 * 5 \text{ pfu / ml}$) وفحصها مقابل 114 عذلة من *P. aeruginosa* أظهر مزيج العاثي خصوصية عالية لـ *P. aeruginosa* ولكن قابلية متغيرة لـ 114 عذلة. لقد أظهرت النتائج أن الكوكتيل المكون من ثلاث عاثيات وسميت MMS1 و MMS2 و MMS3 كان قادرًا على تحليل *P. aeruginosa* في كل من مزارع العوائل السائلة وفي التطبيق. أشار اختبار الخصائص البيولوجية إلى أن عاثيات كوكتيل MMS مستقرة بين 4 و 50 درجة مئوية ودرجة الحموضة 4-9. يُظهر منحنى النمو بخطوة واحدة أن الفترة الكامنة لـ MMS كانت 15 دقيقة ، وكانت فترة انحلال المضيف حوالي 18 دقيقة بحجم حوالي 265 عاثي لكل خلية مضيفة. تم عمل تسلسل الجينوم الكامل للعاثي MMS3 حيث لا يحتوي على عوامل ضراوة بكتيرية يمكن تحديدها أو جينات مقاومة للمضادات الحيوية. جينوم Phage MMS3 عبارة عن DNA خطي مزدوج الشريط بحجم 72,747 زوج قاعدي ومحتوى GC بنسبة 54.9%. أظهرت عزلات XDR و PDR حساسية تجاه كوكتيل العاثيات ، والذي يمثل بديلاً واعدًا للمضادات الحيوية التي لا تؤثر على مقاومة المضادات الحيوية المتزايدة ، مما يشير إلى أنه يمكن تنفيذها في إطار تطوير علاجات العاثي الشخصية.

Design of a Broad-Range Bacteriophage Cocktail to overcome MDR, XDR and PDR *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract: The alarming diffusion of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains requires investigations on nonantibiotic therapies. Among such therapies, the use of bacteriophages (phages) as nontraditional antimicrobial agents, namely, phage therapy, is a promising treatment strategy supported by the findings of recent successful compassionate treatments in Europe and the United States. The current study investigates the lytic efficacy of phage-cocktail in vitro, specifically against multidrug resistance (MDR), extensively drug resistance (XDR) and pan-drug resistance (PDR) *P. aeruginosa* isolated from different infections. In this work, we combined host range and genomic information to design a 3-phage cocktail killing several clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and analyzed the cocktail performance. The isolates (114) exhibited variant antibiotic susceptibility against 13 antibiotics. A bacteriophage cocktail was isolated using a phage-enrichment technique; high titer phage lysate (5×10^9 pfu/ml) was obtained and investigated against 114 *P. aeruginosa* isolates. The phage-cocktail showed high specificity to *P. aeruginosa* but variable susceptibility to 114 isolates. We demonstrated that the cocktail composed of three phages named (MMS1, MMS2 and MMS3) was able to lyse *P. aeruginosa* both in planktonic liquid cultures and in plate. The biological properties testing indicated that MMS cocktail phages are stable between 4 and 50 °C and pH 4–9. The one-step growth curve shows that the latent period of MMS was 15 min, and the burst period was about 18 min by the size of approximately 265 progeny phages per host cell. MMS3 phage has been sequenced and contains no identifiable bacterial virulence or antibiotic resistance genes. The genome of phage MMS3 is linear double-stranded DNA with a size of 72,747 bp and a GC content of 54.9%. Significantly, XDR and PDR isolates exhibited sensitivity to phage-cocktail, which represents a promising alternative to antibiotics that do not affect with increasing antibiotic resistance, suggesting that it could be implemented in the frame of developing personalized phage therapies