

# کاربرد باکتریوفاژها در کنترل باکتری‌های عامل خوردگی و بیوفیلم آن‌ها در سیستم‌های آبی

روحا کسرای کرمانشاهی<sup>۱\*</sup>، نیره علی‌مددی<sup>۲</sup>، ابراهیم حشمت‌دهکردی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> انجمن خوردگی ایران، تهران، ایران

## اطلاعات مقاله



### واژه‌های کلیدی:

باکتری‌ها،  
بیوفیلم،  
خوردگی میکروبی،  
فاژهای تغییر یافته ژنتیکی،  
کنترل زیستی

### Keywords:

Bacteria,  
Biofilm,  
Microbially influenced  
corrosion,  
Genetically modified  
phages,  
Biocontrol

دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹

نوع مقاله: مروری

## چکیده

خوردگی تحت تأثیر میکروب‌ها نتیجه برهم‌کنش پیچیده گونه‌های گوناگون میکروارگانیسم‌ها، به‌ویژه در قالب بیوفیلم‌ها است که در محیط‌های آبی از جمله سیستم‌های مهندسی شده مانند سامانه‌های آب آشامیدنی و فاضلاب به‌وجود می‌آیند. پایداری بیوفیلم‌ها در برابر بیوسایدها و سایر روش‌های متداول، چالش اصلی در مدیریت مؤثر خوردگی زیستی محسوب می‌شود. از این رو مطالعه حاضر به بررسی کاربرد باکتریوفاژها به‌عنوان یک روش زیستی نوین و اختصاصی برای مقابله با باکتری‌های خورنده و حذف بیوفیلم آن‌ها و چالش‌ها، راهکارها و چشم‌اندازهای آینده آن می‌پردازد. یافته‌ها نشان می‌دهد که فاژها از طریق لیز انتخابی سلول‌های باکتری، تولید آنزیم‌هایی نظیر دپلمراز و اندولیزین و تداخل در سامانه‌های کوئروم سنسینگ، قادر به تخریب ساختار بیوفیلم هستند. ویژگی‌هایی چون زیست‌سازگاری، خودتقویتی در محل، قابلیت مهندسی ژنتیکی و سازگاری با روش‌های فیزیکی و شیمیایی، موقعیت ویژه‌ای برای فاژها در کنترل خوردگی فراهم کرده‌اند. راهکارهایی مانند استفاده از فاژهای چندظرفیتی، فاژهای تغییر یافته ژنتیکی، مخلوطی از فاژها، فاژهای پوشش‌دار یا تثبیت‌شده، همچنین تیمار ترکیبی با روش‌های شیمیایی و فیزیکی و نانوذرات، به‌عنوان رویکردهای تقویت‌کننده اثربخشی مطرح شده‌اند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از باکتریوفاژها، به‌ویژه در قالب درمان‌های ترکیبی و هدفمند، می‌تواند به‌عنوان جایگزین یا مکمل روش‌های سنتی، در مدیریت خوردگی زیستی و حفظ پایداری سیستم‌های آبی طبیعی و صنعتی ایفای نقش کند. ایجاد زیرساخت‌های تولید صنعتی، استانداردسازی روش‌های کاربردی و تدوین چارچوب‌های نظارتی برای ارزیابی ایمنی زیستی و اثرات زیست‌محیطی، از جمله نیازهای حیاتی برای عبور از مرحله تحقیقاتی به بهره‌برداری صنعتی می‌باشد. اگرچه تحقیقات زیادی پیش از تجاری شدن و کاربرد گسترده از فناوری فاژ می‌بایست تکمیل شود، آینده این روش‌ها بسیار امیدوارکننده به نظر می‌رسد.

+E-mail: rkasra@yahoo.com

\* عهده‌دار مکاتبات

رجاع: روحا کسرای کرمانشاهی، نیره علی‌مددی، ابراهیم حشمت‌دهکردی، کاربرد باکتریوفاژها در کنترل باکتری‌های عامل خوردگی و بیوفیلم آن‌ها در سیستم‌های آبی، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۲) ۴۴: ۹۱ تا ۱۱۱ (۱۴۰۴).

## مقدمه

خوردگی عبارت است از واکنش بین ماده (عمدتاً فلز) و محیط خورنده که منجر به تخریب ماده و محیط می‌گردد. ریشه واژه خوردگی از کلمه لاتین Corrodere به معنی تحلیل رفتن می‌باشد. به همین دلیل می‌توان واژه خوردگی را برای غیرفلزات مانند پلیمرها، شیشه، سرامیک و کامپوزیت‌ها و نیمه‌رساناها، پلاستیک و لاستیک‌ها به کار برد؛ اگرچه برای غیرفلزات واژگانی مانند تخریب<sup>۱</sup>، زوال<sup>۲</sup> و آسیب<sup>۳</sup> نیز استفاده می‌شود. برخلاف خوردگی‌های معمول که عمدتاً تحت تأثیر واکنش‌های الکتروشیمیایی قرار دارند، خوردگی میکروبی<sup>۴</sup> (MIC) پدیده‌ای چندوجهی است که در آن فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌ها نقش فعالی در تشدید و تسریع فرایند تخریب دارد [۱، ۲]. مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که بیش از ۲۰ درصد از هزینه‌های کلی خوردگی در برخی صنایع ناشی از خوردگی میکروبی است [۳].

مکانیسم‌های مؤثر در MIC به دو دسته کلی مستقیم و غیرمستقیم تقسیم می‌شوند. در مکانیسم‌های مستقیم، میکروارگانیسم‌ها مستقیماً در واکنش‌های الکتروشیمیایی خوردگی مشارکت دارند. تولید متابولیت‌های خورنده مانند سولفید هیدروژن، اسیدهای آلی و آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌ها، منجر به ایجاد محیط‌های موضعی خورنده و تسریع انحلال فلزات می‌شود. همچنین برخی میکروارگانیسم‌ها الکترون‌ها را از فلز برای تنفس و تولید انرژی برداشت می‌کنند. به‌عنوان مثال، باکتری‌های احیاکننده سولفات<sup>۵</sup> (SRB) با مصرف هیدروژن مولکولی حاصل از واکنش‌های کاتدی، باعث کاهش پلاریزاسیون کاتدی و افزایش نرخ خوردگی می‌شوند [۴، ۵]. در مکانیسم‌های غیرمستقیم، میکروارگانیسم‌ها مستقیماً در واکنش‌های خوردگی دخیل نیستند، اما با تغییر در شرایط محیطی مانند کاهش اکسیژن، تغییر pH یا تشکیل رسوبات یا بیوفیلم (زیست لایه)، زمینه‌ساز شروع یا تسریع فرایند خوردگی می‌شوند [۴]. برای مثال، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* که در بسیاری از محیط‌های طبیعی و صنعتی یافت می‌شود، به دلیل توانایی بالا در تشکیل بیوفیلم می‌تواند منجر به شروع MIC شود [۶]. باکتری‌های عامل خوردگی شامل گروه‌های فیزیولوژیکی گوناگونی مانند SRB، باکتری‌های تولیدکننده اسید<sup>۶</sup> (APB)، باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد<sup>۷</sup> (SOB)، باکتری‌های احیاکننده آهن<sup>۸</sup> (IRB)، باکتری‌های اکسیدکننده آهن<sup>۹</sup> (IOB)، باکتری‌های مولد سولفید غیر SRB<sup>۱۰</sup> (SPB)، باکتری‌های احیاکننده نیترات<sup>۱۱</sup> (NRB) و باکتری‌های هتروتروف می‌باشند [۳]. هر یک از این گروه‌ها بسته به شرایط محیطی و جنس سطح،

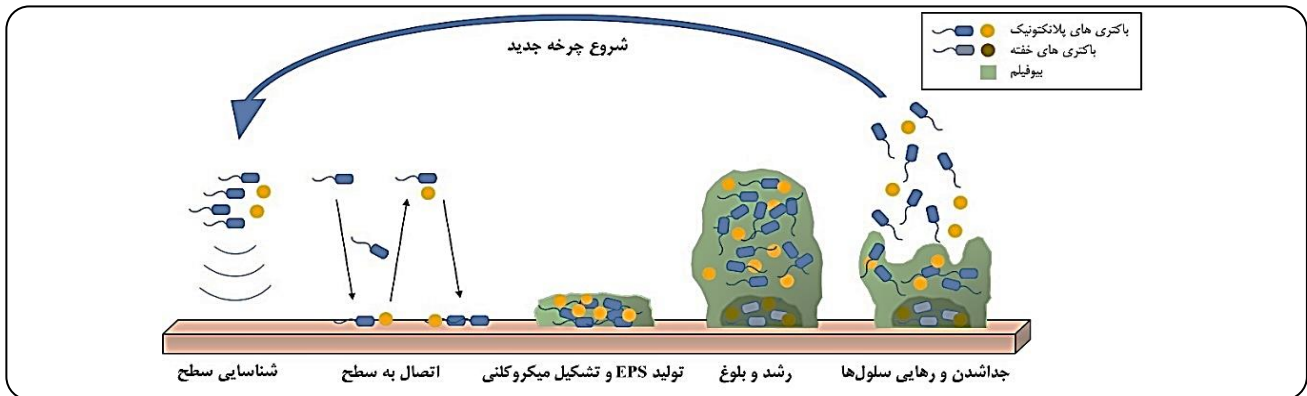
نقش مؤثری در شروع، گسترش و پایداری MIC ایفا می‌کنند [۳، ۷]. مهم‌ترین عامل در پایداری و تشدید MIC، تشکیل بیوفیلم‌های متراکم بر روی سطح است که با ایجاد ریزمحیط‌هایی با ویژگی‌های شیمیایی خاص، فرآیندهای خوردگی را تسریع می‌کنند. بیوفیلم‌ها با ساختاری از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک، میکروارگانیسم‌ها را در برابر عوامل بازدارنده و تنش‌های محیطی محافظت کرده و موجب ایجاد گرادیان‌های اکسیژن، تجمع متابولیت‌های خورنده و کاهش نفوذ مواد مهارکننده خوردگی می‌شوند. این ویژگی‌ها موجب تسهیل در شکل‌گیری سلول‌های خوردگی موضعی<sup>۱۲</sup> و ناپایداری پتانسیل‌های الکتروشیمیایی سطح فلز می‌شوند [۴].

خوردگی میکروبی یکی از جدی‌ترین تهدیدات برای زیرساخت‌های آبی در صنایع گوناگون به ویژه صنایع برق، نفت و گاز، صنایع آب و فاضلاب، نیروگاه‌های هسته‌ای، صنایع هواپیماسازی، کشتیرانی و صنایع فلزکاری است [۱۰-۸]. در سیستم‌های آبی، از جمله خطوط لوله، برج‌های خنک‌کننده، مخازن ذخیره، تأسیسات تصفیه، سامانه‌های آبرسانی، تأسیسات دریایی و سازه‌های مرطوب زیرزمینی، وجود رطوبت، ترکیبات مغذی، دما و شرایط بی‌اکسیژن موضعی، شرایط بسیار مساعدی برای ایجاد و پایداری خوردگی میکروبی فراهم می‌کند. این پدیده منجر به تخریب شدید موضعی، کاهش عمر مفید تجهیزات، افزایش هزینه‌های نگهداری و تعمیرات، اختلال در عملکرد هیدرولیکی، کاهش بهره‌وری صنعتی و حتی تهدیدات زیست‌محیطی و بهداشتی می‌شود. در سیستم‌های آبی که با مواد شیمیایی یا آلاینده‌ها در تماس هستند (مانند تصفیه‌خانه‌های پساب صنعتی یا پالایشگاه‌ها)، سوراخ‌شدگی ناشی از خوردگی میکروبی می‌تواند منجر به نشتی مواد خطرناک به محیط‌زیست شده و تهدیدی برای منابع آب و سلامت عمومی باشد. در سیستم‌های توزیع آب شهری، خوردگی می‌تواند موجب رشد باکتری‌های بیماری‌زا درون بیوفیلم و حتی آلودگی ثانویه آب شود. با توجه به این اثرات گسترده، توسعه راهکارهای مؤثر برای پیشگیری و کنترل MIC در سیستم‌های آبی از اهمیت بالایی برخوردار است. [۱۱].

با وجود کاربرد گسترده روش‌های شیمیایی و فیزیکی در کنترل MIC، این روش‌ها با محدودیت‌هایی از جمله اثر غیرهدفمند، سمیت زیست‌محیطی، پایداری پایین، توسعه مقاومت میکروبی و تأثیر کم بر مقابله با بیوفیلم‌ها مواجه می‌باشند. در این راستا، بهره‌گیری از راهکارهای نوین زیستی، به‌ویژه استفاده از باکتریوفاژها، به‌عنوان یکی از گزینه‌های نویدبخش برای کنترل پایدار

(۱) Destruction  
(۳) Deterioration  
(۵) Sulfate Reducing Bacteria  
(۷) Sulfur Oxidizing Bacteria  
(۹) Iron Oxidizing Bacteria  
(۱۱) Nitrate Reducing Bacteria

(۲) Degradation  
(۴) Microbially Influenced Corrosion  
(۶) Acid Producing Bacteria  
(۸) Iron Reducing Bacteria  
(۱۰) Sulfide Producing Bacteria  
(۱۲) Differential Aeration Cells



شکل ۱- مراحل تشکیل بیوفیلم [۱۷].

تشکیل می‌شود و سازگاری مهمی برای بقای میکروارگانیسم‌ها در چنین شرایطی می‌باشد [۱۸]. فاکتورهایی که در تشکیل و گسترش بیوفیلم شرکت دارند عبارتند از: جنس سطح ماده، زبری یا صیقلی بودن سطح، شدت جریان آب، دما، محدودیت دسترسی به آب و مواد غذایی و سیستم احساس حدنصاب تراکم جمعیت یا کوئروم سنسینگ<sup>۲</sup> (QS) [۱۹، ۲۰]. یکی از شرایط تشکیل بیوفیلم میزان در دسترس بودن آب می‌باشد که به آن فعالیت آب ( $a_w$ ) نیز گفته می‌شود و مقادیر آن از صفر تا یک متفاوت می‌باشد. برای رشد میکروبی محدوده فعالیت آب برابر با ۰/۶ تا ۰/۹۹۸ می‌باشد. باکتری‌ها برای رشد علاوه بر آب، به کربن، ازت، فسفر، گوگرد و سایر عناصر کمیاب نیاز دارند [۲۱]. رشد باکتری‌های عامل خوردگی بر روی فلزاتی که در معرض آب دریا، آب شیرین، آب تقطیر شده/ کانی‌زدایی شده، سوخت هیدروکربنی خام و فرآورده‌های تقطیری آن، مواد غذایی خاک، پلاسمای انسان و فاضلاب قرار داشتند، به اثبات رسیده است. نود درصد یا بیشتر از همه میکروارگانیسم‌ها در بیوفیلم‌ها زندگی می‌کنند، در حالی که تنها حدود ده درصد آن‌ها آزادانه در ستون آب شنا می‌کنند [۱۱].

تشکیل بیوفیلم تحت کنترل عوامل ژنتیکی و سیستم‌های پیام‌رسانی گوناگون می‌باشد. یکی از این عوامل تنظیمی مؤثر که تحت تأثیر جمعیت باکتری‌ها فعالیت می‌کند، سیستم احساس حدنصاب تراکم جمعیت یا کوئروم سنسینگ (QS) است که نوعی ارتباط علامت‌دهی سلول به سلول می‌باشد. بیان ژن‌های مرتبط با بیوفیلم تحت تأثیر پدیده QS می‌باشند و QS در تشکیل، سازگاری و بقای بیوفیلم نقش مهمی دارد [۱۸]. کوئروم سنسینگ از عوامل سازگاری باکتری با محیط اطراف خود می‌باشد. باکتری‌ها توسط مولکول‌های شیمیایی علامت‌دهنده می‌توانند حضور سایر باکتری‌های مشابه خود را در محیط اطراف ردیابی و احساس کنند و زمانی که تعدادشان به حدنصاب تراکم جمعیت مورد نظر رسید، با تغییر بیان در ژن‌ها، به صورت گروهی رفتارهای خاصی را فقط هنگامی که به صورت یک اجتماع هستند، از خودشان بروز دهند. بنابراین کوئروم سنسینگ

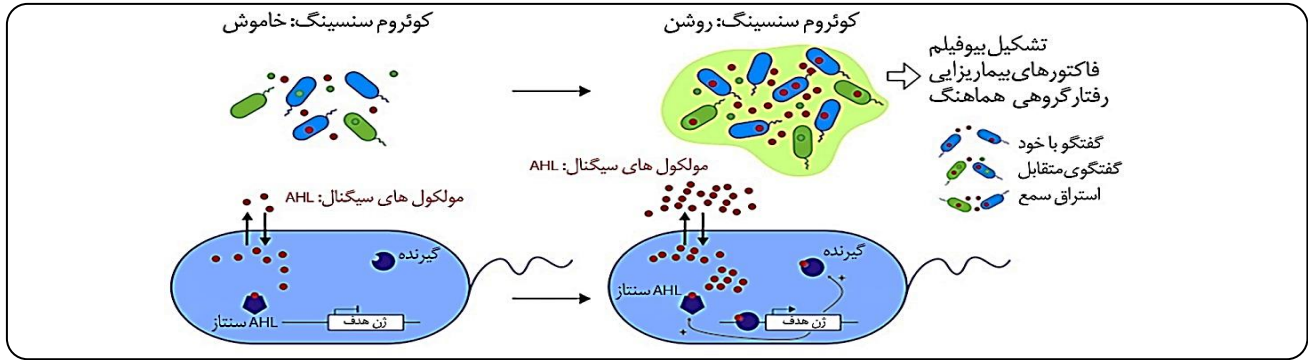
و هدفمند MIC مطرح شده است. این مقاله با هدف بررسی علمی این رویکرد زیستی، به تحلیل مزایا، چالش‌ها و چشم‌اندازهای کاربرد باکتریوفازها در کنترل MIC می‌پردازد.

### بیوفیلم و نقش آن در خوردگی میکروبی

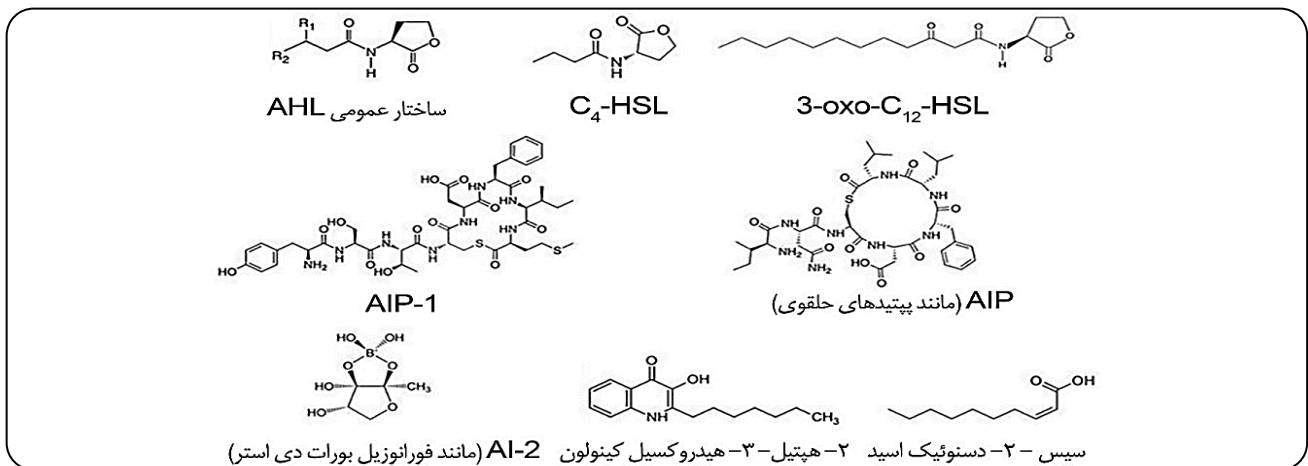
بیوفیلم تجمعی از سلول‌های میکروبی می‌باشد که به طور غیرقابل بازگشت به یک سطح متصل شده و در یک بستر (ماتریکس) متشکل از مواد پلیمری خارج سلولی<sup>۱</sup> (EPS) احاطه شده‌اند. سلول‌های وابسته به بیوفیلم، از لحاظ ژن‌هایی که رونویسی و بیان می‌کنند، از سلول‌های شناور (پلانکتونیک) متمایز هستند. بیوفیلم‌ها می‌توانند روی انواع گوناگونی از سطوح از جمله بافت‌های زنده، ابزارهای لوازم پزشکی قرار داده شده در بدن (ایمپلنت‌ها)، لنزهای چشمی، سیستم لوله‌کشی آبی مانند آب آشامیدنی یا صنعتی، سیستم‌های خنک‌کننده و یا سیستم آب طبیعی تشکیل شوند [۱۳-۱۲]. تشکیل بیوفیلم مستلزم اتصال باکتری‌ها به سطح و تشکیل میکروکلنی‌ها به دنبال آن می‌باشد که در ۳ تا ۵ لایه پس از اتصال باکتری‌ها به سطح توسعه می‌یابد. این میکروکلنی‌ها سپس با تولید EPS به ساختار بیوفیلم بالغ توسعه پیدا می‌کنند و در نهایت سلول‌ها مجدداً از بیوفیلم جدا شده و در محیط مایع رها می‌شوند (شکل ۱). تولید ساختارهای اتصال روی سطح مانند پیلی و نیز تولید EPS که ساختار غالب ایجادکننده میانگش قوی بین سلول با سلول هستند، برای تشکیل بیوفیلم مورد نیاز می‌باشند. ماتریکس می‌تواند حاوی پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها، تیکوئیک اسید، اسیدهای نوکلئیک و سایر مواد پلیمری هیدراته دارای ۸۵ تا ۹۵ درصد آب باشد. چنین ماتریکسی با حفظ آب، جمع‌آوری مواد غذایی و به دام انداختن فلزات و سموم و جلوگیری از دسترسی بیوسایدها و مواد شیمیایی مضر از ساکنین بیوفیلم محافظت می‌کند [۱۷-۱۵]. بیوفیلم در مقابله با تنش‌های محیطی مانند پرتوی فرابنفش، تغییرات pH، کمبود آب و مواد غذایی، شوک اسمزی یا مواد سمی توسط میکروارگانیسم‌ها

(۱) Extracellular Polymeric Substances

(۲) Quorum Sensing



شکل ۲- مکانیسم و نقش کوثروم سنسینگ در باکتری‌ها [۲۲].



شکل ۳- ساختار شیمیایی انواع مولکول خودالقاگر در سیستم کوثروم سنسینگ [۲۳].

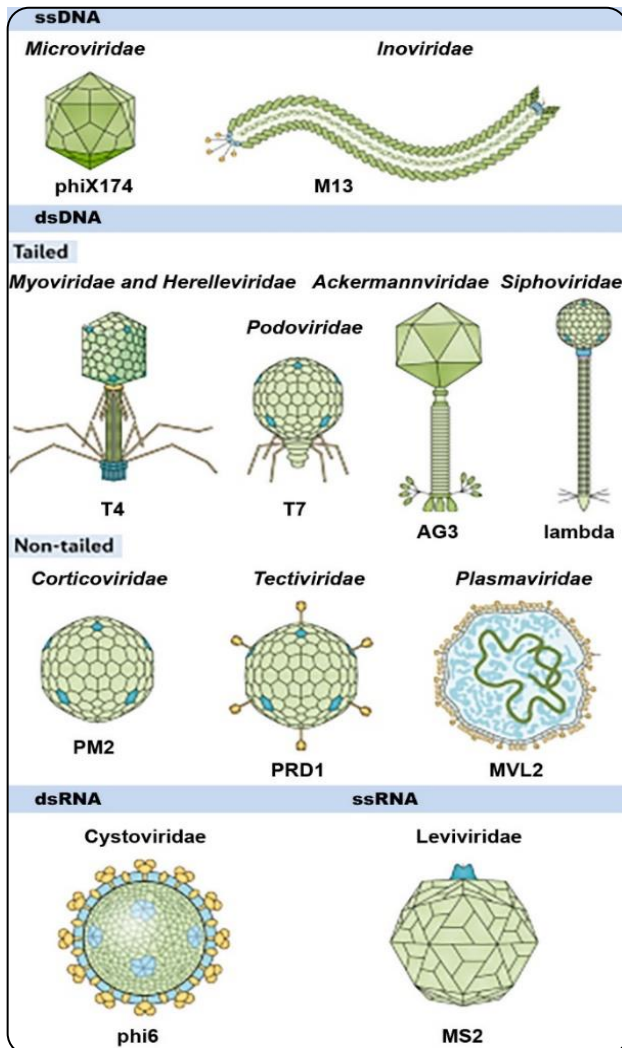
گرم مثبت علائم QS غالباً الیگوپپتیدی<sup>۳</sup> (AIP) می‌باشند [۲۲، ۱۸]. ساختار شیمیایی انواعی از خودالقاگرها در شکل ۳ نمایش داده شده است. بیوفیلم‌ها در مکان‌هایی یافت می‌شوند که آب انباشته می‌شود یا به مدت طولانی آب به شکل راکد باقی می‌ماند تا بتواند یک محیط مناسب برای رشد را ایجاد کند. در این شرایط میکروارگانیسم‌ها می‌توانند به طور غیرقابل برگشت به هم وصل شده و بیوفیلم تشکیل دهند. تراکم سلولی بالا و تنوع میکروبی بیوفیلم منجر به تجمع محصولات نهایی متابولیکی از قبیل اسیدهای آلی، CO<sub>2</sub> و H<sub>2</sub>S می‌شود که می‌تواند منجر به ایجاد ریزمحیط‌های گوناگون با شرایط متفاوت زیستی قابل توجهی در داخل و در زیر بیوفیلم‌ها گردد. برخی از این محصولات نهایی متابولیکی به عنوان ماده اولیه برای رشد و تکثیر گونه‌های میکروبی دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین، یک رابطه همزیستی بین جوامع میکروبی برقرار می‌شود که تنوع میکروبی را افزایش می‌دهد [۲۴]. تأثیر بیوفیلم‌ها بر روی یک ماده بسته به غلظت، جذب، بار و ساختار سه‌بعدی هر جزء EPS می‌تواند مثبت یا منفی باشد اما در این مقاله جنبه منفی مورد نظر می‌باشد [۲۵]. ریزمحیط درون بیوفیلم‌ها از طریق مسیرهای متنوعی مانند ایجاد

به باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که مانند ارگانیسم‌های چندسلولی عمل نمایند. فعالیت‌های فیزیولوژیک تحت کنترل QS مانند همزیستی، تشکیل بیوفیلم، بیان فاکتورهای ویروانس، اسپورزایی، تولید آنتی‌بیوتیک، حرکت، مستعد شدن برای لقاح بوده و در حقیقت QS یک مرحله اولیه از تکامل چندسلولی می‌باشد. مولکول علامت‌دهنده تولید شده، شبه هورمون، خودالقاگر<sup>۱</sup> (AI) یا فرمون گفته می‌شود. AIها مولکول‌های سیگنال‌دهنده قابل انتشار کوچکی هستند که توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند و به محض رسیدن به آستانه غلظت توسط گیرنده‌ها شناسایی می‌شوند. با افزایش تراکم سلولی، غلظت مولکول‌های خودالقاگر نیز افزایش یافته و پس از رسیدن به آستانه معین، مسیری برای تنظیم بیان ژن‌های خاص فعال می‌شوند (شکل ۲). رایج‌ترین خودالقاگر در باکتری‌های گرم منفی آسیل هوموسرین لاکتون<sup>۲</sup> (AHL) می‌باشد که مولکول‌های کوچکی متشکل از یک واحد آسیل ۱۴-۴ کربنه متصل به یک هوموسرین از طریق پیوند آمیدی می‌باشد و با افزایش غلظت این مولکول (AHL)، آن‌ها به گیرنده پروتئینی خاصی در سلول متصل شده و موجب القای رونویسی ژن‌های بحرانی می‌گردند. این مولکول‌ها موجب افزایش بیان خود هم می‌شوند. در باکتری‌های

(۱) Autoinducer

(۳) Autoinducer Peptide

(۲) Acyl Homoserine Lactone



شکل ۴- طبقه‌بندی باکتریوفاژها بر اساس ژنوم آن‌ها [۳۱].

امکان حضور آن‌ها وجود دارد. باکتریوفاژها دارای بیشترین تعداد موجودات زنده در بیوسفر می‌باشند، یعنی حدود  $10^{31}$  باکتریوفاژ؛ اما فقط تعداد کمی از آن‌ها مورد شناسایی از نظر توالی ژنتیکی قرار گرفته‌اند و این امر نشان می‌دهد که برای تهیه نقشه ژنتیکی فاژها مشکلات زیادی وجود دارد [۲۹]. ژنوم فاژها با پوششی پروتئینی به نام کپسید محافظت می‌شود و انواع گوناگونی از فاژها بر حسب نوع ژنوم و ریخت‌شناسی کپسید وجود دارند (شکل ۴). فاژها به کمک امکانات سلول باکتری میزبان، پروتئین و دیگر مواد مورد نیاز برای رشد و تکثیر خود را تولید می‌کنند. فاژها گیرنده‌های خاصی را روی سطح سلول باکتری میزبان شناسایی می‌کنند. فاژهایی که توانایی آلوده کردن گونه‌ها یا سویه‌های باکتریایی خاص را دارند، فاژهای تک ظرفیتی<sup>۱</sup> و فاژهایی که قابلیت آلوده کردن طیف وسیع‌تری از باکتری‌ها از گونه‌ها یا حتی جنس‌های گوناگون را دارند، فاژهای چندظرفیتی<sup>۲</sup> نامیده می‌شوند [۳۰].

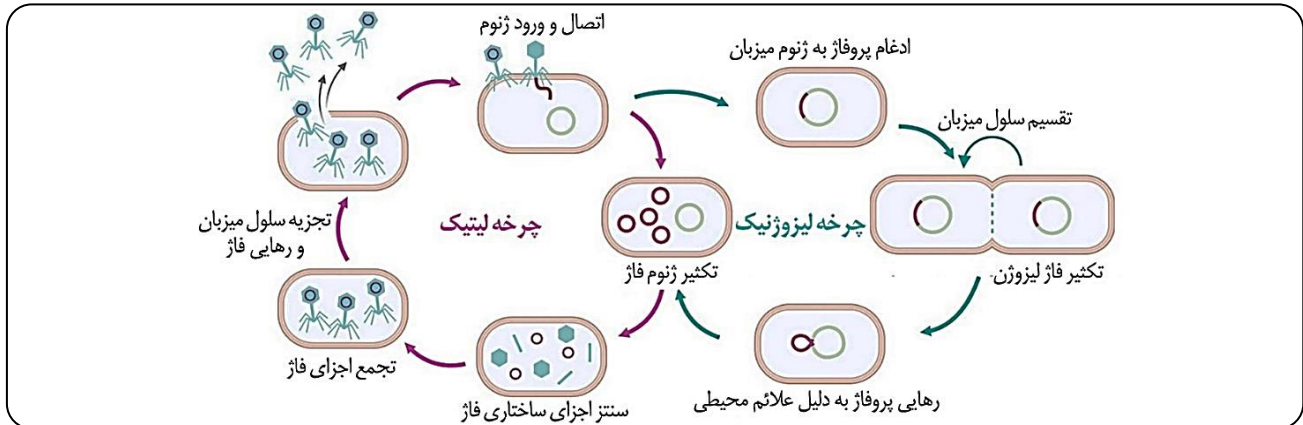
شیب غلظت اکسیژن، ایجاد ریزمنطقه‌های اسیدی، برهمکنش‌های EPS با یون‌های فلزی و تجمع آن‌ها، کاتالیز آنزیمی و تشکیل موانع فیزیکی، به طور قابل توجهی بر خوردگی فلزات تأثیر می‌گذارد [۶]. گرادیان‌های غلظت اکسیژن درون بیوفیلم‌ها، مناطق هوازی و بی‌هوازی متمایزی ایجاد می‌کنند که بر ساختار جامعه میکروبی تأثیر می‌گذارد و خوردگی فلز را از طریق واکنش‌های اکسایش-احیای افتراقی تسریع می‌کنند. ریزمنطقه‌های اسیدی که توسط تخمیر میکروبی درون بیوفیلم‌ها تشکیل می‌شوند، pH موضعی را کاهش می‌دهند و خوردگی فلز را از طریق انحلال آندی و تشکیل ترکیبات خورنده افزایش می‌دهند. مواد EPS در بیوفیلم‌ها با یون‌های فلزی تعامل دارند، کمپلکس‌هایی تشکیل می‌دهند و واکنش‌های اکسایش-احیا را که باعث خوردگی موضعی می‌شوند، تسهیل می‌کنند. متابولیت‌ها و آنزیم‌های درون بیوفیلم‌ها (مانند اکسیدازها) خوردگی فلز را از طریق مسیرهای بیوشیمیایی هدایت می‌کنند و بر ریخت‌شناسی خوردگی نیز تأثیر می‌گذارند. حامل‌های الکترون درون بیوفیلم‌ها، از جمله سیتوکروم‌ها و فلاوین‌ها، به عنوان واسطه انتقال الکترون بین میکروارگانیزم‌ها و سطوح فلزی عمل می‌کنند. این برهمکنش‌های پیچیده می‌توانند سرعت خوردگی فلز را تسریع کرده و تنوع و غیرقابل پیش‌بینی بودن مسیرهای خوردگی را افزایش دهند [۲۶،۶]. سیستم‌های آبی یکی از محیط‌های صنعتی هستند که بیشتر تحت تأثیر بیوفیلم‌ها قرار می‌گیرند. سیستم‌های توزیع آب و سیستم‌های خنک‌کننده آب، مخازن، لوله‌ها و بیوراکتورها مکان‌های اصلی برای رشد بیوفیلم در بخش آب و فاضلاب هستند [۱۱]. تشکیل بیوفیلم در این نواحی می‌تواند منجر به خوردگی و پوسیدگی و آسیب تجهیزات، انسداد لوله‌ها، آلودگی میکروبی دائم آب و ایجاد طعم و بوی نامطبوع شود. بیوفیلم‌های تشکیل شده در این سیستم‌ها اغلب مخزنی برای باکتری‌های بیماری‌زا هستند [۲۷]. معمولاً به دلیل تحمل بالای بیوفیلم‌ها در برابر گندزدایی، گندزدایی شیمیایی برای حذف بیوفیلم‌ها کارآمد نیست. علاوه بر این، تیمارهای شیمیایی گونه‌های میکروبی آسیب‌پذیر را سرکوب می‌کنند و به گونه‌های مقاوم اجازه بقا می‌دهند. بنابراین، چرخه‌های تیمار مکرر معمولاً در کاهش بیوفیلم مورد نیاز است که این امر منجر به افزایش دوز مصرف مواد شیمیایی می‌شود و مشکلات زیست محیطی، هزینه‌های بالاتر و گاهی مشکلات عملیاتی را به دنبال دارد [۲۸،۱۷]. در مجموع، حضور بیوفیلم در سیستم‌های آبی نه تنها عامل اصلی شروع MIC محسوب می‌شود، بلکه با تثبیت و حفاظت باکتری‌های خورنده، موجب پایداری و مزمن شدن خوردگی می‌شود و حذف یا مهار آن به یکی از اهداف کلیدی راهبردهای نوین کنترل MIC تبدیل شده است.

## باکتریوفاژها

باکتریوفاژها (فاژها) ویروس‌هایی هستند که میزبان آن‌ها باکتری‌ها می‌باشند و در همه جا و در هر جایی که باکتری وجود داشته باشد،

(۱) Monovalent Phages

(۲) Polyvalent Phages



شکل ۵- چرخه زندگی باکتریوفاژهای لیتیک و لیزوژنیک [۳۵].

نفوذ کنند. انتشار فاژها به معماری و تراکم بیوفیلیم‌ها نیز بستگی دارد. فاژها همچنین می‌توانند به طور برگشت‌پذیر به ضمامم باکتری‌های متحرک متصل شوند تا به داخل بیوفیلیم نفوذ کنند. یکی از راه‌های محافظت باکتری‌ها در بیوفیلیم وجود EPS است که می‌تواند به عنوان یک سد عمل کرده و از باکتری‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و بیوسایدها محافظت کند. برخی از فاژها دارای آنزیم‌های دپلمراز<sup>۶</sup> هستند که سبب هیدرولیز EPS و رسیدن فاژ به لیپوبلی ساکارید<sup>۷</sup> (LPS) و پروتئین‌های غشای خارجی<sup>۸</sup> (OMP) که در سطح سلول‌های باکتریایی بوده و به عنوان گیرنده فاژ عمل می‌کنند، می‌شوند. برخی فاژها نیز تولید آنزیم‌های دپلمراز توسط سلول باکتری میزبان را القا می‌کنند. علاوه بر این، فاژهایی تغییر ژنتیکی داده شده می‌توانند آنزیم‌های تخریب‌کننده EPS را تولید کنند. با شکستن پیوندها و تخریب ماتریکس بیوفیلیم توسط آنزیم‌های دپلمراز، سلول‌های باکتری‌ها در معرض محیط قرار گرفته و دیگر مقاومت قبلی را نداشته و به آسانی توسط عوامل ضد میکروبی از بین می‌روند [۳۷-۳۵]. مکانیسم‌هایی که برای تجزیه ماتریکس بیوفیلیم توسط فاژها وجود دارد، متنوع می‌باشد؛ زیرا بیوفیلیم می‌تواند به علت داشتن گونه‌های گوناگون از باکتری‌ها دارای ماتریکس EPS گوناگونی باشد. با توجه به این که ماتریکس بیوفیلیم‌ها عمدتاً از پروتئین و پلی ساکارید ساخته شده است، پروتازها و آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی ساکاریدها دو گروه اصلی آنزیمی هستند که می‌توانند برای تخریب بیوفیلیم به کار روند. با این حال، این آنزیم‌ها در اثر شرایط محیطی مانند pH و دمای بالا یا غلظت نمک بالا تقلب شده و فعالیت آنزیمی آن‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین استفاده از فاژی که این آنزیم‌ها را سنتز می‌کند، می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای میزان تخریب EPS را افزایش دهد. برای بیوفیلیم‌هایی که از مخلوطی از باکتری‌ها تشکیل شده‌اند،

بر اساس چرخه زندگی، دو نوع فاژ وجود دارد: لیتیک<sup>۱</sup> و لیزوژنیک<sup>۲</sup> (شکل ۵). فاژهای لیتیک پس از تزریق ژنوم به سلول میزبان، ژنوم خود را تکثیر کرده و اجزای ساختاری خود را می‌سازند. سپس با تجزیه سلول میزبان به محیط رها می‌شوند. فاژهای لیزوژنیک (معتدل) ژنوم خود را در کروموزوم میزبان ادغام می‌کنند و به صورت پروفاژ داخل باکتری باقی می‌مانند. این فاژها در صورت وجود محرک‌های محیطی خاص می‌توانند وارد چرخه لیتیک شوند [۳۲]. فاژهای لیتیک از طریق تولید آنزیم‌های هولین<sup>۳</sup>، اندولیزین<sup>۴</sup> و اسپانین<sup>۵</sup> سلول میزبان را تجزیه کرده و از بین می‌برند. هولین‌ها منافذی در غشای سلولی ایجاد و ورود اندولیزین‌ها به پری پلاسم سلول باکتری را تسهیل می‌کنند. اندولیزین‌ها با هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی یا پپتیدی در پپتیدوگلیکان، دیواره سلولی باکتری را تخریب می‌کنند. اسپانین‌ها با ادغام غشای داخلی و خارجی در باکتری‌های گرم منفی، منافذی برای خروج فاژ از سلول فراهم می‌کنند [۳۳]. یک استراتژی کمتر رایج، رهاسازی مزمن است که در آن فاژهای حاصل در فواصل طولانی بدون لیز میزبان جمع شده و آزاد می‌شوند [۳۴]. اگرچه فقط فاژهای لیتیک به طور معمول برای اهداف کنترل زیستی قابل استفاده هستند، از فاژهای لیزوژنیک نیز می‌توان برای انتقال ژن‌ها برای حساس‌تر کردن باکتری‌ها به عوامل دیگر مانند آنتی‌بیوتیک‌ها بهره‌برداری کرد [۳۰].

## مکانیسم کنترل بیوفیلیم توسط فاژها

### نفوذ به بیوفیلیم

بیوفیلیم‌ها دارای ساختار غیریکنواخت بوده و منافذ و کانال‌های آب در بیوفیلیم هتروژن (غیریکنواخت) وجود دارد. فاژها می‌توانند از طریق منافذ و کانال‌های آب، منتشر شده و به لایه‌های داخلی بیوفیلیم

(۱) Lytic Phages

(۳) Holin

(۵) Spanin

(۷) Lipopolysaccharide

(۲) Lysogenic Phages

(۴) Endolysin

(۶) Depolymerase

(۸) Outer Membrane Protein

نسبت فاژ به میزبان<sup>۱</sup> (PHR) است. به عنوان مثال، اگر این نسبت ۱:۱۰ (فاژ: میزبان) باشد باعث یک Log کاهش سلول‌های زنده در بیوفیلم *P. aeruginosa* می‌شود؛ در حالی که نسبت ۱:۱۰۰۰ (میزبان: فاژ) باعث کاهش ده برابر بیشتر یعنی دو Log کاهش بعد از ۲۴ ساعت تیمار می‌شود [۴۲]. این امر در مورد بیوفیلم *E. coli* K12 نیز به اثبات رسیده است [۴۳].

### کاربرد فاژها در کنترل بیوفیلم و خوردگی

در سال‌های اخیر استفاده از فاژها به عنوان رویکردی زیستی برای مقابله با بیوفیلیم‌های مرتبط با خوردگی در سیستم‌های آبی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است، اما کاربرد آن در صنعت هنوز در بسیاری موارد در مرحله تحقیقاتی و نیمه‌صنعتی است. در ادامه به تحقیقات مرتبط در این حوزه پرداخته می‌شود.

باکتری‌های احیاکننده سولفات (SRB)، دسته‌ای از باکتری‌ها که سولفات، سولفیت یا تیوسولفات را احیا می‌کنند و در شرایط بی‌هوازی یا تا حدی بدون اکسیژن  $H_2S$  تولید می‌کنند که باعث خوردگی میکروبی و ترش شدن می‌شوند. این باکتری‌ها همچنین به عنوان واسطه خوردگی از طریق فعل و انفعالات با لایه هیدروژن روی آهن در معرض آب شناخته شده‌اند [۴۰]. علاوه بر این، SRB تمایل به تشکیل بیوفیلم روی سطوح فلزی دارد که منجر به خوردگی موضعی می‌شود. این باکتری‌ها از طریق رسوب‌گذاری، خوردگی خطوط لوله و زیرساخت‌های فلزی و همچنین از طریق تجزیه نفت در مخازن و تأسیسات ذخیره‌سازی، مشکلات جدی برای فعالیت‌های صنعتی مانند بازیافت نفت و تصفیه فاضلاب ایجاد می‌کنند [۴۴]. روش‌های کنترل فعلی شامل تمیز کردن منظم و استفاده از زیست‌کش‌های شیمیایی است که هم برای محیط زیست سمی هستند و هم همیشه مؤثر نیستند [۴۶، ۴۵]. با این حال، به دست آوردن فاژهای SRB دشوار است زیرا این باکتری‌ها در شرایط بی‌هوازی وجود دارند. گزارش‌های بسیار کمی در مورد فاژهای طبیعی SRB وجود دارد. با توجه به مقاومت SRB در برابر عوامل ضد میکروبی، درمان با فاژ جایگزین امیدوارکننده‌ای برای کنترل SRB است [۴۴].

در پژوهش انجام شده توسط *ایدال*<sup>۲</sup> و همکاران، فاژهای لیتیک آلوده‌کننده باکتری *Desulfovibrio aespoensis* در آب‌های زیرزمینی شناسایی شد و مشخص شد که این فاژها در گروه ریخت‌شناسی Podoviridae قرار دارند [۴۷]. *سامر*<sup>۳</sup> و همکاران دو فاژ را که باکتری‌های احیاکننده سولفات *Haloanaerobium* و *Desulfovibrio* را آلوده می‌کنند، جدا کردند و مهار رشد باکتری‌ها را در کشت مایع در حضور فاژ نشان دادند [۴۵]. *بالسوین*<sup>۴</sup> و *سامر* اختراعی جهت کنترل آلودگی باکتریایی، خوردگی، رسوب‌زدگی و ترش شدن چاه‌های نفت و گاز و مخازن

نمی‌توان از یک نوع فاژ استفاده نمود؛ زیرا باکتری‌های گوناگون EPS متفاوتی تولید می‌کنند و تولید یک دپلمراز به وسیله یک فاژ ممکن است نتواند EPS گونه دیگر از باکتری را هضم نماید. پلی‌ساکارید دپلمرازهای فاژی شامل اندورامونوزیدازها، آلزینات لیاها، اندوسیالییدازها و هیالورونیدازها (گلیکوزید هیدرولازها) می‌باشند. یکی دیگر از آنزیم‌هایی که شناخته شده است، آنزیم DNase می‌باشد که توسط برخی فاژها مانند فاژ آلوده‌کننده باکتری *Streptococcus pyogenes* تولید می‌شود [۳۰، ۲۹].

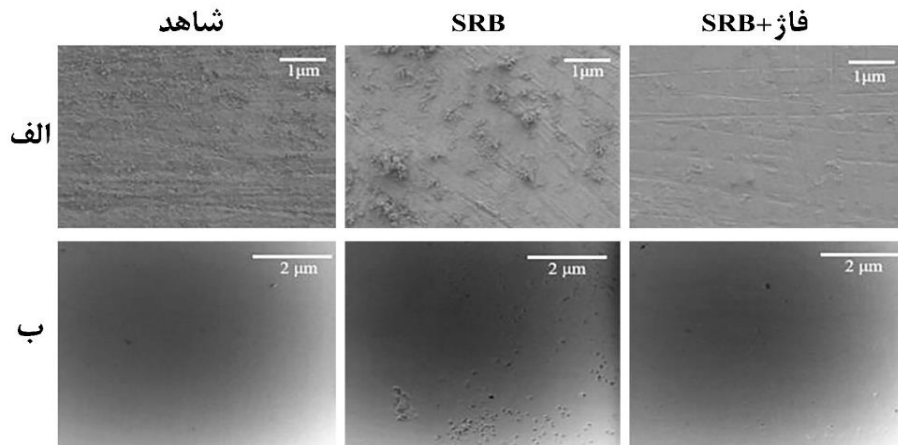
یکی از پژوهش‌ها برای بیوکنترول بیوفیلم باکتری *P. aeruginosa* با استفاده از باکتریوفاژ GH4 انجام شده است. وقتی سلول‌های باکتری میزبان یعنی *P. aeruginosa* با فاژ آلوده شدند، بیان آنزیم آلزیناز در این سلول‌ها مشاهده شد. این آنزیم می‌تواند پلی‌ساکارید آلزینات که در ماتریکس بیوفیلم این باکتری وجود دارد را تجزیه کند. مطالعات نشان داد که ژن این آنزیم در ژنوم فاژ GH4 وجود ندارد، اما این فاژ بیان ژن آلزیناز را توسط سلول باکتری *P. aeruginosa* القا نموده و از این طریق با تخریب ماتریکس بیوفیلم و ایجاد منافذ در ساختار بیوفیلم، باعث نفوذ بیشتر فاژهای رها شده از باکتری و گسترش عفونت فاژ در سلول‌های بیوفیلم می‌شود [۲۹]. مکانیسم دیگری که ممکن است در اثر ضدبیوفیلیمی فاژها نقش داده باشد، اثر فاژ بر بیان ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم است. رجیبی و همکاران در مطالعات خود نشان دادند که فاژهای جدا شده از فاضلاب شهری بیان ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم را در باکتری *Streptococcus mutans* کاهش داده و منجر به مهر تولید بیوفیلم توسط این باکتری تا میزان ۹۷ درصد شدند [۳۹، ۳۸].

### تکثیر در سلول میزبان و تجزیه آن

پس از نفوذ فاژ به درون بیوفیلم و از بین بردن ماتریکس، با توجه به تراکم بالای باکتری‌ها در ساختار بیوفیلم، سرعت بالایی از تکثیر فاژ رخ می‌دهد. فاژهای لیتیک با تکثیر در میزبان و تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده باعث متلاشی شدن سلول‌ها می‌شوند [۳۲]. همانطور که پیش از این بیان شد، تجزیه سلول باکتری میزبان و انتشار فاژهای حاصل توسط ترکیبی از آنزیم‌های فاژ شامل هولین‌ها، اندولیزین‌ها و اسپاین‌ها تسهیل می‌شود [۳۳]. اندولیزین‌ها (پپتیدوگلیکان هیدرولازها) شامل مورامیداز، ترانس گلبکوزیلاز، گلوکز آمینیداز، آمیداز و اندوپپتیداز می‌باشند [۳۲]. از دست دادن یکپارچگی ساختاری دیواره سلولی باکتری در اثر هیدرولیز لایه پپتیدوگلیکان باعث متلاشی شدن سلول از طریق عدم تعادل اسمزی می‌شود. علاوه بر این، در باکتری‌های گرم منفی، غشای خارجی نیز باید توسط اسپاین‌ها تخریب شود [۴۱، ۴۰]. یکی از عوامل مؤثر بر عملکرد بیوکنترول فاژ در بیوفیلم،

(۱) Phage to Host Ratio  
(۳) Summer

(۲) Eydal  
(۴) Baldwin



شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از خوردگی شبیه‌سازی شده بر روی سطح فولاد توسط SRB و کنترل خوردگی در حضور فاز (الف) قبل و (ب) بعد از حذف محصولات خوردگی از سطح [۴۴].

و فراوانی نسبی پروتئین‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم و پاسخ به استرس سلولی را تغییر داد. این یافته جدید، استفاده از فازهای غیراختصاصی را به عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای کنترل خوردگی زیستی در تأسیسات نفت و گاز مطرح کرد [۵۰].

سانچز-رزاریو<sup>۲</sup> و همکاران اثر فاز SN علیه *P. aeruginosa* و فازهای Palmer و Slash علیه *Bacillus megaterium* در آب تولیدی در صنایع نفت و گاز را در شرایط آزمایشگاهی طی ۲۴ ساعت بررسی کردند و از بین رفتن سریع این باکتری‌ها توسط فازها را مشاهده نمودند. باکتری *P. aeruginosa* به دلیل فراوانی در آب تولیدی، قابلیت تشکیل بیوفیلم و القای خوردگی میکروبی در خط لوله‌ها و سایر ساختارهای فلزی در صنایع نفت و گاز و باکتری *B. megaterium* به دلیل توانایی تجزیه هیدروکربن‌های موجود در نفت خام در این مطالعه به عنوان باکتری‌های مدل مورد بررسی قرار گرفتند [۵۱].

متان تیول محصول تجزیه ترکیبات آرگانوسولفور در فاضلاب است. این ماده علاوه بر ایجاد بوی بد و اثرات سمی بر سلول‌های پستانداران، به طور غیرمستقیم از طریق تبدیل میکروبی به سولفوریک اسید باعث خوردگی سازه‌های بتنی در سیستم‌های فاضلاب نیز می‌شود. سارات<sup>۳</sup> و همکاران در یک مطالعه، از یک سویه *Pseudomonas putida* به عنوان باکتری مدل برای تولید متان تیول در حضور متیونین استفاده نموده و اثر دو فاز جدا شده از فاضلاب بر رشد و فعالیت این باکتری را در فاضلاب مصنوعی بررسی کردند. فازهای  $\phi$ Ph\_PP01 و  $\phi$ Ph\_PP02 تولید متان تیول را به ترتیب ۵۲ و ۴۷ درصد کاهش دادند و همزمان، کاهش ۳ لگاریتمی در تعداد *P. putida* طی ۶ ساعت نیز مشاهده شد [۵۲].

در پژوهشی که توسط محققان ایرانی انجام شد، باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* PBM-IAUF-2 و یک باکتریوفاژ

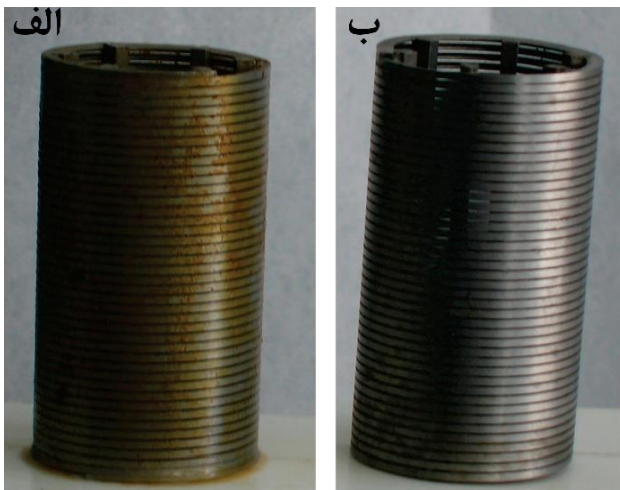
ثبت کردند که در آن از فازهای لیتیک علیه باکتری‌های هدف، به ویژه باکتری‌های SRB و باکتری‌های تولیدکننده اسید (APB) استفاده شد [۴۸]. اختراعی دیگر در مورد استفاده از فازهای طبیعی لیتیک علیه SRB از جمله *Desulfovibrio vulgaris* و *Thiobacillus thiooxidans* مانند APB *Desulfovibrio desulfuricans* و *Thiobacillus denitrificans* و باکتری‌های رشته‌ای عامل ایجاد کف، جهت کنترل آلودگی باکتریایی، خوردگی و رسوب در سیستم‌های آب صنعتی به ثبت رسیده است [۴۹].

ژانگ<sup>۱</sup> و همکاران یک فاز لیتیک (SRB7757) آلوده‌کننده باکتری احیاکننده سولفات *D. vulgaris* از آب تصفیه خانه فاضلاب جدا کردند. آزمایش‌های خوردگی شبیه‌سازی شده نشان داد که این فاز تولید سولفید را تا ۹۲٫۳ درصد در عرض ۲۴ ساعت مهار کرد و پس از ۲۸ روز خوردگی روی نمونه‌های فلزی را به طور قابل توجهی کاهش داد (شکل ۶). این فاز متعلق به خانواده Chaeviridae بود و در دماهای ۴ تا ۶۰ درجه سلسیوس و در محدوده pH ۱۲-۲ پایدار است. علاوه بر این، دو ژن (ORF8 و ORF9) برای رمزگذاری آنزیم‌های لیتیک، که دامنه میزبان وسیع‌تری در مقایسه با خود فاز دارند، پیش‌بینی شد که یک استراتژی امیدوارکننده برای گسترش دامنه میزبان و بهبود کنترل SRB ارائه می‌کند [۴۴].

در مطالعه‌ای دیگر اثر غلظت‌های گوناگون یک فاز آلوده‌کننده *E. coli* (vb\_EcoM-UFV13) و دارای آنزیم‌های تجزیه‌کننده بیوفیلم، در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم و کاهش تولید  $H_2S$  توسط کنسرسیوم میکروبی عمدتاً حاوی SRB، که از آب تولید سکوی استخراج نفت در برزیل جداسازی شده بود، بررسی شد. غلظت‌های بالا و متوسط فاز مانع از توسعه بیوفیلم و منجر به کاهش رشد، فعالیت متابولیکی و تولید  $H_2S$  شدند. علاوه بر این، فاز الگوی بیان برخی از ژن‌های باکتریایی

(۱) Zhang  
(۳) Sarat

(۲) Sanchez-Rosario



شکل ۷- تصاویر سبد توری از جنس استیل ضدزنگ پس از ۶۰ روز در حضور باکتری اکسیدکننده آهن *Sphaerotilus natans* (الف) بدون تیمار و (ب) با تیمار ترکیبی گلیکولیک اسید و فاژ ERI [۴۴].

نانوفیلتراسیون و یا اسمز معکوس، بین یک تا صد نانومتر می‌باشد که معمولاً کوچکتر از ذرات فاژ که ۲۰۰-۳۰۰ نانومتر می‌باشند، است. بنابراین بعضی از فاژها قادر به چسبیدن و تثبیت بر روی سطح غشاء می‌باشند که به از بین بردن دائم باکتری‌ها در سطح غشاء کمک می‌کند و این دلیل اصلی استفاده از فاژها در این حوزه است. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که وقتی بیوفیلم شامل گونه‌های باکتریایی متعددی باشد که معمولاً بیوفیل‌هایی که در صنایع وجود دارند از این نوع می‌باشند، لازم است که از کوکتل فاژها<sup>۲</sup> یا همان مخلوطی از چند فاژ گوناگون استفاده شود تا از اتصال و تشکیل بیوفیلم بر روی سطح غشاء جلوگیری شود [۳۰].

باکتری *P. aeruginosa* یکی از اعضای رایج بیوفیلم در سیستم‌های آبی طبیعی و صنعتی است. این باکتری به دلیل توانایی بالا در تشکیل بیوفیلم در خوردگی سطوح نقش مهمی دارد [۵۸]. علاوه بر این، برخی سویه‌های این باکتری با احیای تیوسولفات، گاز سمی و خوردنده  $H_2S$  را تولید می‌کنند [۲۸، ۶]. در یک پژوهش فاژهای لیتیک از یک واحد تصفیه پساب جداسازی و برای مهار رشد *P. aeruginosa* در حالت پلانکتونی (در دمای ۲۵-۴۵ درجه سلسیوس، pH ۶-۹ و شوری آب دریا)، در حالت بیوفیلمی و همچنین بر روی غشای اولترافیلتراسیون بررسی شدند. باکتری پلانکتونی پس از قرار گرفتن در معرض فاژها، فاز تأخیری به طور قابل توجهی طولانی‌تر و سرعت رشد ویژه کمتری را نشان داد. با اثردهی فاژها بر بیوفیلم غنی‌شده با *P. aeruginosa* مشخص شد که فراوانی نسبی گونه‌های مرتبط با *Pseudomonas* نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. هنگامی که فاژها برای کاهش رسوب زیستی غشاهای اولترافیلتراسیون استفاده شدند، مشاهده شد که فاژها افزایش فشار غشایی را ۱۸ درصد

لیتیک علیه آن که از خانواده Siphoviridae بود، از خوردگی خط لوله نفت گندمکار در استان چهارمحال و بختیاری جداسازی شد. منحنی رشد باکتری بعد و قبل از تیمار با فاژ، اثربخشی فاژها را در کنترل جمعیت باکتریایی (۵۰ درصد کاهش جمعیت) نشان داد و این روش به‌عنوان یک راهکار اقتصادی و مؤثر برای کنترل خوردگی میکروبی پیشنهاد شد [۵۳].

چاه‌های آب زیرزمینی حاوی غلظت‌های زیادی از آهن دو ظرفیتی در نتیجه اکسیداسیون زیستی آهن با مشکلات جدی گرفتگی مواجه هستند. مدت کوتاهی پس از شروع به کار، چاه‌ها مسدود می‌شوند و راندمان تولید آنها به طور قابل توجهی تا انسداد کامل کاهش می‌یابد و پاکسازی و بازسازی را به یک بار اقتصادی تبدیل می‌کند. در یک مطالعه باکتری اکسیدکننده آهن *Sphaerotilus natans* که از یک چاه عمیق جدا شده بود، برای تشکیل بیوفیلم بر روی کوپن‌ها و سبدهای توری سیمی مینیاتوری دفن شده در شن کشت داده شد. روش ترکیبی شیمیایی-زیستی، که در مقیاس آزمایشگاهی با استفاده از اسید گلیکولیک (۲ درصد) و فاژهای جدا شده علیه *S. natans* (SN1 و ERI) اعمال شد، مهار تشکیل بیوفیلم و غیرفعال کردن باکتری‌های آلاینده را نشان داد. استفاده از این تیمار ترکیبی منجر به تمیز ماندن سطوح سبد توری از جنس استیل ضدزنگ تا ۶۰ روز شد (شکل ۷) [۵۴].

رسوب زیستی غشایی، یعنی تشکیل بیوفیلم توسط میکروارگانیسم‌ها که منجر به انسداد غشاء می‌شود، یکی از مسائل مهم در فرآیند فیلتراسیون غشایی در تصفیه آب و پساب بوده و هزینه بالایی جهت تیمارهای شیمیایی و فیزیکی تحمیل می‌کند. این امر سرعت جریان عبور مایع از غشاء را کاهش داده و نیاز به جایگزینی غشاء را به دنبال دارد. اخیراً مطالعاتی برای کاهش اتصال میکروبی به سطح غشاء با استفاده از فاژها انجام شده است. برای مثال، در یک مطالعه نشان داده شد که تیمار با فاژ ۴۰ تا ۶۰ درصد از اتصال میکروبی را کاهش داده و سبب غیرفعال شدن باکتری‌های شناور و جدید برای تشکیل بیوفیل‌هایی که دارای سه گونه متفاوت از باکتری‌ها هستند، شد [۵۵]. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که افزودن باکتریوفاژهای T4 در غلظت  $10^8$  واحد تشکیل‌دهنده پلاک در میلی‌لیتر<sup>۱</sup> (PFU/mL) به طور مؤثر رشد سلول‌های *E. coli* در محیط آبی را کاهش داد و کاهش سرعت جریان در غشای اولترافیلتراسیون را تا ۹ ساعت به تأخیر انداخت [۵۶]. در مطالعه‌ای دیگر محققان نشان دادند که یک باکتریوفاژ جدا شده از یک تصفیه خانه فاضلاب در غلظت  $10^{12}$  PFU/mL می‌تواند بیوفیلم باکتری *Delftia tsuruhatensis* در فیلترهای غشایی را از بین ببرد. نتایج نشان داد که سرعت عبور آب از طریق غشاء که قبلاً به دلیل تشکیل بیوفیلم کاهش یافته بود، پس از کاربرد فاژ افزایش یافت [۵۷]. اندازه منفذ غشاء یا صافی‌ها که برای تیمار آب و پساب به کار می‌روند، مانند اولترافیلتراسیون،

(۱) Plaque Forming Unit per Milliliter

(۲) Phage Cocktail

از بین بردن این باکتری‌ها با استفاده از فازهای چندظرفیتی گزارش شده است [۳۴،۳۳].

چالش دیگری که می‌تواند توسط فازها برطرف شود، وجود باکتری‌های احیاکننده سولفات (SRB) در هاضم‌های بی‌هوازی است. وجود ترکیبات گوگرد اکسید شده در فاضلاب باعث رشد باکتری‌هایی مانند *Desulfovibrio* و *Desulfosarcina* در طی تثبیت لجن توسط هضم بی‌هوازی می‌شود. SRB که تا ۲۰ درصد از تعداد کل سلول‌های راکتور بی‌هوازی را تشکیل می‌دهد، می‌تواند برای استفاده از هیدروژن از متانوژن‌ها سبقت بگیرد که باعث کاهش بازده متان می‌شود. SRB همچنین با تولید سولفید باعث مشکلاتی مانند خوردگی و بوی نامطبوع می‌شود. بر این اساس، با تزریق فازهای لیتیک اختصاصی برای SRB می‌توان مشکلات یاد شده را برطرف نمود [۳۴].

### چالش‌ها و راهکارها برای کاربرد فازها

با وجود پیشرفت مطالعات برای بکارگیری فازها به عنوان عوامل کنترل زیستی در سیستم‌های آبی، هنوز محدودیت‌هایی در این زمینه وجود دارد. در ادامه به چالش‌های موجود و راهکارهای مقابله با آن‌ها پرداخته می‌شود.

#### شناسایی فازها و باکتری‌های هدف

تاکنون گزارش‌های اندکی در مورد شناسایی و تعیین خصوصیات فازهای آلوده کننده باکتری‌های عامل خوردگی منتشر شده است. انجام پژوهش‌های هدفمند بیشتر می‌تواند این خلاء را از بین ببرد. با توجه به اینکه فازها طیف میزبان محدودی دارند، تشخیص دقیق و شناسایی باکتری‌های مشکل‌ساز برای مطابقت با فازهای مناسب ضروری است. برای کاهش خوردگی میکروبی، دانش قبلی از گونه‌های باکتری درگیر در این فرایند برای جداسازی مناسب فاز مورد نیاز است. خوشبختانه، بهبود رویکردهای توالی‌یابی ژنی مستقل از کشت (متازنومیکس) و روش‌های نوین ردیابی ژن‌های عملکردی در محیط طبیعی، شناسایی دقیق باکتری‌های عامل خوردگی را تسهیل کرده است [۳۴،۳۳].

#### خطر انتقال ژن توسط فازهای لیزوژنیک

یکی دیگر از محدودیت‌ها، خطر ترانسداکسیون<sup>۴</sup> ژن وقتی فاز به حالت لیزوژنیک در میزبان باشد است که فاز می‌تواند ژن برخی عوامل بیماری‌زای یا مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را از یک باکتری به باکتری دیگر انتقال دهد. این موضوع بیشتر در فاز درمانی در پزشکی حائز اهمیت می‌باشد. با این وجود، از آنجایی که انتقال ژن‌های بیماری‌زایی ممکن است منجر به ظهور پاتوژن‌های جدید

کاهش دادند [۵۹]. در پژوهش مگین<sup>۱</sup> و همکاران برای ارزیابی کاربرد فازها در محیط‌های حرارتی و صنعتی، اثربخشی فازها بر بیوفیلم *P. aeruginosa* جدا شده از آب آشامیدنی و شبکه آب حرارتی بررسی شد. فازهای منتخب (14.1 و LUZ7) توانستند بیوفیلم یک روزه ایجاد شده بر روی کوپن فولاد زنگ‌نزن را تا ۹۰ درصد کاهش دهند [۶۰].

### کاربردهای بالقوه دیگر فازها در سیستم‌های آبی

علاوه بر کاربرد به عنوان عوامل ضدبیوفیلم، می‌توان از فازها برای اهداف دیگری نیز در سیستم‌های آبی استفاده نمود. در آب‌های سطحی، می‌توان فازهایی که به طور اختصاصی سیانوباکتری‌ها را آلوده می‌کنند را برای جلوگیری از شکوفایی<sup>۲</sup> آن‌ها بکار گرفت [۶۱]. همچنین، مخلوط فازهایی که علیه پاتوژن‌های گیاهی یا پاتوژن‌های آبزیان مؤثر هستند می‌تواند در آب‌های مورد استفاده در کشاورزی و آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد [۳۳].

تیمار با فازها پتانسیل کنترل مشکلات فرآیند تصفیه فاضلاب مانند جلوگیری از خوردگی، آبگیری و بهبود قابلیت هضم لجن، جلوگیری از کف کردن در واحدهای لجن فعال، حذف باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش رقابت بین باکتری‌های مزاحم و جمعیت‌های میکروبی مهم را دارا می‌باشد [۶۲].

آبگیری لجن که منجر به کاهش حجم لجن می‌شود، یک فرآیند مهم در تصفیه لجن فاضلاب است که باعث صرفه‌جویی در ظرفیت تجهیزات و همچنین هزینه‌های تصفیه پایین دست می‌شود. مقدار بالای EPS میکروبی، که می‌تواند تا ۹۹ درصد وزنی آب داشته باشد، از آبگیری لجن فعال زباله و لجن هضم بی‌هوازی جلوگیری می‌کند. نشان داده شده است که می‌توان از آنزیم‌های پلی‌ساکارید دپلیمراز باکتریوفاژها که در تخریب EPS در بیوفیلم‌ها مؤثر هستند، برای تخریب و کاهش EPS در لجن فاضلاب و در نتیجه کمک به آبگیری آن استفاده نمود. علاوه بر این، باکتری‌های جنس *Zoogloea* و *Thauera* به عنوان تولیدکنندگان بیش از حد EPS شناسایی شده‌اند و سهم عمده‌ای در مشکلات آبگیری در لجن فاضلاب دارند. بنابراین استفاده از فازهایی که به طور اختصاصی این باکتری‌ها را هدف قرار دهند نیز می‌تواند مؤثر باشد [۳۳].

ته نشین شدن لجن تشکیل شده در طی فرآیندهای لجن فعال از مراحل ضروری در تصفیه پساب‌ها است. حجیم شدن<sup>۳</sup> و کف کردن لجن فعال به دلیل تکثیر بیش از حد باکتری‌های رشته‌ای یک مشکل عملیاتی رایج است. باکتری‌های رشته‌ای (به عنوان مثال، گونه‌های *Microthrix* و *Nocardia*) و باکتری‌های کف‌ساز (مانند گونه‌های *Gordonia* و *Nocardia*) مانع ته‌نشین شدن لجن و شفاف‌سازی پساب می‌شوند. نتایج موفقیت‌آمیزی در مقیاس آزمایشگاهی برای

(۱) Magin  
(۳) Bulking

(۲) Bloom  
(۴) Transduction

با استفاده از فاژهای مهندسی شده با توانایی تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده EPS (آنزیم‌های دپلمراز) اشاره نمود. در یک مطالعه با استفاده از مهندسی ژنتیک، فاژ T7 قادر به تولید آنزیم دیسپرسین B<sup>۲</sup> (DspB) که یک پلی‌ساکارید دپلمراز است، ساخته شد و برای آلوده کردن بیوفیلم باکتری *E. coli* استفاده شد. نتایج نشان داد که این فاژ تغییر یافته هم به ماتریکس بیوفیلم و هم به باکتری‌های موجود در ماتریکس بیوفیلم حمله می‌کند و بیوفیلم باکتریایی را با عملکرد دوگانه DspB و فاژ تا ۹۸ درصد کاهش داده و کارآمدتر از فاژ نوع وحشی است [۶۵]. یک راهکار جایگزین استفاده از فاژهای تغییر یافته‌ای است که آنزیم‌های خاموش‌کننده کوئروم سنسینگ (QS) را بیان می‌کنند. این آنزیم‌ها می‌توانند با تخریب مولکول‌های سیگنال یا مهار سنتز مولکول‌های سیگنال منجر به اختلال در QS شوند. در پژوهشی دانشمندان بر روی مهار تشکیل بیوفیلم توسط فاژ T7 تغییر یافته که آنزیم لاکتوناژ را تولید می‌کند، مطالعه نمودند. نتایج نشان داد که باکتريوفاژ T7 مهندسی شده با تولید آنزیم لاکتوناژ مولکول علامت‌دهنده AHL که سبب گفتگوی سلول به سلول جهت تشکیل بیوفیلم در بسیاری از باکتری‌ها می‌گردد را تجزیه نموده و به این ترتیب بر روی تشکیل بیوفیلم‌های غیریکنواخت که از گونه‌های گوناگون باکتری‌ها تشکیل شده‌اند مؤثر می‌باشد [۶۶]. از آنجایی که دپلمرازها و اندولیزین‌ها در برابر تشکیل بیوفیلم اثربخشی نشان داده‌اند، خالص‌سازی و ترکیب مجدد این آنزیم‌های مشتق از فاژها گزینه‌ای جایگزین برای مقابله با چالش‌های مربوط به دامنه میزبانی محدود و مقاومت میزبان را ممکن می‌سازد [۱۷]. طیف فعالیت اندولیزین از طیف میزبان باکتريوفاژها بیشتر است و تا به امروز هیچ باکتری مقاومی نسبت به این پروتئین گزارش نشده است. تحت استانداردها و مقررات ایمنی فعلی، استفاده از محصولات فاژ آسان تر از استفاده از خود فاژ است. مهندسی ژنتیک برای به حداکثر رساندن اثربخشی این پروتئین‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفته است و حتی لیزین‌های مصنوعی (مانند آر‌تیلیزین‌ها و لیزوسین‌ها) از ترکیب یک قطعه از لیزین طبیعی با پپتیدها، باکتريوسین‌ها یا پروتئین‌های دیگر ایجاد شده‌اند [۳۲]. با این وجود، مشکلات مربوط به پایداری این آنزیم‌ها در محیط نیز مطرح است [۱۷]. گاهی اوقات برای غلبه بر مقاومت یا افزایش کارایی استفاده از فاژ در برابر بیوفیلم‌ها، از درمان ترکیبی استفاده می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌ها، بیوسایدها و سایر مواد ضد میکروبی طبیعی یا مصنوعی، آنزیم‌های دپلمراز، نانوذرات، یا روش‌های فیزیکی ممکن است همراه با فاژها بکار گرفته شوند تا تشکیل بیوفیلم‌های چندگانه‌ای را به حداقل برسانند [۳۲]. برای مثال، در یک مطالعه محققان با استفاده از فاژ جدا شده از فاضلاب به میزان حذف ۸۹ درصد برای بیوفیلم *P. aeruginosa* دست یافتند و با استفاده از ترکیب فاژ و کلر،

با پیامدهای بهداشتی مرتبط شود، توصیه می‌شود فاژهای دارای چرخه لیتیک استفاده شود تا این امکان را کاهش دهد. راهکار دیگر این است که با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک، فاژهای لیزوژنیک را به فاژ لیتیک تبدیل نمود [۶۳، ۳۳]. برخی از فاژهای لیزوژنیک با استفاده از تغییرات ژنتیکی مانند ایجاد توانایی تولید اندولیزین‌های مفید برای تخریب و حذف بیوفیلم به فاژهای لیتیک تبدیل شده‌اند. با توجه به اینکه حدود نیمی از باکتری‌های شناسایی شده لیزوژن هستند، این راهکار در مواردی می‌تواند آسان‌تر از جداسازی فاژهای لیتیک از طبیعت باشد و مخزن گسترده‌تری از فاژها را در اختیار قرار می‌دهد [۳۲].

### طیف محدود میزبان

از آنجایی که بیوفیلم‌ها اغلب حاوی چندین گونه میکروبی هستند، طیف محدود و اختصاصیت فاژها منجر به آلوده شدن و از بین رفتن تنها بخشی از باکتری‌ها در بیوفیلم می‌شود. با این وجود، این مشکل با بکارگیری فاژهای چندظرفیتی، کوکتل فاژها (متشکل از انواع فاژهای متعدد) و مهندسی ژنتیک فاژها برای افزایش دامنه میزبانی یا تولید آنزیم‌های با طیف اثر گسترده‌تر قابل حل می‌باشد [۳۴].

### مقاومت میزبان و عدم کارایی

باکتری‌ها می‌توانند با مسدود کردن گیرنده سطحی فاژ یا غیرفعال کردن آن‌ها از جذب فاژ جلوگیری کنند یا با تولید EPS که دسترسی عوامل خارجی به سلول‌ها، از جمله فاژها را محدود می‌کند، از خود محافظت کنند. مکانیسم مقاومت دیگر، شناسایی اختصاصی اسید نوکلئیک فاژها و از بین بردن آن‌ها توسط سیستم ایمنی باکتریایی به نام کریسپر<sup>۱</sup> (CRISPR) است. همچنین به عنوان یک مانع نهایی برای عفونت فاژ، باکتری‌ها می‌توانند از یک سیستم عفونت بی‌نتیجه استفاده کنند که منجر به مرگ سلول آلوده می‌شود و از گسترش فاژها در جمعیت جلوگیری می‌کند. اگرچه باکتری‌ها دارای مکانیسم‌هایی برای ایجاد مقاومت در برابر آلودگی توسط فاژها هستند، ظهور فاژهای جهش‌یافته (فاژهایی که قادر به دور زدن مقاومت باکتریایی هستند) نیز می‌تواند بقای جمعیت فاژ را تضمین کند [۶۴]. کوکتل‌های فاژی نیز می‌توانند ایجاد مقاومت را کاهش دهند، زیرا رشد مجدد باکتری‌های مقاوم به فاژ را پس از تیمار به تأخیر می‌اندازند یا حتی از آن جلوگیری می‌کنند. استفاده همزمان یا متناوب و چرخشی از مواد ضد میکروبی (مانند بیوسایدها و باکتريوسین‌ها) و فاژها نیز راهکاری نویدبخش برای کاهش احتمال ایجاد مقاومت است [۳۴].

از راهکارهای دیگر برای کاهش مقاومت باکتریایی می‌توان به ایجاد اختلال در مکانیسم‌های مقاومتی مانند تولید EPS

(۱) Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

(۲) Dispersin B

سیستم‌های پیوسته کارامدی برای تولید فاز طراحی شده و مورد استفاده قرار گرفته اند که با بهینه‌سازی شرایط می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای تولید تجاری فازها به شمار روند. مدل‌های ریاضی نیز می‌توانند برای بررسی دینامیک باکتری-فاز، طراحی بیوراکتور، افزایش مقیاس و بهینه‌سازی سیستم‌های پیوسته بکار گرفته شوند [۷۰]. از سوی دیگر، برخی از باکتری‌های عامل خوردگی که به عنوان میزبان برای تکثیر فاز مورد نیاز هستند، بی‌هوازی هستند، نیازهای غذایی ویژه دارند یا رشد آهسته دارند. بنابراین نیاز است که راکتورهای مناسب طراحی و بهینه‌سازی‌های لازم انجام می‌شود. چالش دیگر هزینه بالای تولید فازها در مقایسه با بیوسایدهای شیمیایی است. استفاده از محیط کشت‌های ارزان برای تکثیر سلول میزبان و کاربرد مهندسی ژنتیک برای ایجاد فازهایی با بازده تکثیر بیشتر می‌تواند در کاهش هزینه‌ها راهگشا باشد.

### پایداری فاز در محیط

اثر بخشی فازها به عنوان عامل کنترل زیستی تحت تأثیر عوامل محیطی گوناگونی مانند دما، اکسیژن، pH و اشعه فرابنفش قرار می‌گیرد [۷۱]. فازها ممکن است توسط تنش‌های محیطی گوناگون آسیب ببینند یا قبل از رسیدن به باکتری هدف جذب مواد موجود در محیط یا ماتریکس بیوفیلم شوند. پوشش‌دار کردن فاز با مواد محافظ (مانند آلژینات یا کیتوزان) یا تثبیت آن‌ها روی مواد پلیمری یا فلزات می‌تواند مقاومت فاز را در برابر تنش‌های محیطی بهبود بخشد [۳۲، ۳۴]. در یک مطالعه، به منظور افزایش کاهش رسوب زیستی در مخازن ذخیره آب خانگی، فازها با پوشش پلیمری بر پایه کیتوزان پاسخ‌دهنده به pH محصور شدند و سطوح پلاستیکی پلی‌اتیلن تیمار شده با اشعه گاما با آن‌ها پوشش‌دهی شد. فازها در آب لوله‌کشی با pH خنثی حداقل تا یک ماه درون پوشش پایدار باقی ماندند اما شرایط اسیدی بیوفیلم منجر به رهاسازی فازها از پوشش پلیمری شد. نتایج نشان داد که تشکیل بیوفیلم *P. aeruginosa* بر روی سطوح پوشش‌دهی شده به طور قابل توجهی نسبت به سطوح پوشش‌دهی نشده کاهش یافت (شکل ۸) [۷۲]. در پژوهشی دیگر، مخلوط فازی علیه باکتری‌های *E. coli* و *Listeria monocytogenes* بر روی غشای سلولزی اصلاح شده تثبیت شد و نتایج نشان داد که این فازها به طور مؤثر رشد این باکتری‌ها را مهار کردند [۷۳].

### ملاحظات ایمنی زیستی

اگرچه باکتریوفازها تهدید مستقیمی برای سلامت انسان نیستند، استفاده کنترل نشده از آن‌ها در مقیاس بزرگ در محیط یا استفاده از باکتریوفازهای نو ترکیب ممکن است برخی نگرانی‌های ایمنی زیستی

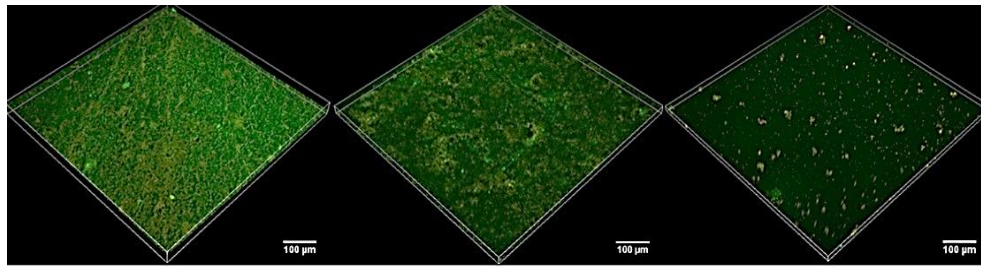
به میزان حذف ۹۶ درصد رسیدند [۶۷]. در پژوهشی دیگر، بیوفیلمی متشکل از دو گونه باکتری شامل *P. aeruginosa* در لایه زیرین و *Klebsiella pneumoniae* در لایه سطحی بر روی دیسک‌های پلی‌کربنات ایجاد شد و با فاز KPO1K2 تولیدکننده دپلیمرز اختصاصی *P. aeruginosa* و فاز Pa29 غیر تولیدکننده دپلیمرز اختصاصی *K. pneumoniae* و زایلیتول تیمار شد. استفاده از هر دو فاز با هم منجر به کاهش قابل توجهی در تعداد هر دو ارگانیسم شد. نتایج نشان داد که دپلیمرز تولید شده توسط فاز KPO1K2 لایه بالایی بیوفیلم را هیدرولیز کرده و ورود فاز Pa29 و زایلیتول را برای رسیدن به *P. aeruginosa* که در زیر آن قرار دارد تسهیل کرد. افزودن زایلیتول با دو فاز مذکور اثر هم‌افزایی داشت و منجر به حذف کامل سلول‌های *K. pneumoniae* و کاهش قابل توجه سلول‌های *P. aeruginosa* شد [۶۸]. راهکار دیگر برای مقابله با بیوفیل‌ها استفاده از ترکیب فاز و نانوذرات است. مطالعات نشان داده است که نانوذرات می‌توانند به طور مؤثری بیوفیل‌ها را پراکنده کنند و به فازها کمک کنند تا به مکان‌های نسبتاً غیرقابل دسترس درون بیوفیل‌ها برسند و از این طریق کارایی فازها را افزایش دهند [۴۱]. در یک مطالعه، فازهای چندظرفیتی به صورت کووالانسی به نانوذرات کلوئیدی مغناطیسی متصل شدند و پس از هدایت آن‌ها به لایه زیرین بیوفیلم به کمک میدان مغناطیسی، اثر ضدبیوفیلمی آن بررسی شد. نتایج نشان داد که این راهکار منجر به نفوذ بهتر فاز به بیوفیلم و تخریب بیوفیلم از لایه‌های زیرین شد و راندمان حذف بیوفیلم ۹۸ درصد برای بیوفیلم دو گونه‌ای (*P. aeruginosa* و *E. coli*) و ۹۲ درصد برای بیوفیلم چندگونه‌ای (شامل *P. aeruginosa*، *E. coli* و *B. subtilis*) و *Shewanella oneidensis*) به دست آمد [۶۹].

### تولید فاز در مقیاس بالا

تولید انبوه و مقرون به صرفه باکتریوفازها نیز می‌تواند یکی از موانع احتمالی باشد. برای تولید فاز لازم است باکتری میزبان تکثیر شده و سپس با فاز آلوده شود. در ادامه با تکثیر باکتری و فاز، می‌توان مقادیر زیادی از فاز را به دست آورد. کشت فازها در مقیاس تجاری در بیوراکتورهای همزن‌دار به یکی از سه روش بسته، نیمه پیوسته<sup>۲</sup> و پیوسته<sup>۳</sup> انجام می‌شود. سیستم‌های راکتوری بسته به عنوان روشی مقرون به صرفه برای تولید فازها در نظر گرفته می‌شوند اما دارای محدودیت در میزان بهره‌وری و میزان دسترسی مواد غذایی هستند. راکتورهای پیوسته پیچیدگی بیشتری نسبت به فرایندهای بسته دارند اما امکان مقیاس‌پذیری و کنترل سرعت رشد باکتری که بر تولید فاز تأثیرگذار است را فراهم می‌کنند و باعث افزایش بهره‌وری و یکنواختی محصول و کاهش هزینه تولید می‌شوند.

(۱) Batch  
(۳) Continuous

(۲) Semi-Continuous



شاهد بدون پوشش دهی پوشش دهی شده با فاز محصور شده پوشش دهی شده با مواد پلیمری بدون فاز شاهد بدون پوشش دهی

شکل ۸- تصویر میکروسکوپ روبشی لیزری هم‌کانون (CLSM) که تشکیل بیوفیلم باکتری *Pseudomonas aeruginosa* بر روی سطوح پلاستیکی پلی‌اتیلن پوشش‌دهی شده و پوشش‌دهی نشده را نشان می‌دهد. با استفاده از رنگ‌آمیزی فلورسنت، سلول‌های زنده به رنگ سبز مشاهده می‌شوند [۷۲].

یکی از مزیت‌های کاربردهای فاژها نسبت به بسیاری از روش‌های کنترل خوردگی، قابلیت تکثیر آن‌ها در سلول‌های میزبان می‌باشد. بنابراین در صورت وجود میزبان باکتریایی، تعداد فاژها با گذشت زمان افزایش می‌یابد. علاوه بر این، هنگامی که همه باکتری‌های هدف از بین رفتند، فاژ نیز در نهایت از بین می‌رود. بنابراین فاژها به عنوان یک راهکار زیست‌سازگار نیز به شمار می‌روند [۳۳]. فاژها برخلاف عوامل کنترل‌کننده شیمیایی و فیزیکی که طیف گسترده‌ای از موجودات را هدف قرار می‌دهند، دامنه میزبان محدودی دارند. بنابراین با استفاده از آن‌ها می‌توان میکروارگانیسم خاصی را هدف قرار داد و آسیب کمتری به ساختار کلی جمعیت‌های میکروبی در محیط وارد می‌شود [۳۰]. علاوه بر این، فاژها سمیت نداشته و توسط نهادهای نظارتی ایمن شناخته شده‌اند [۲۷].

در حالی که ماتریکس بیوفیلم به عنوان سدی در برابر نفوذ عوامل کنترل‌کننده شیمیایی و فیزیکی عمل می‌کند، برخی فاژها به دلیل تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده ماتریکس بیوفیلم، قادر به نفوذ به بیوفیل‌ها هستند و می‌توانند برای مقابله با بیوفیل‌ها بکار گرفته شوند [۷۷]. علاوه بر این، برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها که معمولاً بر روی باکتری‌هایی که فعالیت متابولیک پایینی دارند و در بیوفیلم حضور دارند، بی‌اثر هستند، فاژها می‌توانند از طریق آزادسازی مواد درون سلولی، متابولیسم این سلول‌های ماندگار را برای تکثیر فاژ تحریک کرده و این سلول‌ها را نیز از بین ببرند [۳۲]. فاژها در محیط‌های غیر زنده مانند تنه‌شست‌های بیوفیلم در صنایع، که عواملی که در محیط زنده وجود دارد مثل سیستم‌های ایمنی میزبان، در آنجا موجود نیست، دارای عملکرد بهتری بر روی بیوفیل‌های باکتریایی می‌باشند.

باکتریوفاژها در محیط آبی بسیار فراوان هستند و تعداد آن‌ها از  $10^4$  تا بیش از  $10^8$  در میلی‌لیتر متغیر است [۶۰]. پایداری آن‌ها در محیط‌های گوناگون آبی پتانسیل آن‌ها را به عنوان عوامل کنترل زیستی در این سیستم‌ها را برجسته می‌کند. بنابراین، فاژهایی که قادر به آلوده کردن باکتری‌ها در شرایط گوناگون صنعتی و محیطی (مانند pH قلیایی و دمای بالا) هستند، می‌توانند برای حذف هدفمند باکتری‌های مشکل‌ساز که در این محیط‌ها رشد می‌کنند استفاده شوند [۳۳].

مانند توسعه باکتری‌های مقاوم به فاژ، انتشار بالقوه صفات ژنتیکی جدید در بین جمعیت‌های باکتریایی یا تأثیر غیرمستقیم بر روی باکتری‌های غیرهدف که ممکن است بر فرآیندهای طبیعی در محیط‌های آبی تأثیر بگذارد، را به همراه داشته باشد. بنابراین ارزیابی کاملی در مورد ویژگی‌های فاژهای مورد استفاده از جمله ویژگی‌های به دست آمده از اصلاح ژنتیکی، بقا، تکثیر و انتشار آن در اکوسیستم مورد نظر برای محافظت از سلامت انسان و محیط زیست و ویژگی‌های سم‌شناسی و آلرژی‌شناسی، مورد نیاز است [۳۳]. این موضوع اهمیت آزمایش‌های میدانی کنترل‌شده، مستندسازی و برنامه‌های نظارتی پس از کاربرد فاژ را نشان می‌دهد. با این وجود تاکنون هیچ استاندارد برای تأیید محصولات مبتنی بر فاژ و دستورالعمل‌های بین‌المللی برای کاربرد فاژ در محیط‌های غیربالینی ایجاد نشده است [۷۱].

### مقایسه کاربرد فاژها با روش‌های دیگر کنترل خوردگی

برخی از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی کنترل خوردگی میکروبی و ویژگی‌های اصلی هر کدام بر اساس مطالعات گوناگون انجام شده تا کنون در جدول ۱ نمایش داده شده است [۸۳-۷۴]. اقدام‌های پاکسازی با استفاده از روش‌های شیمیایی و فیزیکی که بتواند از انباشت فرآورده‌های غذایی و سلول‌های باکتریایی بر سطح دستگاه‌ها جلوگیری کند و بیوفیل‌ها را از بین ببرد، از رایج‌ترین روش‌های کنترل بیوفیلم و خوردگی می‌باشد [۷۷]. به طور کلی می‌توان بیان کرد که برای کنترل خوردگی روش‌های شیمیایی رایج و مؤثر می‌باشند و کاربرد آن‌ها آسان است اما احتمال ایجاد مقاومت میکروبی، اثرات زیست‌محیطی، سمیت برای انسان و سیستم‌ها و نیاز به دوزهای پیوسته از معایب این روش‌ها به شمار می‌رود. روش‌های فیزیکی مناسب برای محیط‌های خاص و قابل استفاده به صورت مکمل با دیگر روش‌ها می‌باشند و معمولاً در برابر بیوفیل‌ها اثربخشی کمتری دارند. روش‌های زیستی دارای مزایایی مانند پایداری بالا، ایمنی زیست‌محیطی، هدف‌گیری دقیق باکتری‌های عامل و قابلیت حذف بیوفیلم بدون ایجاد مقاومت می‌باشند. با این وجود اغلب در مرحله تحقیقاتی یا آزمایشگاهی هستند، اجرای صنعتی آن‌ها نیاز به توسعه و کنترل زیستی دقیق دارد [۸۴].

جدول ۱- مقایسه روش‌های زیستی، شیمیایی و فیزیکی برای کنترل خوردگی میکروبی [۷۲-۸۱].

روش	اثر بخشی	پایداری	ایمنی	هزینه	پیچیدگی اجرا	مزایا	محدودیت‌ها
زیستی	باکتریوفاژها	زیاد	زیاد	متوسط	نسبتاً پیچیده	نیاز به طراحی دقیق	اختصاصی، زیست‌سازگار، ضد بیوفیلم
	باکتری‌های شکارچی	متوسط تا زیاد	زیاد	متوسط	پیچیده	محدود به گرم‌منفی‌ها	عدم مقاومت
	مهار کروم‌سنسینگ	متوسط	زیاد	زیاد	پیچیده	نیاز به دوز پایدار	ضد بیوفیلم
	رقابت زیستی	متوسط	زیاد	کم	متوسط	وابسته به شرایط محیطی	پایدار و ایمن
	بیوفیلم محافظ	متوسط	زیاد	زیاد	زیاد	کاربرد صنعتی دشوار	پایدار و سبز
	آنزیم‌ها	متوسط تا زیاد	متوسط	زیاد	زیاد	ناپایداری محیطی	ضد بیوفیلم
شیمیایی	متابولیت‌ها	متوسط	متوسط	زیاد	متوسط	ناپایدار	غیر شیمیایی
	بیوسایدها	زیاد	کم تا متوسط	کم	متوسط تا زیاد	مقاومت میکروبی	سریع و مؤثر
	مهارکننده‌ها	متوسط تا زیاد	متوسط	متوسط	متوسط	غیر هدمند	محافظت سطحی
	اکسیدکننده‌ها	زیاد	متوسط	متوسط	متوسط	ناپایدار	طیف گسترده
	فتوکاتالیست‌ها	زیاد	متوسط	متوسط	متوسط	نیاز به نور فعال‌کننده	بدون تماس مستقیم
	پوشش ضد میکروبی	زیاد	زیاد	متوسط	زیاد	پیچیده	هزینه تولید و نگهداری
فیزیکی	اشعه فرابنفش	متوسط تا زیاد	کم	زیاد	ساده	نفوذ کم، فقط در سطوح باز	بدون مواد شیمیایی
	فیلتراسیون	متوسط	موقتی	زیاد	متوسط	گرفتگی، نیاز به تعویض	بدون مواد شیمیایی
	الکتروشاک	متوسط	کم	متوسط	پیچیده	محدود به محیط‌های خاص	سریع، غیر شیمیایی
	اولتراسوند	متوسط	کم	زیاد	متوسط	تماس مستقیم لازم	بدون مواد شیمیایی

### چشم‌انداز آینده

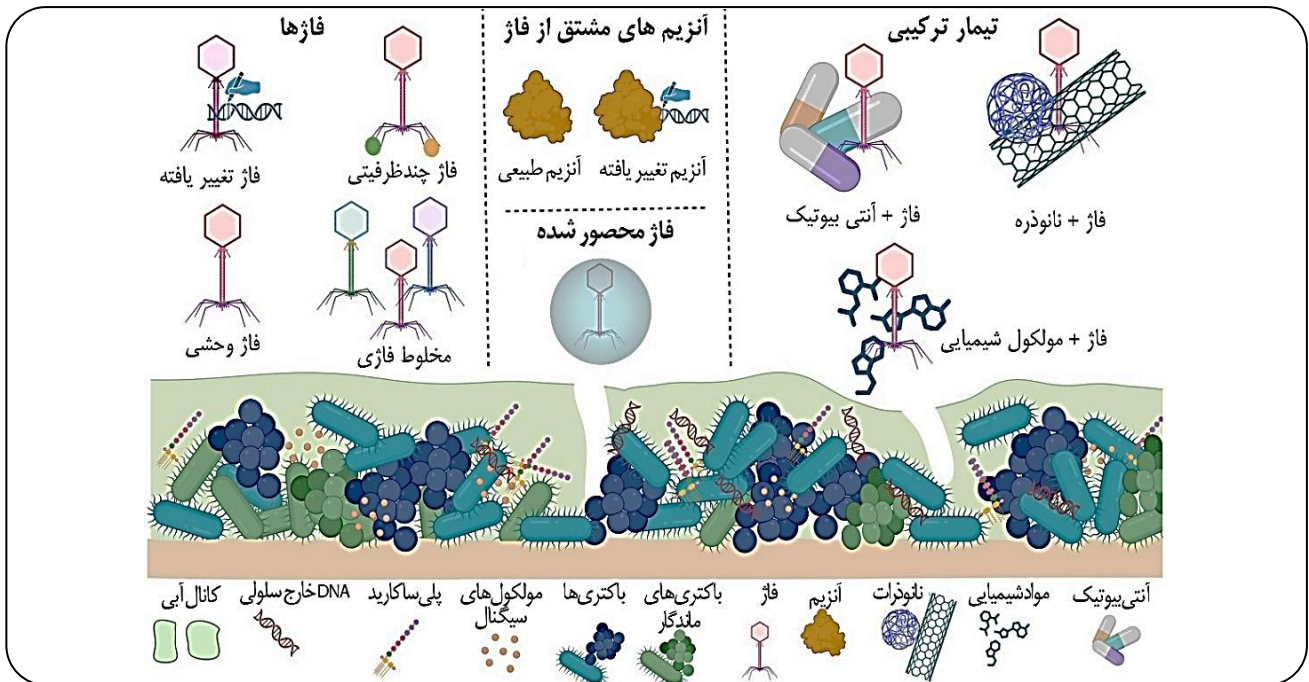
با توجه به افزایش نگرانی‌ها نسبت به ناکارآمدی روش‌های رایج در مقابله با خوردگی میکروبی و بیوفیلم‌های مقاوم در سیستم‌های آبی، به‌کارگیری باکتریوفاژها به‌عنوان یک راهکار نوین زیستی، افق‌های تازه‌ای در مدیریت خوردگی زیستی گشوده است. در افق پیش‌رو، پیشرفت‌هایی چون توسعه فاژهای مهندسی‌شده با کارکردهای چندگانه، تلفیق با فناوری‌های نانو و استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی برای طراحی هدمند، می‌تواند زمینه را برای دستیابی به روش‌هایی با دقت بالا و اثربخشی پایدار فراهم آورد. طراحی کوکتل‌های فاژی اختصاصی برای محیط‌های متفاوت، استفاده از آنزیم‌های فاژی تقویت‌شده و فاژهایی با قابلیت تنظیم پاسخ به شرایط محیطی، فعال‌سازی در حضور عوامل خاص زیستی یا شیمیایی و بهره‌مندی از سامانه‌های رهگیری و خودتعدیل‌گری، از جمله چشم‌اندازهای جذاب قابل تحقق در این حوزه است. همچنین، همگرایی بین رشته‌های میکروبیولوژی، مهندسی محیط زیست، علم مواد و هوش مصنوعی، نقش بسزایی در ارتقاء کارایی و توسعه پروتکل‌های بهینه خواهد داشت.

یکی از نیازهای حیاتی در مسیر انتقال فناوری استفاده از باکتریوفاژها از فاز آزمایشگاهی به مقیاس صنعتی، بهره‌گیری از مدل‌سازی و شبیه‌سازی رایانه‌ای برای درک بهتر دینامیک اثر فاژها بر بیوفیلم و خوردگی است. از مدل‌های ریاضی می‌توان برای پیش‌بینی رفتار انتشار فاژ درون ماتریکس بیوفیلم و نفوذپذیری آن‌ها، بررسی اثربخشی کوکتل‌های فاژی تحت شرایط محیطی متفاوت

و در ترکیب با سایر روش‌های کنترل، شبیه‌سازی حذف بیوفیلم‌ها از سطوح فلزی با در نظر گرفتن هیدرودینامیک جریان و بهینه‌سازی زمان‌بندی و دوز فاژ برای بیشینه‌سازی تخریب بیوفیلم و حداقل‌سازی مقاومت استفاده کرد [۸۶، ۸۵]. همچنین، از الگوریتم‌های یادگیری ماشین و هوش مصنوعی برای پیش‌بینی انتخاب بهترین ترکیب فاژی و طراحی فاژهای مهندسی‌شده با کارایی بالا بهره‌برداری نمود. این راهکارها علاوه بر کاهش هزینه و زمان آزمایش‌های تجربی، امکان ارزیابی رفتار سیستم در شرایط غیرقابل دسترس تجربی را نیز فراهم می‌کنند. تلفیق داده‌های تجربی با نتایج مدل‌سازی، نقش کلیدی در توسعه پروتکل‌های درمانی مبتنی بر فاژها دارد و به اتخاذ تصمیم‌های دقیق در محیط‌های صنعتی کمک می‌کند.

در کنار این نوآوری‌ها، تدوین دستورالعمل‌ها و پروتکل‌های بین‌المللی برای ارزیابی اثربخشی، ایمنی زیستی، پایداری محیطی و ریسک‌سنجی استفاده از فاژها، از الزامات گسترش کاربرد آن‌ها در صنایعی مانند آب، فاضلاب، نفت و گاز خواهد بود.

از منظر اجرایی، آینده به سمت توسعه سامانه‌های کاربردی مقیاس‌پذیر، تولید صنعتی پایدار و مقرون‌به‌صرفه فاژها و بسته‌بندی‌های مناسب برای نگهداری و توزیع آن‌ها در محیط‌های صنعتی پیش خواهد رفت. به علاوه، مطالعات بیشتر در زمینه سازوکار مقاومت باکتری‌ها در برابر فاژها و ارائه راهکارهایی برای غلبه بر این مقاومت، برای تضمین پایداری بلندمدت این راهکارها ضروری خواهد بود.



شکل ۹- راهکارهای از بین بردن بیوفیلم با استفاده از روش‌های مبتنی بر فاز [۴۱].

## نتیجه‌گیری

با درمان ترکیبی فازها با سایر عوامل ضد میکروبی یا ضد بیوفیلمی مانند مواد شیمیایی و نانوذرات می‌تواند به دست آید (شکل ۹). ضروری است که فازهای مناسب برای هر کاربرد شناسایی شوند و عواملی مانند باکتری هدف، محدوده میزبان و پایداری و ایمنی فاز در محیط مورد نظر بررسی شوند. پژوهش‌های آینده با طراحی فازهای مهندسی شده، آنزیم‌های آن‌ها، کوکتل‌های فاز و طراحی تیمارهای ترکیبی و همچنین بکارگیری مدل‌های ریاضی و شبیه‌سازی رایانه‌ای و استفاده از پلتفرم‌های هوش مصنوعی می‌تواند منجر به گسترش دامنه کاربرد فازها شود. ایجاد زیرساخت‌های تولید صنعتی، استانداردسازی روش‌های کاربردی و تدوین چارچوب‌های نظارتی برای ارزیابی ایمنی زیستی و اثرات زیست‌محیطی، از جمله نیازهای حیاتی برای عبور از مرحله تحقیقاتی به بهره‌برداری صنعتی می‌باشد. با تکمیل دانش بنیادی، سرمایه‌گذاری فناورانه و تدوین راهبردهای انتقال فناوری، می‌توان انتظار داشت که کاربرد فازها به‌عنوان راهکاری ایمن، پایدار و هوشمند، جایگاه خود را در مدیریت خوردگی زیستی و کاهش وابستگی به روش‌های شیمیایی تثبیت نماید.

مروری بر تحقیقات منتشر شده مرتبط با کاربرد باکتریوفازها به عنوان ابزاری برای کنترل زیستی نشان می‌دهد که آن‌ها با برخورداری از قابلیت‌هایی چون لیز انتخابی باکتری‌های هدف، تضعیف ماتریکس بیوفیلم از طریق آنزیم‌هایی نظیر اندولیزین‌ها و دپلیمرها، و اختلال در مکانیسم‌های ارتباطی همچون کوئوروم سنسینگ، توانایی بالایی در کنترل مؤثر بیوفیلم‌ها و خوردگی میکروبی دارند. این عوامل، همراه با زیست‌سازگاری و امکان ترکیب با سایر فناوری‌ها، فازها را به ابزار ارزشمندی در مدیریت زیستی سیستم‌های آبی تبدیل کرده‌اند. این روش کنترل زیستی می‌تواند به عنوان جایگزین یا مکمل روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای رفع بحران‌های به وجود آمده توسط بیوفیلم در محیط‌های آبی طبیعی و صنایع بکار گرفته شود. رویکردهایی شامل استفاده از فازهای اختصاصی، چندظرفیتی، کوکتل‌های فاز، فازهای مهندسی شده، فازهای پوشش‌دار شده یا تثبیت شده و آنزیم‌های مشتق شده از فاز برای مقابله با چالش‌های موجود پیشنهاد شده‌اند. به علاوه، اثربخشی بالاتری

## مراجع

[۱] کسرای کرمانشاهی، ر؛ حشمت دهکردی، ا؛ بهرامی بوانی، م؛ علی مددی، ن؛ صبائی فرد، پ؛ خوردگی میکروبی

جلد اول: خصوصیات باکتری‌ها و مکانیسم خوردگی آن‌ها، انجمن خوردگی ایران (۱۴۰۲).

[2] Little B.J., Lee J.S., *Microbiologically Influenced Corrosion: An Update. Int. Mater. Rev.*, **59**(2):

384-393 (2014).

- [3] Puentes-Cala E., Tapia-Perdomo V., Espinosa-Valbuena D., Reyes-Reyes M., Quintero-Santander D., Vasquez-Dallos S., Salazar H., Santamaría-Galvis P., Silva-Rodríguez R., Castillo-Villamizar G., [Microbiologically Influenced Corrosion: The Gap in the Field](#). *Front. Environ. Sci.*, **10**: 924842 (2022).
- [4] Dou W., Xu D., Gu T., [Biocorrosion Caused by Microbial Biofilms Is Ubiquitous Around Us](#). *Microb. Biotechnol.*, **14**(3): 803-805 (2021).
- [۵] کسری کرمانشاهی، روحا؛ قشقایی، طاهره، بررسی روش‌های جدید تشخیص و شمارش باکتری‌های اجیاکننده سولفات و ویژگی‌های فیزیولوژیک مؤثر در شناسایی آنها، *نشریه علوم و مهندسی خوردگی*، **۲**(۱): ۲۳ (۱۳۹۱).
- [6] Telegdi J., Shaban A., Trif L., [Review on the Microbiologically Influenced Corrosion and the Function of Biofilms](#). *Int. J. Corros. Scale Inhib.*, **9**(1): 1-33 (2020).
- [7] Kumar A.S., Sivakumar L., Rajadesingu S., Sathish S., Malik T., Parthipan P., [Sustainable Corrosion Inhibition Approaches for the Mitigation of Microbiologically Influenced Corrosion- A Systematic Review](#). *Front. Mater.*, **12** (2025).
- [۸] قهرمان افشار، مجید؛ قاسمی نژاد، حسین؛ اسماعیل پور، محسن؛ بررسی خوردگی میکروبی در آب چرخه خنک کن نیروگاه شهید بهشتی لوشان، *مجله مواد نوین*، **۱۳**(۴۹): ۱۵ تا ۲۶ (۱۴۰۱).
- [۹] قهرمان افشار، مجید؛ اسماعیل پور، محسن؛ قاسمی نژاد، حسین؛ اسماعیلی، نرگس، سنجش و تعیین مشخصه خوردگی متأثر از عوامل میکروبی در آب چرخه خنک کن نیروگاه شهید مفتح، *مجله مواد نوین*، **۱۳**(۵۰): ۴۶ تا ۵۹ (۱۴۰۱).
- [۱۰] قهرمان افشار، مجید؛ اسماعیل پور، محسن؛ قاسمی نژاد، حسین، خوردگی میکروبی متأثر از عوامل محیط زیستی در آب چرخه خنک کن نیروگاه حرارتی بندرعباس. *نشریه محیط شناسی*، **۴۹**(۴): ۳۸۹ تا ۴۰۰ (۱۴۰۲).
- [11] Waqas U., Farhan A., Haider A., Kumar U., Raza A., [Advancements in Biofilm Formation and Control in Potable Water Distribution Systems: A Comprehensive Review and Analysis of Chloramine Decay in Water Systems](#). *J. Environ. Chem. Eng.*, **11**: 111377 (2023).
- [12] Little B., Wagner P., Mansfeld F., [An Overview of Microbiologically Influenced Corrosion](#). *Electrochim. Acta.*, **37**(12): 2185-2194 (1992).
- [13] Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. [Microbial Biofilms](#). *Annu. Rev. Microbiol.*, **49**: 711-745 (1995).
- [۱۴] مهدوی، منیژه؛ کسری کرمانشاهی، روحا؛ جلالی، م، تشکیل بیوفیلم *Salmonella enteritidis* روی سطوح گوناگون در صنایع غذایی، *علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، **۳**(۲): ۸۱ تا ۸۴ (۱۳۸۷).
- [15] Mah T.F.C., O'Toole G.A. [Mechanisms of Biofilm Resistance to Antimicrobial Agents](#). *Trends in Microbiol.*, **9**(1): 34-39 (2001).
- [16] Shakeri S., Kermanshahi R.K., Moghaddam M.M., Emtiazi G., [Assessment of Biofilm Cell Removal and Killing and Biocide Efficacy Using the Microtiter Plate Test](#). *Biofouling.*, **23**(2): 79-86 (2007).
- [17] Chang C., Yu X., Guo W., Guo C., Guo X., Li Q., Zhu Y., [Bacteriophage-Mediated Control of Biofilm: A Promising New Dawn for the Future](#). *Front. Microbiol.*, **13**: 825828 (2022).
- [18] Waters C.M., Bassler B.L., [Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria](#). *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **21**(1): 319-346 (2005).

- [19] Davies D.G., Parsek M.R., Pearson J.P., Iglewski B.H., Costerton J.W., Greenberg E.P., [The Involvement of Cell-to-Cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm](#). *Science.*, **280(5361)**: 295-298 (1998).
- [20] De Kievit T.R., Gillis R., Marx S., Brown C., Iglewski B.H., [Quorum-Sensing Genes in \*Pseudomonas aeruginosa\* Biofilms: Their Role and Expression Patterns](#). *Appl. Environ. Microbiol.*, **67(4)**: 1865-1873 (2001).
- [21] O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R., [Biofilm Formation as Microbial Development](#). *Annu. Rev. Microbiol.*, **54(1)**: 49-79 (2000).
- [22] Coquant G., Aguanno D., Pham S., Grellier N., Thenet S., Carrière V., Grill J.P. Seksik P., [Gossip in the Gut: Quorum Sensing, a New Player in the Host-Microbiota Interactions](#). *World J. Gastroenterol.*, **27(42)**: 7247 (2021).
- [23] Behzadnia A., Moosavi-Nasab M., Oliyaei N., [Anti-Biofilm Activity of Marine Algae-Derived Bioactive Compounds](#). *Front. Microbiol.*, **15**: 1270174 (2024).
- [24] Angell P., [Understanding Microbially Influenced Corrosion as Biofilm-Mediated Changes in Surface Chemistry](#). *Curr. Opin. Biotechnol.*, **10(3)**: 269-272 (1999).
- [25] Lou Y., Chang W., Cui T., Wang J., Qian H., Ma L., Hao X., Zhang D., [Microbiologically Influenced Corrosion Inhibition Mechanisms in Corrosion Protection: A Review](#). *Bioelectrochemistry.*, **141**: 107883 (2021).
- [26] Qi P., Zeng Y., Zhang D., Sun Y., Wang P., [The Biofilm-Metal Interface: A Hotspot for Microbiologically Influenced Corrosion](#). *Cell Rep. Phys. Sci.*, **6**: 102500 (2025).
- [27] Pires D.P., Melo L.D., Azeredo J., [Understanding the Complex Phage-Host Interactions in Biofilm Communities](#). *Annu. Rev. Virol.*, **8(1)**: 73-94 (2021).
- [28] Xu D., Jia R., Li Y., Gu T., [Advances in the Treatment of Problematic Industrial Biofilms](#). *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **33**: 1-10 (2017).
- [29] Harper D.R., Parracho H.M., Walker J., Sharp R., Hughes G., Werthén M., Lehman S., Morales S., [Bacteriophages and Biofilms](#). *Antibiotics.*, **3(3)**: 270-284 (2014).
- [30] Motlagh A.M., Bhattacharjee A.S., Goel R., [Biofilm Control with Natural and Genetically-Modified Phages](#). *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **32**: 67 (2016).
- [31] Dion M.B., Oechslin F., Moineau S., [Phage Diversity, Genomics and Phylogeny](#). *Nat. Rev. Microbiol.*, **18(3)**: 125-138 (2020).
- [32] Amankwah S., Abdella K., Kassa T., [Bacterial Biofilm Destruction: A Focused Review on the Recent Use of Phage-Based Strategies with Other Antibiofilm Agents](#). *Nanotechnol. Sci. Appl.*, **14**: 161-177 (2021).
- [33] Reyneke B., Havenga B., Waso-Reyneke M., Khan S., Khan W., [Benefits and Challenges of Applying Bacteriophage Biocontrol in the Consumer Water Cycle](#). *Microorganisms.*, **12(6)**: 1163 (2024).
- [34] Mathieu J., Yu P., Zuo P., Da Silva M.L., Alvarez P.J., [Going Viral: Emerging Opportunities for Phage-Based Bacterial Control in Water Treatment and Reuse](#). *Acc. Chem. Res.*, **52(4)**: 849-857 (2019).

- [35] Kim S.M., Heo H.R., Kim C.S., Shin H.H., [Genetically Engineered Bacteriophages as Novel Nanomaterials: Applications Beyond Antimicrobial Agents](#). *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **12**: 1319830 (2024).
- [36] Kushkevych I., Dordević D., Vítězová M., Rittmann S.K.M., [Environmental Impact of Sulfate-Reducing Bacteria, Their Role in Intestinal Bowel Diseases, and Possible Control by Bacteriophages](#). *Appl. Sci.*, **11(2)**: 735 (2021).
- [37] Eghbalpoor F., Gorji M., Alavigh M.Z., Moghadam M.T., [Genetically Engineered Phages and Engineered Phage-Derived Enzymes to Destroy Biofilms of Antibiotics Resistance Bacteria](#). *Heliyon.*, **10(15)**: e35666 (2024).
- [38] Rajabi Z., Kermanshahi R., Dallal M.M.S., Erfani Y., Ranjbar R., [Isolation of the Bacteriophages Inhibiting the Expression of the Genes Involved in Biofilm Formation by \*Streptococcus mutans\*](#). *Jundishapur J. Microbiol.*, **14(1)**: 7 (2021).
- [39] Rajabi Z., Soltan Dallal M.M., Afradi M.R., Erfani Y., Alinejad D., Ranjbar R., Kasra-Kermanshahi R., [Comparison of the Effect of Extracted Bacteriocin and Lytic Bacteriophage on the Expression of Biofilm Associated Genes in \*Streptococcus mutans\*](#). *Adv. Mater. Sci. Eng.*, **2022(1)**: 5035280 (2022).
- [40] Harada L.K., Silva E.C., Campos W.F., Del Fiol F.S., Vila M., Dąbrowska K., Krylov V.N., Balcão V.M., [Biotechnological Applications of Bacteriophages: State of the Art](#). *Microbiol. Res.*, **212**: 38-58 (2018).
- [41] Gliźniewicz M., Miłek D., Olszewska P., Czajkowski A., Serwin N., Cecerska-Heryć E., Dołęgowska B., Grygorcewicz B., [Advances in Bacteriophage-Mediated Strategies for Combating Polymicrobial Biofilms](#). *Fron. Microbiol.*, **14**: 1320345 (2024).
- [42] Hanlon G.W., Denyer S.P., Olliff C.J., Ibrahim L.J., [Reduction in Exopolysaccharide Viscosity as an Aid to Bacteriophage Penetration through \*Pseudomonas aeruginosa\* Biofilms](#). *Appl. Environ. Microbiol.*, **67(6)**: 2746-2753 (2001).
- [43] Corbin B.D., McLean R.J., Aron G.M., [Bacteriophage T4 Multiplication in a Glucose-Limited \*Escherichia coli\* Biofilm](#). *Can. J. Microbiol.*, **47(7)**: 680-684 (2001).
- [44] Zhang G., Guo Z., Liu S., Yang Q., Yuan Y., Guo K., Wang W., Wang H., Feng J., Chen W., Sun Y., Wang S., [Bacteriophage Application in Inhibiting Corrosion-Producing Bacteria](#). *BMC Microbiol.*, **25(1)**: 241 (2025).
- [45] Summer E.J., Liu M., Summer N.S., Gill J.J., Janes C., Young R., [Phage of Sulfate Reducing Bacteria Isolated from High Saline Environment](#). *NACE CORROSION*, NACE-11222 (2011).
- [46] Afshar M.G., Azimi M., Habibi N., Masihi H., Esameilpour M., [Batch and Continuous Bleaching Regimen in the Cooling Tower of Montazer Ghaem Power Plant](#). *J. Hazard. Mater. Adv.*, **11**: 100339 (2023).
- [47] Eydal H. S., Jägevall S., Hermansson M., Pedersen K., [Bacteriophage Lytic to \*Desulfovibrio aespoeensis\* Isolated from Deep Groundwater](#). *ISME J.*, **3(10)**: 1139-1147 (2009).
- [48] Baldwin D., Summer N.S., [Prevention and Remediation of Petroleum Reservoir Souring and Corrosion by Treatment with Virulent Bacteriophage](#). Patent number: US8168419 B2 (2012).

- [49] Summer N.S., Summer E.J., [Process for Remediating Biofouling in Water Systems with Virulent Bacteriophage](#). Patent number: US8241498B2 (2012).
- [50] do Carmo Santos A.J., Dias R.S., Silva J.D., de Paula Sousa M., Clarindo W.R., da Silva C.C., de Paula S.O., [Two Marine Sulfur-Reducing Bacteria Co-Culture is Essential for Productive Infection by a T4-Like \*Escherichia coli\*-Infecting Phage](#). *Heliyon.*, **10(18)**: e37934 (2024).
- [51] Sanchez-Rosario R., Garcia J., Rodriguez V., Schug K.A., Hildenbrand Z.L., Bernal R.A., [Using Bacteriophages to Treat Resilient Bacteria Found in Produced Water](#). *Water.*, **16(6)**: 797 (2024).
- [52] Sarat N., Salim A., Pal S., Subhash S., Prasad M., Nair B.G., Madhavan A., [Mitigation of Biogenic Methanethiol Using Bacteriophages in Synthetic Wastewater Augmented with \*Pseudomonas putida\*](#). *Sci. Rep.*, **13(1)**: 19480 (2023).
- [53] Pedramfar A., Beheshti Maal K., Mirdamadian S.H., [Phage Therapy of Corrosion-Producing Bacterium \*Stenotrophomonas maltophilia\* Using Isolated Lytic Bacteriophages](#). *Anti-Corros. Methods Mater.*, **64(6)**: 607-612 (2017).
- [54] Gino E., Starosvetsky J., Kurzbaum E., Armon R. [Combined Chemical-Biological Treatment for Prevention/Rehabilitation of Clogged Wells by an Iron-Oxidizing Bacterium](#). *Environ. Sci. Technol.*, **44(8)**: 3123-3129 (2010).
- [55] Goldman G., Starosvetsky J., Armon R., [Inhibition of Biofilm Formation on UF Membrane by Use of Specific Bacteriophages](#). *J. Membr. Sci.*, **342(1-2)**: 145-152 (2009).
- [56] Ma W., Panecka M., Tufenkji N., Rahaman M.S., [Bacteriophage-Based Strategies for Biofouling Control in Ultrafiltration: In Situ Biofouling Mitigation, Biocidal Additives and Biofilm Cleanser](#). *J. Colloid Interface Sci.*, **523**: 254-265 (2018).
- [57] Bhattacharjee A.S., Choi J., Motlagh A.M., Mukherji S.T., Goel R., [Bacteriophage Therapy for Membrane Biofouling in Membrane Bioreactors and Antibiotic-Resistant Bacterial Biofilms](#). *Biotechnol. Bioeng.*, **112(8)**: 1644-1654 (2015).
- [58] Maji K., Lavanya M., [Microbiologically Influenced Corrosion in Stainless Steel by \*Pseudomonas aeruginosa\*: An Overview](#). *J. Bio- Tribo-Corros.*, **10(1)**: 16 (2024).
- [59] Scarascia G., Yap S.A., Kaksonen A.H., Hong P.Y., [Bacteriophage Infectivity Against \*Pseudomonas aeruginosa\* in Saline Conditions](#). *Front. Microbiol.*, **9**: 875 (2018).
- [60] Magin V., Garrec N., Andrés Y., [Selection of Bacteriophages to Control In Vitro 24 h Old Biofilm of \*Pseudomonas aeruginosa\* Isolated from Drinking and Thermal Water](#). *Viruses.*, **11(8)**: 749 (2019).
- [61] Ji M., Liu Z., Sun K., Li Z., Fan X., Li Q., [Bacteriophages in Water Pollution Control: Advantages and Limitations](#). *Front. Environ. Sci. Eng.*, **15**: 1-15 (2021).
- [62] Withey S., Cartmell E., Avery L.M., Stephenson T., [Bacteriophages—Potential for Application in Wastewater Treatment Processes](#). *Sci. Total Environ.*, **339(1-3)**: 1-18 (2005).
- [63] Javaherdashti R., Alasvand K., “[Biological Treatment of Microbial Corrosion, Opportunities and Challenges](#)”. Elsevier Science (2019).
- [64] Ferriol-González C., Domingo-Calap P., [Phages for Biofilm Removal](#). *Antibiotics.*, **9(5)**: 268 (2020).

- [65] Lu T.K., Collins J.J., [Dispersing Biofilms with Engineered Enzymatic Bacteriophage](#). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **104(27)**: 11197-11202 (2007).
- [66] Pei R., Lamas-Samanamud G.R., [Inhibition of Biofilm Formation by T7 Bacteriophages Producing Quorum-Quenching Enzymes](#). *Appl. Environ. Microbiol.*, **80(17)**: 5340-5348 (2014).
- [67] Zhang Y., Hu Z., [Combined Treatment of \*Pseudomonas aeruginosa\* Biofilms with Bacteriophages and Chlorine](#). *Biotechnol. Bioeng.*, **110(1)**: 286-295 (2013).
- [68] Chhibber S., Bansal S., Kaur S., [Disrupting the Mixed-Species Biofilm of \*Klebsiella pneumoniae\* B5055 and \*Pseudomonas aeruginosa\* PAO Using Bacteriophages Alone or in Combination with Xylitol](#). *Microbiology*, **161(Pt\_7)**: 1369-1377 (2015).
- [69] Yu P., Wang Z., Marcos-Hernandez M., Zuo P., Zhang D., Powell C., Pan A.Y., Villagrán D., Wong M.S. Alvarez P.J., [Bottom-Up Biofilm Eradication Using Bacteriophage-Loaded Magnetic Nanocomposites: A Computational and Experimental Study](#). *Environ. Sci.: Nano*, **6(12)**: 3539-3550 (2019).
- [70] Jurač K., Nabergoj D., Podgornik A., [Bacteriophage Production Processes](#). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **103**: 685-694 (2019).
- [71] Li J., Zhao F., Zhan W., Li Z., Zou L., Zhao Q., [Challenges for the Application of Bacteriophages as Effective Antibacterial Agents in the Food Industry](#). *J. Sci. Food Agric.*, **102(2)**: 461-471 (2021).
- [72] Zuo P., Metz J., Yu P., Alvarez P.J., [Biofilm-Responsive Encapsulated-Phage Coating for Autonomous Biofouling Mitigation in Water Storage Systems](#). *Water Res.*, **224**: 119070 (2022).
- [73] Anany H., Chen W., Pelton R., Griffiths M.W., [Biocontrol of \*Listeria monocytogenes\* and \*Escherichia coli\* O157: H7 in Meat by Using Phages Immobilized on Modified Cellulose Membranes](#). *Appl. Environ. Microbiol.*, **77(18)**: 6379-6387 (2011).
- [۷۴] کسرای کرمانشاهی، ر؛ بهرامی بوانی، م؛ علی مددی، ن؛ حشمت دهکردی، ا؛ صبائی فرد، پ؛ خوردگی میکروبی جلد دوم: نقش باکتری‌های عامل خوردگی در محیط‌های گوناگون، بدن انسان (ایمپلنت‌ها)، محیط زیست (آلاینده‌ها) و کنترل آن‌ها، انجمن خوردگی ایران، (۱۴۰۲).
- [۷۵] خانی، مجتبی؛ بهرامی، علی؛ مومنی، وحید، خوردگی میکروبی و روش‌های پیشگیری و کنترل آن با استفاده از پوشش‌ها و عوامل زیستی، مطالعات در دنیای رنگ، **۴(۴): ۳ تا ۲۰** (۱۳۹۳).
- [76] Knisz J., Eckert R., Gieg L.M., Koerdt A., Lee J.S., Silva E.R., Skovhus T.L., An Stepec B.A., Wade S.A., [Microbiologically Influenced Corrosion—More than Just Microorganisms](#). *FEMS Microbiol. Rev.*, **47(5)**: fuad041 (2023).
- [77] Zhang H., Zhu S., Yang J., Ma A., [Advancing Strategies of Biofouling Control in Water-Treated Polymeric Membranes](#). *Polymers*, **14(6)**: 1167 (2022).
- [78] Wang D., Zhou E., Xu D., Lovley D.R., [Burning Question: Are There Sustainable Strategies to Prevent Microbial Metal Corrosion?](#) *Microb. Biotechnol.*, **16(11)**: 2026-2035 (2023).
- [79] Agún S., Fernández L., Rodríguez A., García P., [Phage Lytic Proteins: A Natural Approach to Agro-Food Safety](#). *Food Sci. Hum. Well.*, **14** (2024).

- [80] Jia Y., Qi B., Zhao J., Guo X., Dong W., Lv X., Dai Z., Yuan Y., [Recent Challenges and Research Progress in Microbiologically Influenced Corrosion in Drinking Water Distribution Systems](#). *Environ. Technol. Innov.*, **38**: 104054 (2025).
- [81] Dalmora G.P.V., Borges Filho E.P., Conterato A.A.M., Roso W.S., Pereira C.E., Dettmer A., [Methods of Corrosion Prevention for Steel in Marine Environments: A Review](#). *Results Surf. Interfaces.*, **18**: 100430 (2025).
- [82] Lv X., Wang C., Liu J., Sand W., Nabuk Etim I.I., Zhang Y., Xu A., Duan J., Zhang R., [The Microbiologically Influenced Corrosion and Protection of Pipelines: A Detailed Review](#). *Materials.*, **17(20)**: 4996 (2024).
- [83] Johnstone J.R., Shema S.M., [Mitigation of Microbiologically Influenced Corrosion in the Presence of Electromagnetic Field](#). *SPE International Conference on Oilfield Chemistry*, Galveston, Texas, USA, April 9-10, D011S002R004 (2025).
- [84] Geredew Kifelew L., Mitchell J.G., Speck P., [Mini-Review: Efficacy of Lytic Bacteriophages on Multispecies Biofilms](#). *Biofouling.*, **35(4)**: 472-481 (2019).
- [85] Carneiro C.R., Leite N.N., de Abreu Oliveira A.V., dos Santos Oliveira M., Wischral D., Eller M.R., Machado S.G., de Oliveira E.B., Pena W.E.L., [Mathematical Modeling for the Prediction of Biofilm Formation and Removal in the Food Industry as Strategy to Control Microbiological Resistance](#). *Food Res. Int.*, **2024**: 115248 (2024).
- [86] Styles K.M., Brown A.T., Sagona A.P., [A Review of Using Mathematical Modeling to Improve Our Understanding of Bacteriophage, Bacteria, and Eukaryotic Interactions](#). *Front. Microbiol.*, **12**: 724767 (2021).