مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۷۲-۶۶

غنی سازی و جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک علیه ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک

مهرانگیز خواجه کرم الدین[۱]، بی بی صدیقه فضلی بزاز [۲]، مرضیه ابراهیمی [۳]، کیارش قزوینی [۱]، منور افضل آقایی [۴]، محبوبه نادری نسب[۱]، زهرا مشکات[۱*]، سعید عامل جامه دار[۱]

۱) گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی ، مرکز تحقیقات میکروب شناسی و ویروس شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۲) گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳) پزشکی عمومی
۴) گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
نویسنده رابط: زهرا مشکات، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی ، مرکز تحقیقات میکروب شناسی و ویروس شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲۴۵۳ meshkatz@mums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۳/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۰/۱۰

چکیده:

زمینه و اهداف: یکی از شایع‌ترین مشکلات در بیمارستان‌ها ظهور عفونت‌های مقاوم به عوامل ضد میکروبی است. باکتریوفاژها هیچ فعالیتی علیه سلول‌های حیوانی و گیاهی ندارند و تنها در باکتری‌ها قادر به رشد هستند. بنابراین می توانند بدون زیان رساندن به سلول‌های آلوده به باکتری، به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک استفاده شوند. هدف از این مطالعه غنی سازی و جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک علیه ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک بود.

روش بررسی: نمونه‌های بالینی بیماران سرپائی و بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان قائم (عج) مشهد جمع آوری شد. پس از کشت، تعیین هویت و مقاومت آنتی بیوتیکی، تعداد ۴۳ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک شناسایی گردید. باکتریوفاژهای لیتیک مناسب از فاضلاب تصفیه شده حوضچه سوم بخش سپتیک همان بیمارستان جداسازی شد. اثر باکتریسیدی آنها در دو فاز مایع و جامد بر روی ایزوله‌های مقاوم و جداسازی شده، بررسی گردید. همه نمونه‌ها برای غلظت‌های مختلف فاژ تحت شرایط مختلف سه بار ارزیابی شدند. نتایج با استفاده از آزمون آماری من ویتنی تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: در هر دو روش لوله و کشت جامد دو لایه، باکتریوفاژها در غلظت بالا، اثرات کامل باکتریسید بر روی باکتری‌های جداسازی شده مقاوم به آنتی بیوتیک داشتند ($p<0.0001$).

نتیجه گیری : نتایج نشان داد اثرات باکتریسید باکتریوفاژها کفایت بالایی دارد و در غلظت‌های بالای فاژی این اثرات بیشتر نمایان می‌شود.

کلید واژه ها: باکتریوفاژ، *پسودوموناس آئروژینوزا* ، عامل ضد میکروبی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه:

باکتریوفاژها یا فاژها دسته‌ای از ویروس‌ها هستند که قادرند باکتری‌ها را آلوده کنند و از بین ببرند (۱). بیش از یک قرن پیش اولین گزارش در مورد شناخت باکتریوفاژها منتشر شد. چنانکه در سال ۱۸۹۸ Hankin عواملی را در آب رودخانه‌ای در هند شناسایی کرد که قادر به گذشتن از فیلترهای بسیار ریز بودند و خواص آنتی باکتریال از خود نشان دادند (۲). مطالعه بر روی باکتریوفاژها ابتدا در راستای کاربرد آنها به عنوان ابزاری برای مقابله با عفونت‌های باکتریال شروع شد. پس از مدتی با کشف پنی‌سیلین و سایر آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف، این کاربرد فاژها کم کم به فراموشی سپرده شد (۳، ۴). اما، با مشخص شدن روش تکثیر فاژها و توانایی آنها در کشتن باکتری‌ها در پایان چرخه عفونت، احتمال استفاده از آنها را به عنوان عوامل درمانی قوت بخشید(۵).

در حال حاضر استفاده از فاژها به منظور درمان عفونت در بسیاری از عفونت‌های مقاوم به درمان، به‌طور موفقیت آمیزی مورد استفاده قرار گرفته‌است. حتی در برخی از کشورها از جمله گرجستان، پزشکان فاژها را به فراوانی در بخش‌های اطفال، جراحی و سوختگی به کار می‌برند (۶،۷).

سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها یک مشکل رو به افزایش است و *پسودوموناس آئروژینوزا* یکی از مقاوم‌ترین گونه‌ها می‌باشد(۸). بیش از ۳۰ سال است که هیچ عامل ضد پسودوموناسی جدید تولید نشده‌است. اکنون زمان آن رسیده‌است که راهکارهای دیگری مانند فاژتراپی مورد توجه قرار گیرد (۸، ۹).

پسودوموناس آئروژینوزا باعث ۱۰٪ تا ۲۰٪ عفونت‌های بیمارستانی می‌شود و غالبا از افراد مبتلا به سرطان یا افرادی که دچار سوختگی‌های وسیع شده‌اند، جداسازی شده است. این باکتری می‌تواند باعث عفونت در همه بافت‌ها و نیز در نقاط مختلف بدن شود. مرگ و میر در افراد مبتلا به نقص ایمنی حدود ۸۰٪ است. همچنین پنومونی ناشی از این باکتری باعث ۷۰٪ مرگ و میر در بیماران می‌شود. این میزان مرگ و میر در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌های ایجادکننده پنومونی که در آنها مرگ و میر بیماران حدود ۳۵٪است، بسیار بالاست. *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌تواند باعث بروز اسهال اپیدمیک در کودکان، عفونت‌های چشمی، استئومیلیت، عفونت‌های پوستی، عفونت در گوش، باکتریمی، اندوکاردیت و مننژیت شود (۱۰).

بنابراین، توجه به باکتریوفاژها و استفاده از آنها در درمان عفونت‌های مقاوم به درمان آنتی‌بیوتیکی می‌تواند امیدی تازه در راه درمان آنها باشد. هدف از انجام این مطالعه ضمن جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک و غنی‌سازی آن، تعیین اثرات ضد میکروبی آنها بر روی *پسودوموناس آیروژینوزای* جداسازی شده مقاوم به آنتی بیوتیک بود.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه بر روی نمونه‌های مختلف خلط، ادرار، ترشح واژن، ترشح گوش، و ترشح زخم بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک ویژه بیمارستان قائم (عج) مشهد و نیز بیماران بستری در بخش‌های مختلف این بیمارستان انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط‌های کشت آگارخوندار و مک‌کانگی آگار کشت شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. تشخیص *پسودوموناس آئروژینوزا* با کشت کلنی مشکوک بر روی محیط‌های افتراقی مختلف و انجام تست‌های بیوشیمیایی انجام شد. بررسی حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک‌ها (پنی سیلین ۳۰µg، جنتا مایسین ۱۰µg، توبرامایسین ۱۰µg، مایسین ۳۰µg، ریفامپین ۳۰µg، نالیدیکسیک اسید ۳۰µg، کلرامفنیکل ۳۰µg، آموکسی سیلین ۲۵µg، سفالکسین ۳۰µg، نیتروفورانتوئین ۳۰۰µg، سولفامتوکسازول ۲۵µg، تتراسیکلین ۳۰µg، آمپی سیلین ۱۰µg، داکسی سایکلین ۳۰µg شرکت پادتن طب، تهران، ایران) به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون، بر طبق عدم رشد اندازه‌گیری و با استفاده از جدول Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) نتایج به‌صورت حساس و مقاوم یادداشت گردید (۱۰).

جهت جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک از فاضلاب تصفیه شده حوضچه سوم بخش سپتیک بیمارستان قائم (عج) مشهد استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا محیط کشت نوترینت براث با غلظت ۱۰x تهیه شد. ۵ میلی لیتر از آن با ۴۵ میلی لیتر از فاضلاب تصفیه شده مخلوط گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه ۴ ساعته *پسودوموناس آئروژینوزا* و چند قطره MgSO4 (۱۰٪ w/v) به لوله حاوی محیط کشت و فاضلاب تصفیه شده افزوده شد. پس از مخلوط کردن محتویات لوله، در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید (۱۰، ۱۱).

Archive of SID

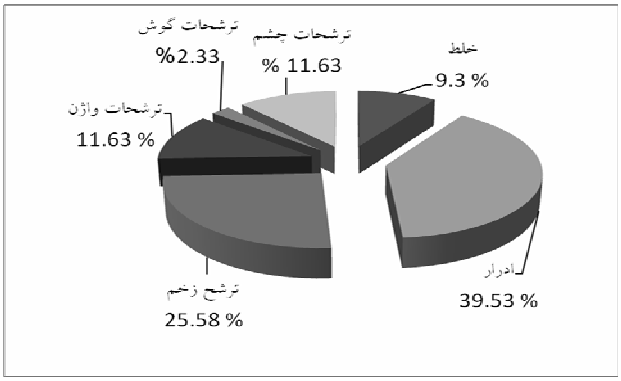
www.SID.ir

جداسازی فاژها با روش کلرفرم انجام شد. بدین ترتیب که ۳ میلی‌لیتر کلروفرم به محتویات هر لوله اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر و ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفوژ شد. فاز رویی حاوی سوسپانسیون فاژ فاضلاب به‌صورت استریل جمع آوری شد. مرحله کلروفرم چندین بار تکرار شد تا سوسپانسیون نسبتا خالص بدست آمد. پس از کنترل سوسپانسیون از نظر عدم آلودگی به باکتری‌های مختلف، در ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شد. لازم به ذکر است که برای تهیه باکتریوفاژ به میزان مورد نیاز این مراحل چندین بار تکرار گردید (۱۰، ۱۱). پس از تهیه باکتریوفاژ مورد نیاز عیار (تعداد ذرات) سوسپانسیون فاژی تعیین شد. بدین منظور ابتدا رقت های سریال از 10^{-1} تا 10^{-10} تهیه شد. پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به ۳ میلی‌لیتر آگار ذوب شده، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از کشت ۴ ساعته باکتری افزوده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس پلاک‌ها در ظروف پتری دارای پلاک قابل شمارش، شمارش گردید. سرانجام عیار سوسپانسیون فاژی محاسبه گردید (۱۰، ۱۱).

جهت بررسی اثرات باکتریسیدی باکتریوفاژهای جداسازی شده بر روی *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به آنتی بیوتیک از دو روش لوله و کشت جامد دولایه استفاده شد (۱۲). ابتدا غلظت‌های فاژی کم، متوسط و زیاد (به ترتیب کمتر از 10^{4}، 10^{4} تا 10^{7}، بیشتر از 10^{7} فاژ در هر میلی‌لیتر) تهیه شد. در روش کشت لوله، ابتدا کشت مایع تازه از باکتری تهیه شد و پس از مقایسه کدورت سوسپانسیون باکتریایی با استاندارد ۰،۵ مک فارلند، مقدار ۱ میلی‌لیتر از باکتری رقیق شده به غلظت‌های فاژی تهیه شده، اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت از محتویات لوله‌ها بر روی محیط کشت ترپیتون آگار کشت شد. کشت‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون از نظر رشد باکتری بررسی شدند. در روش کشت جامد دو لایه، غلظت‌های مختلف فاژی و نیز کشت مایع تازه باکتری همانند روش قبل تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت فاژ و ۱۰۰ میکرولیتر از کشت تازه باکتریایی به لوله حاوی ۳ میلی لیتر محیط آگار ذوب شده با درجه حرارت حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید. پس از مخلوط کردن به‌طور سریع بر روی ظرف پتری کشت باکتری حاوی تریپتون آگار اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که در هر دو روش از ظرف پتری حاوی کشت باکتری فاقد فاژ به عنوان شاهد استفاده گردید. نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها:

از نمونه‌های مختلف جمع آوری شده از بیماران تعداد ۴۳ مورد ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* بدست آمد. درصد فراوانی ایزوله‌ها به تفکیک نمونه بیماران در نمودار ۱ نشان داده شده است.

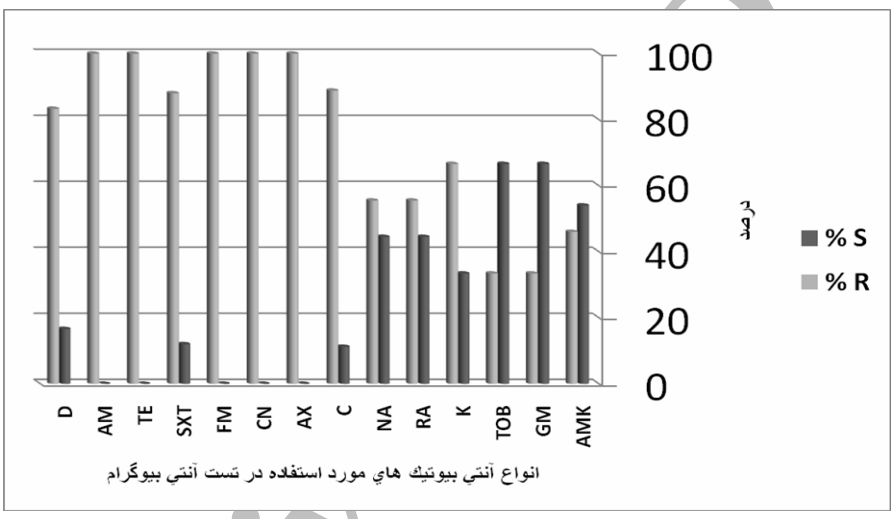


نمودار۱: فراوانی جداسازی *پسودوموناس آئروژینوزا* به تفکیک نوع نمونه بیماران

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج کلی مقاومت دارویی ایزوله‌ها بدین شرح بود: مقاومت به آمیکاسین در۲۰ ایزوله (۴۶/۵۱ ٪)، مقاومت به جنتامایسین در ۱۴ ایزوله (۳۲/۵۶٪)، مقاومت به توبرامایسین در ۱۴ ایزوله (۳۲/۵۶ ٪)، مقاومت به کانامایسین در ۲۹ ایزوله (۶۷/۴۴٪)، مقاومت به ریفامپین در ۲۴ ایزوله (۵۵/۸۱٪)، مقاومت به نالیدیکسیک اسید در ۲۴ ایزوله (۵۵/۸۱٪)، مقاومت به کلرامفنیکل در ۳۸ ایزوله (۸۸/۳۷٪)، مقاومت به آموکسی سیلین در ۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به سفالکسین در ۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به نیتروفورانتوئین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به سولفامتوکسازول در ۳۸ ایزوله (۸۸/۳۷٪)، مقاومت به تتراسیکلین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به آمپی سیلین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به داکسی سایکلین در ۳۶ ایزوله (۸۳/۷۲٪) (نمودار ۲).



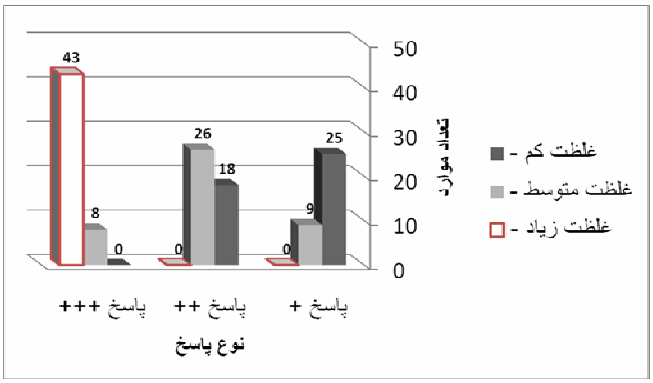
نمودار ۲: درصد حساسیت و مقاومت ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* ، جدا شده از نمونه بیماران به آنتی بیوتیک‌های مختلف (S : حساسیت، R : مقاومت)

آمیکاسین (AMK)،جنتامایسین (GM)، توبرامایسین (TOB)، کانامایسین (K)، ریفامپین (RA)، نالیدیکسیک اسید (NA)،کلرامفنیکل (C)،آموکسی‌سیلین (AX)،سفالکسین (CN)، نیتروفورانتوئین (FM)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)،تتراسیکلین (TE)،آمپی سیلین (AM)، داکسی سیکلین (D)

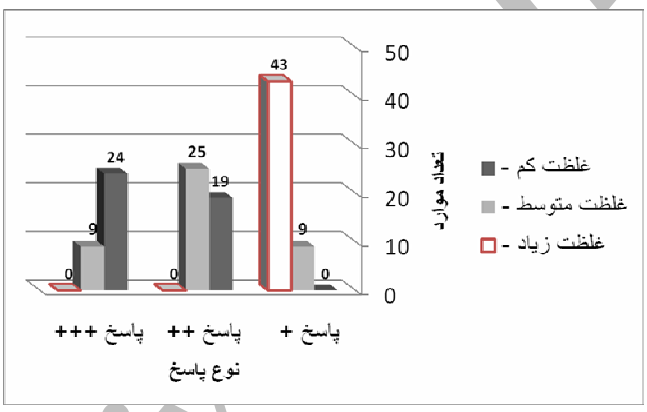
اثرات فاژها بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* ، بدین ترتیب تقسیم بندی شدند: پاسخ منفی (-)، بدین معنی که غلظت فاژی مورد استفاده هیچ اثر ضد باکتریایی نداشته است. پاسخ یک مثبت (+)، به معنی اثر ضد باکتریایی کم و کاهش کمتر از ۵۰ درصد در تعداد باکتری‌ها نسبت به گروه شاهد بود. پاسخ دو مثبت (++)، به معنی اثر ضد باکتریایی متوسط و کاهش ۵۰ تا ۷۵ درصدی در تعداد باکتری ها نسبت به گروه شاهد بود. پاسخ سه مثبت (+++)، به معنی اثر ضد باکتریایی زیاد و کاهش ۷۵ تا ۱۰۰ درصدی در تعداد باکتری‌ها نسبت به گروه شاهد در نظر گرفته شد (نمودارهای۳ و۴). همانطور که در نمودار ۳ در مورد روش لوله مشخص است در غلظت زیاد فاژی در تمام ۴۳ ایزوله پاسخ سه مثبت (+++)مشاهده شد. در غلظت‌های متوسط و کم به ترتیب پاسخ‌ها بیشتر به صورت دو مثبت (++) و یک مثبت (+) قابل مشاهده بود. نمودار۴ نیز نتایج روش کشت جامد دو لایه را نشان می‌دهد. در این روش در غلظت زیاد فاژی پاسخ در تمام نمونه‌ها به صورت یک مثبت(+) بود. پاسخ دو مثبت(++) و سه مثبت(+++) به ترتیب در غلظت‌های متوسط و کم مشاهده می‌شد.

Archive

www.SID.ir



نمودار ۳: اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نمونه‌های فاژی در روش لوله



نمودار ۴: اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نمونه‌های فاژی در روش کشت جامد دو لایه

نتایج حاصل ازغلظت‌های کم، متوسط و زیاد در دو روش مختلف کشت لوله و کشت جامد دولایه با استفاده از آزمون آماری کروسکال- والیس مقایسه شدند. غلظت زیاد در هر دو روش به‌طور معنی دار اثر ضد باکتریایی بیشتری از خود نشان داد ($p<0.0001$). مقایسه اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژ در غلظت‌های کم و متوسط آن در دو روش مختلف فوق الذکر تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($p=0.8$ در غلظت کم و $p=1$ در غلظت‌های متوسط و زیاد).

بحث:

یکی از مشکلات درمان بیماری‌های ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا* ، مقاومت آن نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف است. به مقاومت داروئی در مطالعات مختلف اشاره شده است (۱۳، ۱۴).در مطالعه حاضر نیز باکتری‌های جداسازی شده نسبت به بیشتر آنتی بیوتیک‌ها (ودر برخی موارد نسبت به همه آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده) مقاومت نشان دادند. این مطالعه نشان داد که باکتریوفاژ بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* اثرات باکتریسید دارد و با افزایش غلظت فاژ، اثرات باکتریسید هم افزایش می یابد.

با توجه به مقاومت روزافزون، استفاده از باکتریوفاژها به عنوان یک راه فرعی درمانی از مدت‌ها پیش مطرح بوده است. به نحویکه برای درمان برخی از بیماری‌ها مانند تب تیفوئیدی، وبا، زخم‌های دهانی، اسهال و سایر بیماری‌های عفونی استفاده شده است (۵ و ۲۲- ۱۵). با پیشرفت مطالعه در مورد باکتریوفاژها، یکی از محصولات تولیدی به نام اینتستی فاژ (Intestiphage) تهیه شد، که حاوی هفده فاژ مختلف علیه باکتری‌های پاتوژن روده‌ای می‌باشد(۲۳). در مطالعات اخیر نیز به‌ویژه در ایالت

Archive of SID
www.SID.ir

متحده از باکتریوفاژها در تکمیل فناوری‌های پیشرفته از جمله ساخت پوست مصنوعی آغشته به فاژ جهت پیشگیری از عفونت‌های شایع در پیوند پوست استفاده شده است (۲۴).

نظر به اهمیت و نقش باکتریوفاژها در پیشگیری و درمان عفونت‌های باکتریایی، در مطالعات مختلف به‌ویژه به عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک اشاره شده است. نتایج مطالعه حاضر همانند سایر مطالعات، نشان دهنده تاثیر باکتریسیدی باکتریوفاژها می‌باشد. همچنین در این مطالعه اثرات باکتریسیدال غلظت‌های مختلف فاژی بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت فاژ، اثرات باکتریسیدال هم افزایش می‌یابد. این نتایج مشابه مطالعات قبلی می‌باشد (۱۲). این افزایش بستگی به روش مورد استفاده ندارد اما شدت پاسخ (+ یا +++) در روش‌های مختلف، متفاوت است. نکته قابل توجه این است که باکتریوفاژ مورد استفاده صرف نظر از نوع مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جداسازی شده اثرات باکتریسیدال خود را به‌طور نسبتا یکسان اعمال می‌کند. بنابراین، می‌تواند جایگزین مناسبی برای درمان‌های باکتریایی باشد. از دیگر کاربردهای باکتریوفاژها استفاده از آنها به‌جای ضدعفونی کننده‌های قوی در سالن‌ها و بخش‌های مختلف بیمارستان است. با توجه به اختصاصی بودن فاژها و حساسیت متفاوت باکتری‌های مختلف به آنها استفاده از باکتریوفاژهای مربوط به باکتری‌های بیماریزای انسان در این مکان‌ها باعث جلوگیری از استفاده بی‌رویه ضدعفونی کننده‌ها در بیمارستان‌ها می‌شود. این روش باعث می‌شود باکتری‌های طبیعی محیط از بین نروند و شاهد جایگزینی باکتری‌های بیماریزای انسان در این مکان‌ها نباشیم. به‌علاوه، تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که حذف یک باکتری مشکل آفرین از محیط توسط مواد ضدعفونی‌کننده شیمیایی علی‌رغم تلاش‌های مکرر بی‌نتیجه بوده است، و کلونیزاسیون مجدد باکتری مشاهده می‌شود. در چنین مواردی استفاده از باکتریوفاژها راه حل مناسبی برای کنترل آن عامل در محیط خواهد بود. این امر به دلیل قابلیت منحصر به فرد باکتریوفاژها (تکثیر آن‌ها در میزبان خاص) نسبت به سایر مواد ضدعفونی کننده دیگر است که استفاده از این ابزار را انحصاری کرده است.

نتیجه‌گیری:

نمونه‌های باکتریوفاژ جدا شده دارای اثرات باکتریسیدال قابل قبول بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک هستند. اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژها در غلظت‌های بالا به نوع روش مورد استفاده بستگی ندارد. حداقل کاربرد این روش استفاده از باکتریوفاژ جدا شده از فاضلاب جهت حذف باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک و مقاوم به ضد عفونی کننده‌های محیط است. البته یکی از معایب استفاده از باکتریوفاژها این است که جهت اعمال اثرات ضد باکتریایی خود نیاز به شرایط خاص و مدت زمان زیاد دارند، که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها زمان بیشتری می‌باشد.

فهرست مراجع:

1.Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Alternatives to antibiotics: utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent foodborne pathogens *Poult Sci* 2005; **8**4: 655-659.

2.Duckworth DH. Who Discovered Bacteriophage? *Bacteriol Rev* 1976; **40** (4):793-802.

3.Barrow PA, Soothill JS. Bacteriophage therapy and prophilaxis: rediscovery and renewed assessment of potential. *Trends Microbial* 1997; **5**(7): 268-271.

3.Burkhard T, Utakoo P, Dletmar G, Gratiane S, Tlorst V. Nosocomieal acqustion of *psuedomonas aeruginnosa* by cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 1991; **29**: 1265-1267.

4.Skurnik M, Strauch E. Phage therapy: facts and fiction. Int *J Med Microbiol* 2006; **296**: 5–14.

5.Levin BR, Bull JJ. Phage therapy revisited: the population biology of a bacterial infection and its treatment with bacteriophage and antibiotics. *Am Nat* 1996; **147** (6): 881- 898.

6.Slopek S, Kucharewicz-Krukowska A, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. VI. Analysis of treatment of suppurative staphylococcal infections. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1985; **33**(2)**:** 261-73.

Archive of SID

www.SID.ir

7. Livermore DM. The need for new antibiotics. *Clin Microbiol Infect* 2004; **10**: 1–9.
8. Sivera Marza JA, Soothill JS, Boydell P, Collyns TA. Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns* 2006; **32**: 644–646.
۹.ابراهیمی مرضیه. بررسی اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژهای بر ضد *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به آنتی بیوتیک. پایان نامه دکتری داروسازی. دانشکده داروسازی،شماره ۱۰۱۳ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲.
۱۰.امامی پور فاطمه. جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک و بررسی اثرات آن بر روی کلبسیلای مقاوم به آنتی بیوتیک. پایان نامه دکتری داروسازی. دانشکده داروسازی،شماره ۱۰۰۰ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲.
11.Payne RJH, Jansen VAA. Understanding bacteriophage therapy as a density-dependent kinetic process. *J Theor Biol* 2001; **208** (1): 37-48.
12.Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev* 2006; **19**: 403–434.
13. McManus AT, Mason AD Jr, McManus WF, Pruitt BA Jr. Twenty-five year review of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a burn center. *Eur J Clin Microbiol* 1985**; 4**: 219–223.
14.Inal JM. Phage therapy: a reappraisal of bacteriophages as antibiotics. *Arch Immunol Ther Exp (Warsaw)* 2003; **51:** 237–244.
15.Mann NH. The third age of phage. *PLoS Biol* 2005; **3:** 182.
16.Mathur MD, Bidhan S, Mehndiratta PL. Bacteriophage therapy: an alternative to conventional antibiotics. *J Assoc Physicians India* 2003; **51:** 593–596.
17.Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyma J, Ujihara T, Kuroda M, Ikeuchi M, *et al*. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother* 2005; **11:** 211–219.
18.Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG. Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother*2001; **45:** 649–659.
19.Summers WC. Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol* 2001; **55:** 437–451.
20.Thacker PD. Set a microbe to kill a microbe. Drug resistance renews interest in phage therapy. *JAMA* 2003; **290:** 3183–3185.
21.Theil K. Old dogma, new tricks—21st century phage therapy. *Nat Biotechnol* 2004; **22:** 31–36.
22.Markoishvili K, Tsitlanadze G, Katsarava R, Morris Jr JG, Sulakvelidze A. A novel sustained-release matrix based on biodegradable poly(ester amide)s and impregnated with bacteriophages and an antibiotic shows promise in management of infected venous stasis ulcers and other poorly healing wounds, *Int J Dermatol* 2002; **41**: 453–458.
23.Guilhermetti M; Hernandes SED; Fukushigue Y; Garcia L B; Cardoso C L. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. Infection control and hospital epidemiology: *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; **22**(2): 105-8.

Archive of SID

www.SID.ir