Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Bacteriolytic Activity of Novel Bacteriophage PϕBw Ec01 from Cystoviridae Family against the Clinical Strain of Antibiotic Resistant Escherichia Coli in Burn Wounds

Ladan Rahimzadehtorabi[1], Monir Doudi[1*], Nafiseh Sadat Naghavi[1], Ramesh Monajemi [2]

[1] Dept of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
[2] Dept of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 19 May 2021
Revised: 07 June 2021
Accepted: 26 June 2021

**** Correspondence to:***
Monir Doudi
Dept of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
Email: monirdoudi@yahoo.com

A B S T R A C T

Introduction: The emergence of Escherichia coli resistance to common antibiotics in burn wound patients has become a controversial problem in Iran trauma and burn hospitals. The emergence of more and more drug resistance by infectious pathogens paves the way for further study of the nature of phages, and phage therapy can significantly address this crisis. In the first phase, this study aimed to isolate and identify the biochemical and molecular nature of antibiotic-resistant E. coli, which causes burn wound infections. The second phase of this study isolated the specific phages of the bacteria in these wounds and then evaluated the morphological characteristics of the phage and the host area.

Material & Methods: In this study, 50 bacterial strains were isolated from specialized accident and burn hospitals in Isfahan, Yazd, Tehran, and Rasht. Accurate identification and study of antibiotic resistance profile was performed by disk diffusion method on agar. The 16S rRNA coding gene was amplified using the PCR technique. The PCR product was then sent to "Gene Azma" laboratory for sequencing. In order to isolate the possible phages, a sample was taken from the raw wastewater (entrance of the northern treatment plant) in Isfahan, Iran. Phage morphology was assessed and reported by transmission electron microscopy (TEM); moreover, phage plate count and host range were assessed for this bacteriophage.

Findings: Bacterial 16S rRNA sequence was located in NCBI with MW844043 Accession Number. The specific phage PϕBw-Ec01 was significantly able to infect resistant E. coli bacteria. TEM demonstrated that the isolated phage was dsRNA and belonged to the family Cystoviridae with prototype ϕ6. PϕBw-Ec01 lytic phage was highly effective in inhibiting the growth of E. coli strain ADB_66-1 in this study.

Discussion & Conclusion: The results of this report showed that E. coli isolated from burn wounds of hospitalized patients had high resistance to common antibiotics. The studied phage in this study can be a good choice and a suitable option for controlling and inhibiting these resistant pathogens in the burn wounds of hospitalized patients. It is hoped that with more extensive research on the identity and study of the effectiveness of phages, the rate of bacterial lysis will be investigated. This issue will reduce the microbial load caused by resistant and infectious pathogens and can be used as an effective adjuvant against burn wound infections.

Keywords: Antibiotic resistance, Bacteriophage, Burn wound infection, Escherichia coli, Phage therapy, 16S rRNA

➢ **How to cite this paper**

Rahimzadehtorabi L, Doudi M, Naghavi N S, Monajemi R. Bacteriolytic Activity of Novel Bacteriophage PϕBw Ec01 from Cystoviridae Family against the Clinical Strain of Antibiotic Resistant Escherichia Coli in Burn Wounds. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;29(5): 44-55.

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
JIUMS
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

فعالیت باکتریولیتیک باکتریوفاژ جدید PϕBw-Ec01 از خانوادهٔ Cystoviridae علیه سویهٔ بالینی Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک موجود در زخم سوختگی

لادن رحیم‌زاده ترابی[۱]، منیر دودی[۱*]، نفیسه‌السادات نقوی[۱]، رامش منجمی[۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران
[۲] گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۹
تاریخ داوری: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۵

نویسنده مسئول:
منیر دودی
گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران
Email:
monirdoudi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: پیدایش مقاومت Escherichia coli به آنتی‌بیوتیک‌های معمول در بیماران دارای زخم سوختگی، به یک چالش جدی و بحث‌برانگیز در بیمارستان‌های سوانح و سوختگی ایران تبدیل‌شده است. ظهور هرچه بیشتر مقاومت دارویی از سوی پاتوژن‌های عفونی، زمینه‌ساز مطالعهٔ بیشتر ماهیت فاژهاست و مقولهٔ فاژتراپی به‌طور چشمگیری می‌تواند با این بحران پیش رو مقابله کند؛ بنابراین، هدف از این تحقیق در فاز اول، جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ایجادکنندهٔ عفونت‌های زخم‌های سوختگی است و در فاز دوم، جداسازی فاژهای اختصاصی باکتری‌های این زخم‌ها و سپس ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی فاژ و بررسی محدودهٔ میزبان بود.

مواد و روش ها: در این بررسی، جمعاً ۵۰ ایزولهٔ باکتریایی از بیمارستان‌های تخصصی سوانح و سوختگی شهرهای اصفهان، یزد، تهران و رشت جداسازی شدند که در میان آن‌ها، شناسایی دقیق و بررسی پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط روش انتشار دیسک در آگار صورت گرفت. تکثیر ژن کدکنندهٔ S rRNA۱۶ با استفاده از تکنیک PCRانجام گردید؛ سپس محصول PCR برای تعیین توالی به آزمایشگاه ژن‌آزما ارسال شد. به‌منظور جداسازی فاژهای احتمالی، برداشت نمونه از فاضلاب خام (ورودی تصفیه‌خانهٔ شمال) اصفهان در ایران صورت گرفت. بررسی مورفولوژی فاژ توسط TEM، شمارش پلاک‌های فاژی و ارزیابی محدودهٔ میزبان برای این باکتریوفاژ انجام و گزارش شد.

یافته‌ها: توالی S rRNA۱۶ باکتری در NCBI با Accession Number [MW844043] قرار گرفت. فاژ اختصاصی PϕBw-Ec01 به‌طور فراوانی قادر به عفونی کردن باکتری‌های Escherichia coliمقاوم بود. میکروسکوپ الکترونیTEM نشان داد که فاژ ایزوله شدهٔ ویروس بدون دم و dsRNA و متعلق به خانوادهٔ Cystoviridae با پروتوتایپ ϕ۶ است. فاژ لیتیک PϕBw-Ec01 میزان اثربخشی بالایی را در جلوگیری از رشد باکتری Escherichia coli سویهٔ ADB_66-1 در این مطالعه داشت.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این گزارش مبین آن بود که Escherichia coli جداشدهٔ از زخم سوختگی بیماران بستری، مقاومت نسبتاً بالایی به گروه عمده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های معمول داشته است. فاژ مطالعه‌شده در این تحقیق می‌تواند یک انتخاب خوب و گزینهٔ مناسب برای کنترل و مهار این‌گونه پاتوژن‌های مقاوم در زخم سوختگی بیماران بستری باشد. امید است که با تحقیقات گسترده‌تر دربارهٔ هویت و مطالعهٔ میزان اثربخشی سایر باکتریوفاژها، لیز باکتریایی حاصل از تأثیر فاژها را بررسی کرد تا بار میکروبی ناشی از پاتوژن‌های مقاوم و عفونت‌زا را کاهش داد و بتوان به‌عنوان یک عامل کمک درمانی مؤثر در برابر عفونت‌های زخم سوختگی از آن‌ها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلای، باکتریوفاژ، سوختگی، فاژتراپی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عفونت زخم، S rRNA۱۶

استناد: رحیم‌زاده ترابی، لادن؛ دودی، منیر؛ نقوی، نفیسه سادات؛ منجمی، رامش. فعالیت باکتریولیتیک باکتریوفاژ جدید PϕBw-Ec01 از خانوادهٔ Cystoviridae علیه سویهٔ بالینی Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک موجود در زخم سوختگی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دی ۱۴۰۰؛۲۹(۵): ۵۵-۴۴.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

مقدمه

مقاومت دارویی در باکتری‌ها به‌ویژه در Escherichia coli احتمالاً می‌تواند ناشی از سازوکارهای گوناگونی باشد؛ مثلاً دیده‌شده بعضی از باکتری‌ها ممکن است ژن‌های متعددی را جمع‌آوری کنند که هرکدام مقاومت در برابر یک داروی واحد را کد می‌کند و تنها یک سلول مسئول این واقعه است. این تجمع معمولاً روی پلاسمیدهای مقاوم رخ می‌دهد. از سوی دیگر، مشاهده‌شده است که طیف وسیعی از مقاومت چنددارویی نیز با گسترش بیان ژن‌هایی به‌وجود می‌آیند که پمپ‌های خروجی چنددارویی را کدگذاری می‌کنند (۳-۱). سوختگی‌ها مسئول بسیاری از تغییرات پاتوفیزیولوژیکی (۴) و نشان‌دهندهٔ ترومای شدید (۶، ۵) هستند. میکروارگانیسم‌ها ازجمله باکتری‌ها یا سایر عوامل عفونی فرصت‌طلب به لایهٔ سطحی پوست آسیب وارد می‌کنند و به ایجاد زخم‌های عفونی دردناک منجر می‌شوند (۷) این عمل باعث تأخیر در روند بهبود زخم یا وخیم شدن آن می‌گردد، به‌طوری‌که عفونت‌های باکتریایی موجود در زخم‌ها، به‌تدریج به بخش‌های زیرین پوست نفوذ می‌کنند و خود را به بافت چربی زیر پوست می‌رسانند و در سطح پیشرفته‌تر ممکن است عفونت میکروبی پوستی (سلولیت) یا یک عفونت میکروبی حاد یا مزمن (استئومیلیت) ایجاد سازند (۸). زخم‌های عفونی هنگامی رخ می‌دهند که دستگاه ایمنی بدن پاسخ مؤثر و مثبتی نمی‌دهد و یا آنتی‌بیوتیک‌ها نمی‌توانند رشد طبیعی باکتری‌ها را مهار کنند. هرچند آنتی‌بیوتیک‌ها با درمان بیماری‌های عفونی، کیفیت زندگی را بهبود می‌بخشند، بااین‌حال، با افزایش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سطح جهانی، محدودیت‌های مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها همچنان ادامه دارد (۹). حال اگر این مقاومت آنتی‌بیوتیکی در انواع زخم‌ها به‌ویژه زخم‌های سوختگی مشاهده شود، روند بهبودی را در بیمار به تأخیر می‌اندازد و میزان وخامت و مرگ‌ومیر را افزایش می‌دهد (۱۰). کلونیزاسیون زخم توسط باکتری‌های بیماری‌زا تقریباً بلافاصله پس از آسیب شروع می‌شود و شامل پاتوژن‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب اکتسابی از محیط اطراف و یا میکروبیوم خود بیمار است (۱۱،۱۲). به‌طورمعمول، طی هفته اول، باکتری‌های گرم مثبت اندوژن با منشأ داخلی، در انواع زخم‌های سوختگی مشاهده می‌گردند؛ اما پس از آن، به‌سرعت توسط باکتری‌های گرم منفی حساس به آنتی‌بیوتیک جایگزین می‌شوند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف برای درمان این عفونت‌ها باعث می‌گردد که کلونیزاسیون‌های بعدی با ارگانیسم‌های بیمارستانی اگزوژن با منشأ عوامل خارجی مشاهده شود که معمولاً باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند؛ مانند Staphylococcus aureus مقاوم به متی‌سیلین، انتروکوکوس‌های مقاوم به وانکومایسین و باکتری‌های گرم منفی تولیدکنندهٔ بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (۱۰). باکتری‌های گرم منفی شایع در زخم‌های سوختگی عبارت‌اند از: Pseudomonas aeruginosa مقاوم به دارو Actinetobacter baumannii، باکتری‌های تولیدکنندهٔ بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف و انتروباکتریاسه‌ها (۱۳). عفونت‌های زخم‌های سوختگی حاصل از باکتری Escherichia coli میزان مرگ‌ومیر را افزایش می‌دهند (۱۴). باکتریوفاژها ویروس‌های باکتریایی هستند که توانایی آلوده کردن و از بین بردن سلول باکتری را دارند (۱۵)؛ بدین معنی که ژنوم ویروس را وارد ژنوم میزبان می‌کنند و همانندسازی را آغاز می‌نمایند (لیزوژنی) و یا در حالتی دیگر، پیش از انتشار ذرات فاژ در داخل سلول میزبان با لیز سلول باکتریایی (لیتیک)، باکتری هدف را از بین می‌برند (۱۶). به‌تازگی استفاده از فاژ تراپی سبب شده است که از فاژها به‌عنوان عوامل ضدباکتریایی در درمان باکتری‌های پاتوژن و عفونی استفاده گردد. با ظهور هر چه بیشتر مقاومت دارویی از سوی پاتوژن‌های عفونی، شناخت فاژها به‌طور چشمگیری می‌تواند این بحران را حل کند. میزان روبه‌افزایش بیماران دچار انواع زخم‌های سوختگی از یک‌سو و ظهور باکتری‌های مقاوم به چندین

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

آنتی‌بیوتیک از سوی دیگر سبب شد که در این بررسی، به‌منظور ارائهٔ چشم‌انداز جدیدی از فاژتراپی، باکتری Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک زخم‌های سوختگی هدف قرار گیرد. هدف از این تحقیق در فاز اول، جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ایجادکنندهٔ عفونت‌های زخم‌های سوختگی است و در فاز دوم، جداسازی فاژهای اختصاصی باکتری‌های این زخم‌ها و سپس ارزیابی مشخصه‌های مورفولوژیکی فاژ و بررسی محدودهٔ میزبان است.

مواد و روش ها

جداسازی نمونه از بیماران سوختگی: نمونه‌های آزمایش‌شده در این تحقیق، از میان ۵۰ بیمار بستری دارای زخم‌های سوختگی و مبتلا به عفونت‌های باکتریایی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک در مدت‌زمانی سه‌ماهه (فروردین تا خرداد سال ۱۳۹۹) جمع‌آوری‌شده بودند. ایزوله‌های باکتریایی ایجادکنندهٔ عفونت‌های ثانویهٔ باکتریایی از انواع زخم‌های سوختگی بیماران از بیمارستان‌های تخصصی سوانح و سوختگی امام موسی کاظم اصفهان، شهدای محراب یزد، مطهری تهران و ولایت رشت جمع‌آوری گردیدند و در این پژوهش، از سویهٔ استاندارد Escherichia coli ATCC 25922 به‌صورت آمپول لیوفیلیزه استفاده شد که از انستیتو پاستور تهران تهیه گردید (۱۷).

آزمون‌های بیوشیمیایی باکتری Escherichia coli در زخم‌های سوختگی: با استفاده از تست‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی (شناسایی ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک)، شناسایی اولیهٔ باکتری‌های مدنظر صورت گرفت، بدین‌صورت که برای هریک از سویه‌های بالینی جداسازی‌شده به تفکیک بررسی انجام شد. ابتدا از رنگ‌آمیزی گرم برای شناسایی میکروسکوپی نمونه‌ها استفاده گردید و سپس تست‌های بیوشیمیایی به‌منظور اثبات اولیه و ردیابی باکتری‌ها در زخم سوختگی صورت گرفت. کشت در محیط EMB و بلاد آگار انجام شد و تست‌های بیوشیمیایی انجام‌شده شامل IMVIC ، TSI، MR-VP، Motility، SIM، OF، کاتالاز، اکسیداز، اوره آز، نیترات براث، سیمون سیترات آگار و... بودند (۱۸).

شناسایی مولکولی باکتری‌های در زخم‌های سوختگی: استخراج ژنوم باکتری Escherichia coli توسط کیت استخراج اسید نوکلئیک تحت لیسانس شرکت PREP RIBO-کشور روسیه طبق پروتکل شرکت سازنده صورت گرفت. به‌منظور تکثیر ژن ۱۶ S rRNA، از جفت پرایمرهای یونیورسال استفاده گردید که از شرکت پیشگام تهران تحت لیسانس شرکت متابیون آلمان تهیه و خریداری‌شده و با عنوان ۲۷-F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) و ۱۴۹۲ R (5′-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3′) بودند؛ همچنین فرایند PCR توسط دستگاه Thermal Cycler (Bio-Rad) T100 کشور مالزی انجام گردید. اطلاعات و جزئیات این واکنش در جدول شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده

جدول شمارهٔ ۱. مراحل انجام واکنش PCR

زمان (ثانیه)	دما(درجهٔ سانتی‌گراد°C)	مراحل واکنش
6 min	۹۵°C	دناتوراسیون اولیه
45 s	۹۵°C	دناتوراسیون
40 s	۵۵°C	اتصال
45 s	۷۲°C	بازآرایی
5 min	۷۲°C	طویل شدن نهایی
تعداد نوکلئوتید		پرایمرهای یونیورسال
20	(5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)	27F
21	(5′-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3′)	1492R

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

است و سپس همهٔ محصولات PCR مطالعه‌شده، برای sequencing DNA به آزمایشگاه ژن‌آزما ارسال گردیدند و توسط دستگاه 3130 xl کمپانی Applied biosystems طبق دستورالعمل سازنده تعیین توالی شدند؛ سپس محصولات PCR برای sequencing DNA به آزمایشگاه ژن‌آزما ارسال گردیدند (۱۹).

ارزیابی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی Escherichia coli: برای بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و انجام تست آنتی‌بیوگرام، به روش انتشار دیسک در آگار (روش استاندارد کربی-بائر) عمل شد و ایزوله‌های بالینی در مجاورت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از قبیل آموکسی‌سیلین AM، سفتازیدیم CAZ، سفکسیم CFM، توبرامایسین TM، سیپروفلوکساسین CF، مروپنم MEN، کلوکساسیلین CX، اریترومایسین E، آمپی‌سیلین AP، ایمی پنم IPM، پنی‌سیلین PEN، سفالکسین CN، جنتامایسین GM، کلیندامایسین DA، کلیستین، کوآموکسی‌کلاو AMC، کانامایسین KM، آمیکاسین AN، سفوکسیتین FOX، کوتریماکسازول SXT، سفوتاکسیم CTX و تازوسین TPZ (خریداری‌شده از شرکت Rosco ایتالیا) روی محیط کشت مولر هینتون آگار MHA قرار داده شدند. برای بررسی پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، سویه‌هایی که بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیک را به دیسک‌های مدنظر دارند و الگوی حساسیت کمتری در آن‌ها مشاهده شود، به‌عنوان مقاومت بسیار گسترده مشخص می‌گردند؛ پس از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون، میزان قطر هالهٔ عدم رشد ایزوله‌های موردمطالعه، بررسی و اطلاعات به‌دست‌آمده به‌صورت نتایج حساس، نیمه‌حساس و مقاوم بر اساس استانداردی به نام CLSI تعیین شد (۲۰).

جداسازی باکتریوفاژ لیتیک و اختصاصی: برای جداسازی باکتریوفاژهای احتمالی، از آب ورودی فاضلاب شهری استفاده گردید. نمونه‌برداری از تصفیه‌خانهٔ شمال اصفهان صورت گرفت؛ سپس نمونه‌های جداسازی‌شده در مجاورت یخ به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه فلاورجان منتقل و با ۸۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید؛ پس از آن، محلول شناور روی سطح یا همان سوپرناتانت، با سرنگ استریل و فیلتر سرسرنگی سلولزی با قطر ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد و محلول حاصل به محیط ۲ برابر غلظت برین‌هارت اینفیوژن براث (2×BHI B) افزوده و از کشت شبانه و تازهٔ باکتریایی به آن اضافه گردید و این مخلوط یک شب در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد با دور 140 RPMشیک شد تا نمونه‌ها کاملاً باهم مخلوط شوند. محیط BHI از شرکت ایبرسکو ایران تهیه‌شده بود (۲۱).

غنی‌سازی باکتریوفاژ ایزوله‌شده: برای غنی‌سازی باکتریوفاژ، کشت تازهٔ سویه‌های باکتریایی به محیط برین‌هارت اینفیوژن براثBHI افزوده گردید؛ سپس از سوسپانسیون که ممکن است باکتریوفاژهای احتمالی را داشته باشد، به آن اضافه شد. این ترکیب در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت با دور 140 RPM شیک گردید و سپس با ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت با سرنگ استریل و فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتری فیلتر گردید. این مرحله طی سه آزمون و این عمل نیز برای سویه‌های استاندارد هم انجام شد (۲۱). با استفاده از روش تشکیل پلاک یا آگار دولایه، از ترکیب محلول فیلتریت فاژی تهیه‌شده مرحلهٔ پیش (10^8PFU/ml) با SM بافر تهیه گردید. مجموعه‌ای از رقت‌های مختلف تهیه شد و از هرکدام از رقت‌ها به تفکیک، به کشت تازهٔ باکتریایی (10^8CFU/ml) اضافه گردید. سرانجام مقداری از این ترکیب به محیط ذوب‌شدهٔ BHI دارای ۰/۷ درصد آگار، با دمای ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزوده و روی سطح آگار که حاوی BHI با ۱/۵ درصد آگار بود، به حالت پورپلیت ریخته شد؛ سپس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پس از گذشت مدت انکوباسیون، پلاک‌های تشکیل‌شده مشاهده و شمارش شدند و پلیت‌های آزمایش از نظر ایجاد پلاک بررسی گردید (۲۲).

مرحلهٔ تغلیظ باکتریوفاژ: در مرحلهٔ تغلیظ فاژ، دوباره از مخلوط توأم باکتریوفاژ ایزوله‌شده و کشت باکتریایی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

استفاده می‌شود، به‌طوری‌که پس از مرحلهٔ سانتریفیوژ، برای تغلیظ به مخلوط به‌دست‌آمده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ PEG و برای شستشو و جداسازی سوپرناتانت‌ها از سدیم کلراید استفاده می‌گردد که میزان آن‌ها به ترتیب ۱۰ درصد و ۱ مولار است؛ سپس این مخلوط در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت همراه با شیک کردن قرار گرفتند؛ پس از آن، محلول به‌دست‌آمده با دور ۹۰۰۰g به مدت ۲۵ الی ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت با سرنگ استریل و فیلترهای سرنگی ۰/۲۲ میکرومتری جدا گردید (محلول رویی حذف) و رسوب آن در بافر SM که حاوی سدیم کلراید، MgSO4،Tris-HCl و گلیسرول بود، به‌صورت شناور درآورده شد. این نمونه‌ها دوباره سانتریفیوژ گردیدند و درنهایت، محلول به‌دست‌آمده در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد یخچال حفظ و نگهداری شدند (۲۳).

خالص‌سازی *باکتریوفاژ:* پلاک‌های تک ایجادشده روی محیط BHI آگار، با تیغ اسکالپل استریل یا حرارت‌دیده بریده شد و به میکروتیوب‌های استریل دارای ۱ میلی‌لیتر SM بافر منتقل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه کاملاً مخلوط شد. این ترکیب با دور ۸۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید؛ سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت یا محلول رویی آن به ۹۰۰ میکرولیتر SM بافر افزوده شد. در این مرحله از سوپرناتانت، زنجیره‌های رقت گوناگون 10^{-1} تا 10^{-8} تهیه گردید و سپس از هر رقت، به‌طور جداگانه به ۵ میلی‌لیتر محیط ذوب‌شدهٔ BHI براث حاوی ۰/۷ درصد آگار اضافه و ۱۰۰ میکرولیتر هم از کشت ۲۴ ساعته و تازهٔ باکتری افزوده شد. پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، پلاک‌های ایجادشده شمارش و از نظر ظاهر پلاک بررسی گردیدند. این مرحله برای سویه‌های استاندارد نیز با سه تکرار انجام‌شده بود (۲۲).

بررسی محدودهٔ میزبان باکتریوفاژ لیتیک: محدودهٔ میزبان باکتریوفاژهای ایزوله‌شده با استفاده از تست‌های نقطه‌ای بر باکتری *Escherichia coli* بررسی می‌شود. این مرحله از آزمایش بدین‌صورت بود که کشت تازهٔ باکتریایی (10^8CFU/ml) با ۵ الی ۶ سی‌سی محیط کشت BHI حاوی ۰/۷ درصد آگار مخلوط شد و لولهٔ حاوی این مخلوط پس از ورتکس شدن، به سطح محیط‌هایی اضافه گردید که حاوی BHI با ۱/۵ درصد آگار بود. هنگامی‌که سطح آگار در زیر هود کاملاً بسته و اصطلاحاً سفت شد، محلول فاژ فیلترشدهٔ به‌دست‌آمده به‌صورت نقطه‌ای یا حالت قطره‌چکانی روی سطح BHI آگار به سویهٔ باکتری تلقیح گردید و پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت، وجود پلاک یا نقاط شفاف ایجادشده نشان‌دهندهٔ توانایی و پتانسیل فاژ در آلوده کردن و لیز کردن باکتری آزمایش‌شده بود (۲۴).

شناسایی ساختار باکتریوفاژها توسط میکروسکوپ الکترونی TEM: برای مطالعهٔ دقیق ساختار و مورفولوژی باکتریوفاژهای احتمالی، حدود ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون فاژی تهیه‌شده یا همان محلول فیلتریت فاژی 10^8PFU/ml به مدت ۳۰ ثانیه روی گرید مسی کربن‌کوتد پوشش داده شد و به مدت ۱ دقیقه با ۲ درصد (w/v) اورانیل استات رنگ‌آمیزی گردید و پس از خشک شدن گریدها، ذرات فاژ در نمونه با میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM مدل EM 208S مشاهده شد (۲۵).

تجزیه‌وتحلیل آماری: از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) بهره گرفته شد. همهٔ داده‌ها به برنامه (Excel، مایکروسافت) وارد شدند. برای آنالیز آمار تحلیلی از SPSS vol.20 استفاده گردید. خروجی داده‌ها به‌صورت میانگین mean±SD ارائه شدند.

یافته ها

شناسایی بیوشیمیایی و مشخصات مولکولی سویه‌های باکتریایی ایزوله‌شده: سویه‌های باکتریایی ایزوله‌شده از زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان‌های گوناگون، با آزمایش‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی بررسی، شناسایی و تأیید گردیدند. تست‌های تشخیصی استفاده‌شده در جدول شمارهٔ ۲ آورده شده است؛

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

جدول شمارهٔ ۲. نتایج آزمون بیوشیمیایی روی *Escherichia coli* ایزوله‌شده

رنگ‌آمیزی گرم	منفی
مورفولوژی	میله‌ای
TSI	A/A/G
اوره آز	-
O/F	O+/F+
حرکت	متحرک
وژ پروسکوئر VP	-
متیل ردMR	+
اکسیداز	-
کاتالاز	+
احیای سیترات	-
اندول	+
نیترات ردوکتاز	+
محیط EMB	*سبز متالیک*
تست ONPG	+

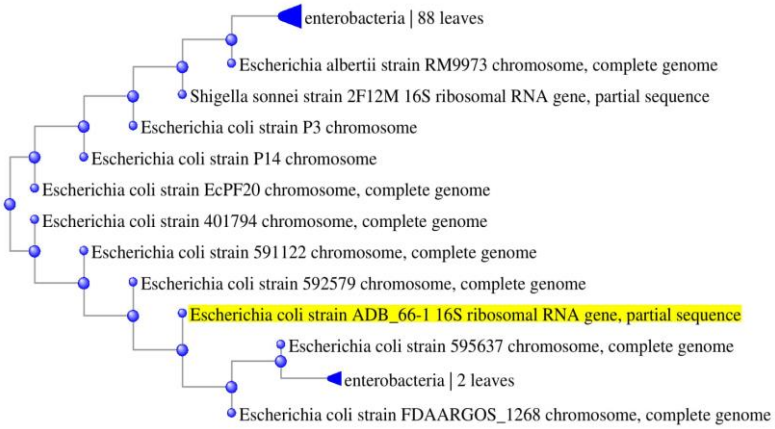
منفی. – ؛ مثبت. +

همچنین برای تشخیص دقیق سویه‌های باکتریایی، همهٔ نمونه‌های ایزوله‌های بالینی ارسالی از بیمارستان که از نظر بیوشیمیایی تأیید شده بودند، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس و گونهٔ Escherichia coli نیز مورد تأیید آزمایش‌های مولکولی و ژنتیکی قرار گرفتند. توالی S rRNA۱۶ و تجزیه‌وتحلیل BLAST، سویهٔ Escherichia coli دارای Query coverage ٪۱۰۰ بود. ایزولهٔ مطالعه‌شده در تحقیق ما با عنوان Escherichia coli strain ADB_66-1 در سایت www.ncbi.nlm.nih.gov نام‌گذاری شد و توالی S rRNA۱۶ آن در GenBank، NCBI با Accession Number [MW844043] قرار گرفت. در شکل شمارهٔ ۲ درخت فیلوژنی سویهٔ مدنظر آورده شده است.

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران سوختگی: در این تحقیق، بررسی فراوانی باکتری‌های

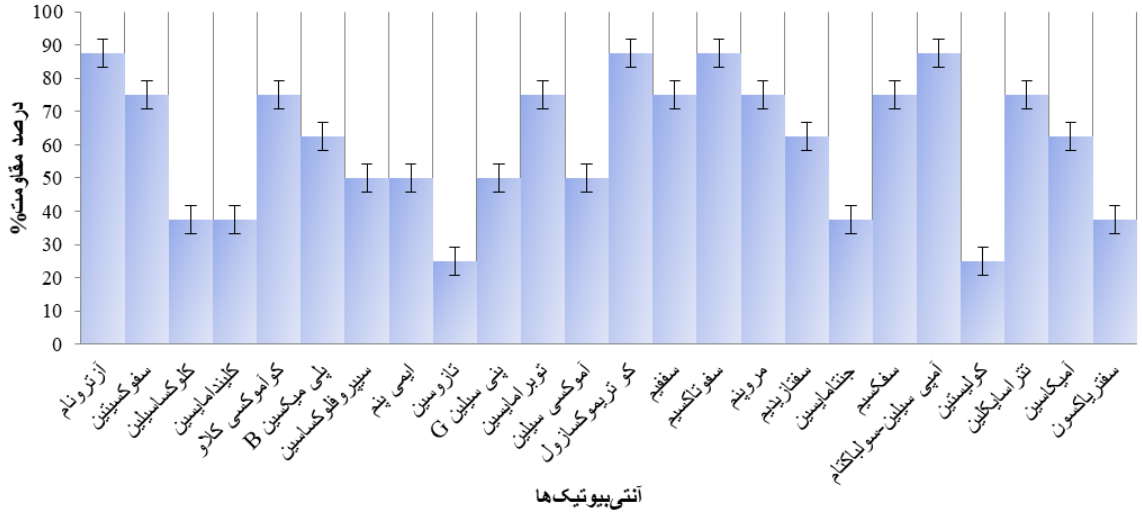


شکل شمارهٔ ۱. نمونه‌ای از بیمار دارای زخم سوختگی با عفونت ناشی از *Escherichia coli* مقاوم به آنتی‌بیوتیک



شکل شمارهٔ ۲. نمونه‌ای از درخت فیلوژنیک سویهٔ Escherichia coli strain ADB_66-1

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]



شکل شمارهٔ ۳. نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

عامل عفونت بیمارستانی در بیماران بستری دارای زخم سوختگی و تعیین الگوی مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی که علیه آن‌ها استفاده می‌شود، صورت گرفته بود. برای تفسیر دقیق نتایج از جدول موسسهٔ CLSI استفاده گردید. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌دست‌آمده از روش انتشار در آگار (Bauer-Kirby) سویه‌های بالینی *Escherichia coli* نشان داده بود که همهٔ ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک شناسایی‌شده بودند و بالاترین مقاومت را به آزترونام، کوتریماکسازول، سفوتاکسیم و آمپی‌سیلین–سولباکتام حدود ۸۷/۵ درصد و کمترین مقاومت را به تازوسین و کولیستین حدود ۲۵ درصد داشتند (شکل شمارهٔ ۳).

نتیجه آزمایش پلاک و محدودهٔ میزبان فاژی: فاژ لیتیک PϕBw-Ec01 از ورودی تصفیه‌خانهٔ شمال اصفهان در ایران جداسازی شده بود. فاژ ایزوله‌شده قابلیت لیزکنندگی داشت که روی کشت باکتری پلاک‌های شفافی را ایجاد کرده بود. دامنهٔ میزبان و فعالیت لیتیک باکتریوفاژ PϕBw-Ec01 روی سویه‌های بالینی مختلف با استفاده دو تکنیک آگار دولایه و تست نقطه‌ای بررسی‌شده و مناطق لیز مشاهده و به‌عنوان امتیاز (++) برای لیز کامل، امتیاز (+) برای لیز ضعیف و امتیاز (–) برای نبودِ لیز و تشکیل نشدن نقاط شفاف در نظر گرفته‌شده بودند (جدول شمارهٔ ۳). فاژ لیتیک PϕBw-Ec01 میزان اثربخشی بالایی در

جدول شمارهٔ ۳. نتایج تست نقطه‌ای و حساسیت باکتری‌ها نسبت به فاژ لیتیک P یتیکی‌ها

شهرها	مراکز بیمارستانی	تست نقطه‌ای	سویه‌های مقاوم	کد سویه‌ها
یزد	بیمارستان سوختگی شهدای محراب	-	Escherichia coli	Shmy05
یزد	بیمارستان سوختگی شهدای محراب	-	Escherichia coli	Shmy07
اصفهان	بیمارستان امام موسی کاظم	++	Escherichia coli	ADB_66-1
اصفهان	بیمارستان امام موسی کاظم	-	Escherichia coli	IMK10
تهران	بیمارستان سوختگی مطهری	+	Escherichia coli	TM02
تهران	بیمارستان سوختگی مطهری	-	Escherichia coli	TM04
تهران	بیمارستان سوختگی مطهری	+	Escherichia coli	TM06
رشت	بیمارستان ولایت رشت	-	Escherichia coli	VRC06
انستیتو پاستور ایران	ATCC	-	Escherichia coli	ATCC 25922

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]



شکل شمارهٔ ٤. (a) نتیجهٔ تست نقطه‌ای و بررسی حساسیت باکتری Escherichia coli به فاژ PϕBw-Ec01
(b) تصویر TEM از باکتریوفاژ PϕBw-Ec01 متعلق به خانوادهٔ Cystoviridae (با میزان تقریبی ۱۰±۸۰ نانومتر)

جلوگیری از رشد باکتری *Escherichia coli* سویهٔ ADB_66-1 مطالعه‌شده داشت. در محیط BHI آگار، ۳۶ پلاک بر سطح آگار شمارش شد و تیتر کل فاژهای لیتیک باکتری آزمایش‌شده تقریباً به‌صورت PFU/mL ۳۶×۱۰^۸ تعیین گردید.

تعیین مورفولوژی فاژ توسط TEM: مشاهدهٔ مورفولوژی فاژها با میکروسکوپ الکترونی TEM نشان داد که فاژ PϕBw-Ec01 با قطر تقریبی ۸۰ نانومتر، به‌عنوان خانوادهٔ *Cystoviridae* شناخته شد. این ویروس dsRNA شکل و بدون دم و دارای پوشش لیپیدی بود. مورفولوژی فاژ ایزوله‌شده در شکل‌های شمارهٔ ۴a و b4 به نمایش گذاشته شد. شکلها ادغام شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

هدف مطالعهٔ حاضر، جداسازی و شناسایی فنوتیپی و ژنوتیپی باکتری گرم منفی Escherichia coli جداسازی‌شده از عفونت زخم سوختگی در بیماران بستری بود. این مطالعه نشان داد که باکتری ایزوله‌شده از بیمارستان‌های سوختگی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مقاومت بالایی نشان داده بودند. کنترل و مهار عفونت‌های حاصل از این باکتری‌ها توسط فاژها در این مراکز، به کاهش وخامت و مرگ‌ومیر این بیماران منتهی می‌شود. می‌توان عنوان کرد که عملکرد باکتریوفاژ ایزوله‌شده بر باکتری Escherichia coli مقاوم به شکل کاملاً اختصاصی است و این مسئله بسیار قابل‌توجه است؛ بنابراین، با توجه به محدود شدن طیف بهره‌برداری از آنتی‌بیوتیک‌ها به علت مقاومت دارویی گسترده طی سال‌های اخیر، ویروس‌های باکتریایی (باکتریوفاژها) با توجه به ماهیت طبیعی بودنشان و ویژگی‌های خاصی که دارند، می‌توانند به‌عنوان یکی از مطلوب‌ترین و مناسب‌ترین گزینه‌های موجود برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در نظر گرفته شوند؛ همچنین فاژها می‌توانند با محصولات ارزان‌قیمت وارد جوامع گردند و پیشگیری و درمان عفونت‌های جدی بیمارستانی را دست بگیرند (۲۶). باکتری Escherichia coli طی ارزیابی مقاومت و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب، با استفاده از روش انتشار دیسک در آگار Kirby- Bauer مورد تشخیص قرار گرفت. فاژ ایزوله‌شده از تصفیه‌خانهٔ شمال اصفهان، به‌عنوان یکی از مؤثرترین فاژ علیه این باکتری گزینش شد و مطالعات بیشتر مانند بررسی مورفولوژی فاژها توسط TEM و بررسی محدودهٔ میزبان روی این باکتریوفاژ انجام گردید. فاژ اختصاصی PϕBw-Ec01 به‌طور چشمگیری قادر به عفونی کردن باکتری Escherichia coli مقاوم بود. TEM نشان داد که فاژ ایزوله‌شدهٔ ویروس بدون دم و dsRNA و متعلق به خانوادهٔ Cystoviridae با پروتوتایپ ϕ۶ است. فاژ لیتیک

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

PϕBw-Ec01 میزان اثربخشی بالایی را در لیز باکتری Escherichia coli سویهٔ ADB_66-1 داشتند که از بیمارستان سوانح- سوختگی امام موسی کاظم اصفهان جداسازی شده بود. نتایج مطالعهٔ زارع و همکاران (۲۰۰۷) بر باکتریوفاژ مؤثر بر سویه‌های پاتوژن Escherichia coli ایزوله‌شده از زخم بیماران دیابتی نشان داد که باکتری‌های جداشده مقاومت بالایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های استفاده‌شده دارند. بر اساس ویژگی مورفولوژیک، فاژ جداشده متعلق به خانوادهٔ Siphiviridae بود (۲۷). رحمانی و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی «اثر فاژها به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی سبز در برابر Escherichia coli بیمارستانی مقاوم در برابر چند آنتی‌بیوتیک» را بررسی کردند. نمونه‌ها از زخم‌های مختلف تهیه گردید و سویه‌های Escherichia coli جدا و با روش‌های استاندارد شناسایی شدند. باکتریوفاژها از نمونه‌های آب محیطی جدا گردید و به‌وسیلهٔ روش آگار دولایه برای مشاهدهٔ پلاک‌ها ارزیابی شد. واکنش متقابل فاژها بر سویه‌های Escherichia coli برای تعیین فاژهای طیف گسترده‌تر صورت گرفت. ده نمونه Escherichia coli از نمونه‌های بیمارستان جدا گردید که همهٔ آن‌ها مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استفاده‌شده نشان دادند. واکنش متقابل، فاژهایی را نشان می‌دهد که بیش از شش سویهٔ Escherichia coli را تحت تأثیر قرار می‌دهند. آن‌ها می‌توانند انتخاب مناسبی برای استفادهٔ درمانی بالینی باشند. آزمایش‌های حیوانی in vivo نتایج مشابهی را با گروهی نشان می‌دهد که با جنتامایسین درمان می‌شدند. در هر دو گروه، عفونت پس از ۴۸ ساعت برداشته شد. بر اساس نتایج، ۶ سویهٔ مقاوم باکتریایی به شش یا هفت آنتی‌بیوتیک و همهٔ سویه‌ها دست‌کم به دو آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. بااین‌حال، برای هریک از این باکتری‌های مقاوم، یک باکتریوفاژ از نمونه‌های محیطی در نظر گرفته شد که نشان‌دهندهٔ اثر مثبت باکتریوفاژ برای حذف گونه‌های کلینیکی Escherichia coli بود (۲۸). حسین‌زادگان و همکاران در سال ۱۳۸۷، استفادهٔ توأم فاژ لیتیک و آلکالین فسفاتاز برای درمان عفونت سوختگی ناشی از Escherichia coli در موش آزمایشگاهی را بررسی کردند. اثربخشی باکتریوفاژهای ایزوله‌شده از ورودی و خروجی رودخانه‌ها، مدفوع گوسفندان، سگ و موش‌ها نشان داد که ۸۰ درصد موش‌های آزمایشگاهی دارای سوختگی آلوده به Escherichia coli قابل تیمار بودند و به‌طور چشمگیری میزان مرگ‌ومیر در آن‌ها کاهش یافته بود، در این پژوهش، بهره‌برداری از فاژها به‌عنوان استوک دارویی، نه‌تنها برای درمان زخم‌های سوختگی ایجادشده در موش‌ها، بلکه برای درمان عفونت‌های باکتریایی ناشی از این زخم‌ها استفاده‌شده بود (۲۹). اخیراً پژوهشی با عنوان فاگوبرن در تلاش برای استفاده از فاژتراپی در درمان عفونت باکتری‌هایی از قبیل Pseudomonas aeruginosa و Escherichia coli در قربانیان سوختگی، به‌صورت بالینی انجام گردیده است. هدف از این پروژه، مهار پاتوژن‌های عفونی در سوختگی‌های شدید بوده است. فاز I و II آزمایش‌های بالینی در فرانسه، بلژیک و سوئیس شروع‌شده است. اگرچه این پروژه پیشرفت بزرگی در مطالعهٔ فاژ تراپی است؛ اما برای استفاده از آن‌ها در درمان افراد مبتلا به پاتوژن‌های عفونت‌زا و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، آزمایش‌های بالینی و آزمایشگاهی بیشتری نیاز است (۳۰). فاگوبایودرم نیز نوعی زخم‌پوش یا پانسمان است که محققان گرجستانی و تحت حمایت یک شرکت آمریکایی (Intralytix Inc) به همراهی دانشگاه مریلند آمریکا طراحی کرده‌اند. این محصول از پلیمر تجزیه‌پذیر فراهم‌شده که با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر سیپروفلوکساسین (۲۰.۶ mg cm^{-}) و ترکیبی از باکتریوفاژها (PyoPhage1×106 PFU/ml) آغشته گردیده است و علیه باکتری‌هایی نظیر Pseudomonas aeruginosa، Escherichia coli، Proteus spp و Staphylococcus aureus اثر دارند (۸).

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامهٔ دکتری با کد ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۷۲۰۰۲

و کد اخلاق IR.IAU.FALA.REC.1400.017 استخراج شده است. بدین‌وسیله مراتب سپاس خویش را از آقای مهندس جهانگیرنژاد، اساتید، کارکنان آزمایشگاه و کادر بیمارستان‌های تخصصی سوانح سوختگی در شهرهای مختلف ایران اعلام می‌داریم که در انجام این مطالعه صمیمانه همکاری کردند؛ همچنین لازم است از خانم مهندس شادی شاهسار مسئول آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه فلاورجان که در انجام این تحقیق حمایت نمودند، نیز کمال تشکر را داشته باشیم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافعی در این مطالعه وجود ندارد.

کد اخلاق: IR.IAU.FALA.REC.1400.017

References

1. Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria. Annu Rev Biochem 2009; 78:119-46. doi.10.1146/ annurev.biochem.78.082907.145923
2. Li XZ, Plesiat P, Nikaido H. The challenge of efflux mediated antibiotic resistance in Gram negative bacteria. Clin Microbiol Rev 2015; 28:337-418. doi. 10.1128/CMR.00117-14
3. Richardson LA. Understanding and overcoming antibiotic resistance. PLos Biol2017; 15: 2003775. doi.10.1371/journal.pbio.2003775.
4. Summer GJ, Puntillo KA, Miaskowski C, Green PG, Levine JD. Burn injury pain the continuing challenge. J Pai 2007; 8:533-48. doi.10.1016/ j.jpain.2007.02.426.
5. Rosenkranz KM, Sheridan R. Management of the burned trauma patient balancing conflicting priorities. Burns 2002; 28:665-9. doi.10.1016/ s0305-4179(02)00109-2.
6. Hawkins A, Maclennan PA, Mcgwin JRG, Cross JM, Rue LW. The impact of combined trauma and burns on patient mortality. J Trauma 2005; 58:284-8. doi.10.1097/01.ta.0000130610.19361. bd.
7. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 14:244-69. doi.10.1128/CMR.14.2.244-269.2001.
8. Loccarrillo C, Wu S, Beck JP. Phage therapy of wounds and related purulent infections. 1th ed. Cambridge USA CAB Int Publication. 2012; P.185-202.
9. Centers for disease control and prevention. Antibiotic antimicrobial resistance. 2 th ed. CDC Gov Drug Publication. 2017; P.1-100.
10. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev 2006; 19:403-34. doi.10.1128/CMR.19.2.403-434.2006.
11. Mayhall CG. The epidemiology of burn wound infections then and now. Clin Infect Dis 2003; 37543-50. doi.10.1086/376993.
12. Rafla K, Tredget EE. Infection control in the burn unit. Burns 2011; 37:5-15. doi. 10.1016/j.burns. 2009.06.198.
13. Azzopardi EA, Azzopardi E, Camilleri L, Villapalos J, Boyce DE, Dziewulski P, et al. Gram negative wound infection in hospitalised adult burn patients systematic review and metanalysis. Plos One 2014; 9:95042. doi.10.1371/journal.pone.0095042.
14. Norbury W, Herndon DN, Tanksley J, Jeschke MG, Finnerty CC. Infection in Burns. Surg Inf 2016; 17:250-5. doi.10.1089/sur.2013.134.
15. Chan Benjamin K, Abedonstephen T, Loccarrillo C. Phage cocktails and the future of phage therapy. Future Microbiol2013; 8:769-83. doi.10.2217/ fmb.13.47.
16. Doss J, Culbertson K, Hahn D, Camacho J, Barekzi N. A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. Viruses 2017; 9:50. doi.10.3390/v9030050
17. Rahimzadehtorabi L, Doudi M, Noori A. [Antibacterial effects of gold nanoparticles on multi sdrug resistant Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli and Its effect on the liver of balb/c Mice]. JSSU2016; 23:1001-17. (Persian)
18. Goli HR, Nahaei MR, Ahangarzadehrezaee M. Emergence of colistin resistant Pseudomonas aeruginosa at Tabriz hospitals Iran. Iran J Microbiol 2016; 8:62-9.
19. Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J Bacteriol 1991; 173:697-703. doi.10.1128/ jb.173.2.697-703.1991.
20. Naghavi NS, Golgoljam M, Akbari, M. Effect of three sewage isolated bacteriophages on the multi drug resistant pathogenic bacteria. J Biol Sci 2013. doi.10.3923/jbs.2013.422.426
21. Ghasemi SM, Bouzari M, Emtiazi G. Preliminary characterization of Lactococcus garvieae bacteriophage isolated from wastewater as a potential agent for biological control of lactococcosis in aquaculture. Aquacult Int 2014; 22:1469-80. doi.10.1007/s00705-014-2142-z.
22. Rahimzadehtorabi L, Doudi M, Naghavi N, Monajemi R. Isolation characterization, and effectiveness of bacteriophage against XDR Acinetobacter baumannii isolated from nosocomial burn wound infection. *Iranian J Bas Med Sci* 2021; 24: 1254-63. doi.10.22038/ijbms.2021.57772.12850.
23. Mendes JJ, Leandro C, Cortereal S. Wound healing potential of topical bacteriophage therapy on diabetic cutaneous wounds. Wound Rep Reg 2013; 21:595-603. doi.10.1111/wrr.12056.
24. Rahimzadeh Torabi L, Doudi M, Naghavi N, Monajemi R. Bacteriophages pen-cl and pen-ho can eliminate MDR *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter hormaechei* isolated from burn

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]

wound infections without toxicity for human skin cells. *FEMS Microbiol Let* 2021; 368: 143. doi.10.1093/femsle/fnab143.
25. Rahimzadehtorabi L, Naghavi NS, Doudi M, Monajemi R. Efficacious antibacterial potency of novel bacteriophages against ESBL producing Klebsiella pneumoniae isolated from burn wound infections. Iran J Microbiol 2021; 13:678-690. doi.10.18502/ijm. v13i5.7435.
26. Shokri D, Soleimani DA, Moayednia R, Mobasherizadeh S, Shirsalimian M, Enayatollahi S, et al. Isolation identification and evaluation of two lytic Bacteriophages against clinical antibiotic-resistant strains of Pseudomonas aeruginosa from waste water and hospital sewage of Isfahan city. Sci J Ilam Uni Med Scie 2015; 23:164-1172.
27. Zare L, Shenagari M, Khan Mirzaei MA, Mojtahedi A. Isolation of lytic phages against pathogenic E. coli isolated from diabtic ulcers. Iran J Med Microbiol 2017; 11:34-41.
28. Rahmani R, Zarrini G, Sheikhzadeh F, Aghamohammadzadeh N. Effective phages as green antimicrobial agents against antibiotic resistant hospital Escherichia coli Jundishapur J Microbiol 2015; 8:59808. doi.10.5812/jjm.17744. doi.10.5812/jjm.17744.
29. Hosainzadegan H, Mohammadi M, Pajohy N, Ebrahimzade F. Study of lytic phage and alkaline phosphatase on treatment of burn infections caused by Escherichia coli in MouseIran J Med Microbiol 2008; 2:37-43.
30. Servick K. Beleaguered phage therapy trial presses on. Science 2016; 352:1506. doi.10.1126/science. 352.6293.1506.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.9.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.44]