DOI: 10.22122/jims.v37i524.11601 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۲۴/هفته‌ی چهارم خرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۳۱ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۳/۲۲

بررسی تأثیر باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In Vivo: مطالعه‌ی مروری سیستماتیک

گلنار رحیم‌زاده[۱]، فرشته فرشیدی[۲]، محمد صادق رضائی[۳]، شقایق رضائی[۲]

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک (Multi drug resistant یا MDR) در حال افزایش می‌باشد. باکتریوفاژها به عنوان گزینه‌ی درمانی جایگزین، جهت درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها پیشنهاد شده‌اند. تاکنون در منابع انگلیسی و فارسی از باکتریوفاژها به منظور درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در مطالعات حیوانی به خوبی بحث نشده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo انجام شد.

روش‌ها: این تحقیق از نوع مروری سیستماتیک بود که در آن مقالات منتشر شده طی سال‌های ۱۹۸۳ تا ۲۰۱۸ در پایگاه‌های معتبر بین‌المللی Scopus، PubMed، Google Scholar و Web of Science جستجو گردید. مطالعاتی که دارای معیارهای ورود بودند، مورد بررسی قرار گرفت و داده‌ها با روش مروری برآورد گردید.

یافته‌ها: ۱۳۱۰ مقاله در پایگاه‌های مورد نظر نمایش داده شد. پس از بررسی عناوین، ۳۸۰ مقاله برگزیده شد. پس از مرور چکیده و حذف مطالعات تجربی و In vitro و انتخاب پژوهش‌های انگلیسی زبان که در شرایط In vivo انجام شده بود، ۳۱ مقاله‌ی منتشر شده در بازه‌ی زمانی مورد نظر انتخاب گردید.

نتیجه‌گیری: استفاده‌ی خوراکی، تزریقی و موضعی از باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در مدل حیوانی مؤثر می‌باشد.

واژگان کلیدی: باکتریوفاژ، باکتری‌های گرم منفی، عفونت، مروری سیستماتیک

ارجاع: رحیم‌زاده گلنار، فرشیدی فرشته، رضائی محمد صادق، رضائی شقایق. **بررسی تأثیر باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In Vivo: مطالعه‌ی مروری سیستماتیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۲۴): ۴۳۴-۴۲۷.

مقدمه

از جمله شایع‌ترین گونه‌های جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی می‌توان به انتروباکتریاسه‌ها مانند اشریشیاکلی، کلبسیلا، انتروباکتر، پروتئوس، سیتروباکتر، آسینتوباکتر و سودوموناس آئروژینوزا اشاره کرد. انتروکوک‌ها باعث بروز حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند. در رتبه‌ی بعدی، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب ۱۱ و ۷ درصد از عفونت‌های بیمارستانی را ایجاد می‌کنند. انتروباکتریاسه‌ها، سودوموناس آئروژینوزا و سایر باسیل‌های گرم منفی به بسیاری از داروهای خط اول مقاوم شده‌اند (۲-۱).

باکتریوفاژها در سال ۱۸۸۶ در مطالعه‌ی Hankin معرفی شد. گزارش‌های وی در نتیجه‌ی مشاهده‌ی تأثیرات ضد میکروبی آب رودخانه‌های Ganges و Yamuna در هندوستان بر روی باکتری ویبریوکلرا بود (۴-۳). فاژها ویروس‌های هوشمندی هستند که به طور اختصاصی سبب لیز باکتری می‌شوند. باکتریوفاژها در همه جا حضور دارند. تاکنون ۶ هزار نوع فاژ شناسایی شده است. جمعیت فاژها در سیستم آبی، 10^{8}-10^{9} در هر میلی‌لیتر و 10^{9} در هر گرم خاک گزارش شده است. در مجموع، 10^{32} باکتریوفاژ در سیاره‌ی زمین تخمین زده شده است (۵).

پس از تأسیس مجله‌ی باکتریوفاژ، Sulakvelidze باکتریوفاژها را به عنوان «موجوداتی که در همه جای کره‌ی زمین حضور دارند و نقش مهمی را در حفظ تعادل میکروبی سیاره‌ی زمین ایفا می‌کنند»، تعریف نمود (۶). فاژها چرخه‌ی زندگی متفاوتی دارند و بر این

۱- دانشجوی دکتری پژوهشی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲- مرکز تحقیقات عفونی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محمد صادق رضائی

Email: drmsrezaii@yahoo.com

اساس به سه گروه فاژهای لیتیک، لیزوژن و معتدل تقسیم‌بندی می‌شوند. در چرخه‌ی لیتیک، فاژها پس از اتصال به گیرنده‌شان در دیواره‌ی سلولی باکتری، طی انتقال با واسطه (Transduction) ماده‌ی ژنتیکی خود را به داخل سلول میزبان تزریق می‌نمایند و فاژ در داخل سلول میزبان تکثیر می‌شود. با تولید هالین و اندولیزین و ایجاد منفذ در غشای سیتوپلاسمی و دیواره‌ی سلولی میزبان، فاژها از باکتری خارج می‌شوند (۷). در چرخه‌ی لیزوژنیک، فاژها ماده‌ی ژنتیکی خود را در کروموزوم باکتری میزبان ادغام می‌نمایند و به عنوان بخشی از کرموزوم باکتری میزبان تکثیر می‌شوند. در نتیجه، به نسل‌های بعدی باکتری منتقل می‌گردند. فاژهای لیزوژنیک نقش مهمی در انتقال عوامل بیماری‌زا و ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک دارند (۸-۷). در فاژتراپی، از فاژهای لیتیک متعلق به راسته‌ی کادوویرال‌ها که شامل سه خانواده‌ی «سیفوویریده، میوویریده و پودوویریده» می‌باشند، استفاده می‌گردد (۱۱-۷).

ارزیابی اولیه‌ی تأثیرات فاژها علیه بیماری‌های عفونی در حیوانات انجام شده است. نتایج مطالعات گذشته، اثرات مثبت فاژها در درمان بیماری‌های عفونی در شرایط In vivo را گزارش کرده‌اند (۱۹-۱۲). در پژوهش‌های قبلی، درمان عفونت‌های سیستم عصبی مرکزی، عفونت ریه، آبسه های کبدی، عفونت ادراری، عفونت استخوانی، عفونت پوست و زخم ناشی از باکتری‌های مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک (Multi drug resistant یا MDR) مانند سودوموناس آئروژینوزا، باکتری‌های تولیدکننده‌ی بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (Extended-spectrum beta-lactamases یا ESBL) مانند اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس فسیوم با استفاده از باکتریوفاژها نتایج مثبتی را نشان داده است. فاژها به صورت خوراکی، تزریق داخل صفاقی، تزریق عضلانی، تزریق وریدی و موضعی استفاده می‌شوند (۱۹-۱۲، ۴). Huggins و Smith در اوایل دهه‌ی ۸۰ میلادی، نقش بالقوه‌ی باکتریوفاژها را در کنترل عفونت‌های سیستمیک و گوارشی در موش، گوساله، خوک و بره گزارش کردند (۲۱-۲۰).

D'Herelle تأثیر فاژها بر عفونت ناشی از سالمونلا گالیناروم را در جوجه بررسی و گزارش نمود جوجه‌هایی که باکتریوفاژ را دریافت کردند، در تماس بعدی از عفونت ایجاد شده از سالمونلا گالیناروم محافظت شدند. وی با ایجاد شیگلوز در حیوانات آزمایشگاهی، درمان آن‌ها را با فاژهای جداسازی شده از مدفوع حیوانات تأیید نمود (۲۲). فاژها بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، محصولاتی طبیعی و کاملاً هوشمند هستند و به طور اختصاصی بر باکتری میزبان خود مؤثر می‌باشند. تأثیر مخربی بر فلور نرمال ندارند؛ در حالی که آنتی‌بیوتیک‌ها اثر مخربی بر فلور نرمال دارند. فاژها تکثیر شونده در محل عفونت خود هستند (۲۳). بنابراین، به تنظیم دز نیاز ندارند و به دلیل این که خودتکثیر شونده هستند، تولید این عوامل ضد باکتریایی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد. تولید فاژها بسیار سریع و ارزان است. اثر توکسیک ندارند و بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت به فاژها گزارش نشده است. فاژها خودمحدود شونده می‌باشند؛ به نحوی که بعد از لیز کردن باکتری، از بین می‌روند (۲۴، ۱۱، ۹، ۴، ۳).

با توجه به این که تحقیقات زیادی در ارتباط با تأثیر باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo منتشر شده است، روش مروری سیستماتیک یکی از مهم‌ترین راهکارها جهت یکپارچگی و ترکیب نتایج مطالعات می‌باشد.

پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر باکتریوفاژها علیه باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo با روش مروری سیستماتیک انجام شد.

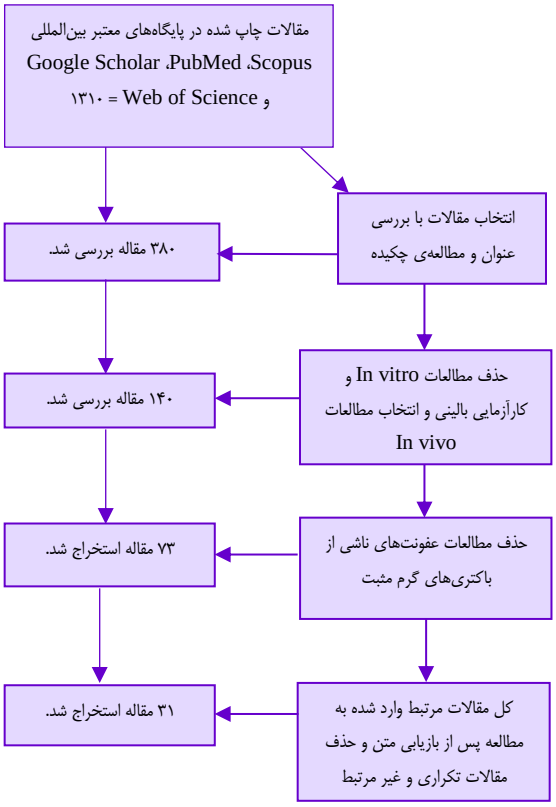
روش‌ها

مقالات مرتبط با موضوع مطالعه با استفاده از کلید واژه‌های «باکتریوفاژ، باکتری‌های گرم منفی، In vivo و عفونت» از تاریخ ۱۰ دی تا ۱۰ بهمن سال ۱۳۹۷ در پایگاه‌های معتبر بین‌المللی Scopus، PubMed، Google Scholar و Web of Science جستجو گردید. نیز برای اطمینان از دریافت کل مقالات، منابع آن‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت. مقالات انتشار یافته‌ی الکترونیکی در بازه‌ی سال‌های ۱۹۸۳ تا ۲۰۱۸ دریافت شد. داده‌های هر مطالعه بر اساس نام نویسنده‌ی نفر اول، بیماری، نوع باکتری، مدل حیوانی، نوع فاژ و تأثیرات آن استخراج گردید.

معیارهای ورود به پژوهش شامل تمامی مقالات انگلیسی زبان با تأثیر باکتریوفاژها علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo بود. مطالعاتی که به صورت In vitro و کارآزمایی بالینی بودند و داده‌های ناکافی داشتند و همچنین، مطالعاتی که عامل بیماری در آن‌ها ناشی از باکتری‌های گرم مثبت بود، حذف شدند.

یافته‌ها

۱۳۱۰ مقاله در پایگاه‌های مورد نظر نمایش داده شد. پس از بررسی عناوین و چکیده، ۳۸۰ مقاله انتخاب شد. بعد از حذف مطالعات In vitro و کارآزمایی بالینی و انتخاب تحقیقات انگلیسی زبان، ۱۴۰ مقاله انتخاب گردید. مطالعات عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت حذف شد و ۷۳ مقاله باقی ماند. در نهایت و پس از بازیابی متن و ارزیابی پژوهش‌های چاپ شده در دو مجله و حذف یکی از آن‌ها، ۳۱ مقاله‌ی منتشر شده طی سال‌های ۱۹۸۳ تا ۲۰۱۸ انتخاب و وارد مطالعه شد (یک مطالعه دو بار وارد شده است) (شکل ۱).



شکل ۱. استراتژی جستجوی مقالات انگلیسی زبان با استفاده از کلید واژه‌های مرتبط در پایگاه‌های معتبر بین‌المللی

یافته‌ها نشان داد که ۴ مطالعه، استفاده‌ی خوراکی فاژها جهت درمان بیماری‌های گوارشی و عفونت خون (جدول ۱) (۲۸-۲۴)، ۱۹ مطالعه استفاده از فاژها به صورت تزریقی (داخل صفاقی، وریدی و عضلانی) جهت درمان عفونت‌های باکتریمی، سیستمیک، عفونت زخم، اسهال ناشی از گالریا ملونلا، مایکوباکتریوم آویوم، آسینوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا (جدول ۲) (۴۱-۲۹، ۲۱، ۱۹-۱۷، ۱۴، ۱۲)، ۴ مطالعه استفاده‌ی موضعی از فاژها به منظور درمان عفونت‌های زخم و کراتیتیت و ایمپلنت (جدول ۳) (۴۳-۴۱، ۱۵)، ۴ مطالعه تزریق داخل بینی فاژها برای درمان عفونت‌های ریه و فیبروز کیستیک (جدول ۴) (۴۵-۴۴، ۱۶، ۱۳) و ۷ مطالعه درمان سپسیس را با استفاده از فاژها بررسی کرده‌اند (۴۰، ۳۵، ۲۷، ۱۹-۱۸، ۱۴، ۱۲). (جدول ۵). یک مطالعه نیز دو روش استفاده از فاژ را به صورت موضعی و تزریق داخل صفاقی جهت درمان عفونت زخم مورد بررسی قرار داده بود (۴۱).

بحث

با ظهور و بازگشت عفونت‌های باکتریایی، استفاده از فاژها علیه پاتوژن‌های گرم منفی به عنوان گزینه‌ی درمانی جایگزین پیشنهاد شده است. فاژها کاملاً اختصاصی عمل می‌کنند و تأثیرات مخربی بر سلول‌های یوکاریوتیک و فلور نرمال ندارند و بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت به آن‌ها گزارش نشده است. در تحقیق مروری سیستماتیک حاضر، ۳۱ مقاله که از سال ۱۹۸۳ تا سال ۲۰۱۸ انتشار یافته بود و تأثیر استفاده از باکتریوفاژها علیه باکتری‌های گرم منفی که عامل عفونت‌های بیمارستانی و بیماری‌هایی مانند سپسیس، منتژیت، آبسه‌ی کبدی، عفونت سیستمیک، اسهال، عفونت زخم، فیبروز کیستیک، عفونت ریه، عفونت میکوباکتریوم آویوم، عفونت‌های مرتبط با ایمپلنت، عفونت بینی و عفونت قرنیه‌ی چشم می‌باشد، بررسی گردید. نتایج نشان داد که فاژتراپی در عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo مؤثر واقع شده است.

تأثیر خوراکی فاژها بر روند بهبود عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در ۵ مطالعه (۲۸-۲۴) بررسی گردید. Watanabe و همکاران با ایجاد عفونت روده‌ایی با 10^8 واحد کلونی بر میلی‌لیتر سودوموناس آئروژینوزا در موش‌ها، منجر به بروز سپتیسمی در آن‌ها شدند و با مصرف خوراکی 10^{10} واحد پلاک فاژ KPP10، ۶۶/۷ درصد موش‌ها زنده ماندند (۲۷)، اما Nale و همکاران در پژوهش خود با 10^4 واحد کلونی بر میلی‌لیتر کلستریدیوم دیفیسیل، باعث ایجاد عفونت گوارشی در همسترها شدند که با مصرف خوراکی 10^8 واحد پلاک فاژ CD140، ۹۲ درصد همسترها زنده ماندند (۲۴).

جدول ۱. ویژگی‌های مطالعات اولیه‌ی وارد شده به پژوهش در ارتباط با مصرف خوراکی باکتریوفاژها جهت درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo

منابع	بیماری	نوع باکتری	مدل حیوانی	نوع فاژ	نتایج
Nale و همکاران (۲۴)	عفونت گوارشی	کلستریدیوم دیفیسیل	همستر	CD140	۹۲ درصد کاهش مرگ و میر
Fiorentin و همکاران (۲۵)	عفونت گوارشی	سالمونلا اینتریدیس	جوجه	CNPSA1	کاهش آلودگی محصولات
Miller و همکاران (۲۶)	عفونت گوارشی	سودوموناس آئروژینوزا	جوجه	INT-401	۹۲ درصد کاهش مرگ و میر
Watanabe و همکاران (۲۷)	سپسیس	سودوموناس آئروژینوزا	موش	KPP10	۶۶/۷ درصد کاهش مرگ و میر
نیک‌خواهی و همکاران (۲۸)	عفونت گوارشی	سالمونلا اینتریدیس	موش	Simultaneous	حفاظت موش‌ها از سالمونلوزیس و درمان آن‌ها

جدول ۲. ویژگی‌های مطالعات اولیه‌ی وارد شده به پژوهش در ارتباط با تزریق باکتریوفاژها برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo

منابع	بیماری	نوع باکتری	مدل حیوانی	نوع فاژ	نتایج
Gelman و همکاران (۱۲)	عفونت سیستمیک	انتروکوک فکالیس	موش	FDG1,EFLK1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Hung و همکاران (۱۴)	باکتریمی	کلبسیلا پنومونیه	موش	ØNK5	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Vinodkumar و همکاران (۱۷)	اسهال	کلبسیلا پنومونیه	موش	KLPN1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Wang و همکاران (۱۸)	باکتریمی	سودوموناس آئروژینوزا	موش	A392Ø	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Wang و همکاران (۱۹)	باکتریمی	اشریشیاکلی	موش	9882Ø	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Smith و همکاران (۲۱)	اسهال	اشریشیاکلی	موش	B44	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Barrow و همکاران (۲۹)	عفونت سیستمیک	اشریشیاکلی	موش	phage R	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Danelishvili و همکاران (۳۰)	عفونت	مایکوباکتریوم آویوم	موش	TM4	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Guang-Han و همکاران (۳۱)	عفونت	بورخولدریا مالئی	موش	C34	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Hagens و همکاران (۳۲)	عفونت سیستمیک	سودوموناس آئروژینوزا	موش	PF_3	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Heo و همکاران (۳۳)	عفونت زخم	سودوموناس آئروژینوزا	موش	MPK1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Jeon و همکاران (۳۴)	عفونت گوارشی	آسینتوباکتر بومانی	موش	B Ø-C62	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Jun و همکاران (۳۵)	سپسیس	ویبریو پاراهمولیتیکوس	موش	pVp-1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Kumari و همکاران (۳۶)	عفونت زخم	کلبسیلا پنومونیه	موش	Kpn	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Levin و Bull (۳۷)	عفونت	اشریشیاکلی	موش	K1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Lood و همکاران (۳۸)	عفونت گوارشی	آسینتوباکتر بومانی	موش	PlyF307	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Manohar و همکاران (۳۹)	عفونت	اشریشیاکلی	موش	ECP,KPP	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Vinodkumar و همکاران (۴۰)	باکتریمی	سودوموناس آئروژینوزا	موش	CSV-31	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Yin و همکاران (۴۱)	عفونت زخم	آسینتوباکتر بومانی	موش	Abp1	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر

در تحقیق Miller و همکاران، با مصرف خوراکی $۲/۵ \times ۱۰^{۸}$ واحد پلاک فاژ INT-401 در پرندگانی که مبتلا به عفونت گوارشی شده بودند، مرگ و میر ۹۲ درصد در آن‌ها کاهش پیدا کرد (۲۶). همچنین، در مطالعه‌ی Fiorentin و همکاران، با مصرف خوراکی $۱۰^{۱۱}$ واحد پلاک از فاژهای CNPSA1، CNPSA3 و CNPSA4 در پرندگان مبتلا به عفونت گوارشی ناشی از باکتری سالمونلا اینتریتیدیس، بهبودی حاصل گردید (۲۵). در پژوهش نیک‌خواهی و همکاران، پس از مصرف خوراکی ۲×۱۰^{۹} واحد پلاک فاژ، تأثیر درمانی و حفاظتی فاژ علیه سالمونلا اینترتیدیس در سالمونلوزیس گزارش گردید (۲۸).

در ۱۹ تحقیق، تأثیر تزریقی فاژها بر روند بهبودی عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. Wang و همکاران (۱۹–۱۸) و Barrow و همکاران (۲۹) از باکتری های گرم منفی خانواده‌ی انتروباکتریسه جهت ایجاد سپسیس در موش‌ها استفاده کردند. با تزریق داخل صفاقی فاژهای با دز $۱۰^{۹}$–$۱۰^{۶}$ واحد پلاک، مرگ و میر در موش‌ها ۱۰۰ درصد کاهش یافت. در مطالعه‌ی Hung و همکاران، باکتریمی ناشی از کلبسیلا پنومونیه در موش ها با تزریق داخل صفاقی فاژ ØNK5 مؤثرتر از تزریق فاژ به داخل معده بود (۱۴)، اما در تحقیق Jun و همکاران، با تزریق داخل صفاقی ۲×۱۰^{۸} واحد پلاک فاژ pVp-1 در موش‌های مبتلا به سپسیس و منتژیت ناشی از ویبریو پاراهمولیتیکوس، بقای ۱۰۰ درصدی گزارش شد (۳۵).

جدول ۳. ویژگی‌های مطالعات اولیه‌ی وارد شده به پژوهش در ارتباط با استفاده‌ی موضعی باکتریوفاژها جهت درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo

منابع	بیماری	نوع باکتری	مدل حیوانی	نوع فاژ	نتایج
Kumari و همکاران (۱۵)	عفونت سوختگی	کلبسیلا پنومونیه	موش	Kpn5	کاهش مرگ و میر
Yin و همکاران (۴۱)	عفونت زخم	آسینتوباکتر بومانی	موش	Abp1	کاهش مرگ و میر
Fukuda و همکاران (۴۲)	کراتیتیت	سودوموناس آئروژینوزا	موش	KPP12	کاهش مرگ و میر
Khairnar و همکاران (۴۳)	ضایعه‌ی زخمی	سودوموناس آئروژینوزا	ماهی	MBL	کاهش مرگ و میر

جدول ۴. ویژگی‌های مطالعات اولیه‌ی وارد شده به پژوهش حاضر در ارتباط با استفاده‌ی داخل بینی باکتریوفاژها برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo

منابع	بیماری	نوع باکتری	مدل حیوانی	نوع فاژ	نتایج
Debarbieux و همکاران (۱۳)	عفونت ریه	سودوموناس آئروژینوزا	موش	PAK-P1	بهبودی و زنده ماندن
Morello و همکاران (۱۶)	عفونت ریه	سودوموناس آئروژینوزا	موش	P3-CHA	بهبودی و زنده ماندن
Alemayehu و همکاران (۴۴)	فیروز کیستیک	سودوموناس آئروژینوزا	موش	ØNH	بهبودی و زنده ماندن
Cha و همکاران (۴۵)	عفونت بینی	آسینتوباکتر بومانی	موش	PBAB	بهبودی و زنده ماندن

Yin و همکاران در پژوهش خود از $۱۰^{۸} \times ۵$ واحد پلاک فاژ Abp1 به صورت تزریق داخل صفاقی جهت درمان عفونت زخم ناشی از آسینتوباکتر بومانی استفاده کردند و مرگ و میر ۱۰۰ درصدی را گزارش نمودند (۴۱). همچنین، مطالعات Jeon و همکاران (۳۴) و Lood و همکاران (۳۸) درمان عفونت‌های ناشی از آسینوباکتر بومانی را با فاژ، ۱۰۰ درصد مؤثر گزارش کردند.

Heo و همکاران در تحقیق خود، عفونت ناشی از سودوموناس آئروژینوزا را با تزریق داخل صفاقی فاژ MPK1 بعد از ۴۸ ساعت، ۱۰۰ درصد درمان کردند و این میزان با فاژ MPK6، ۷۰ درصد ذکر گردید (۳۳). Hagens و همکاران در عفونت سیستمیک ناشی از سودوموناس آئروژینوزا با تزریق داخل صفاقی فاژ PF_3، درصد زنده ماندن را ۹۵ درصد برآورد نمودند (۳۲). Vinodkumar و همکاران با ایجاد اسهال در موش‌ها توسط کلبسیلا پنومونیه و تزریق داخل صفاقی $۱۰^{۸} \times ۳$ واحد پلاک فاژ KLPN1، ۱۰۰ درصد بهبودی را مشاهده نمودند (۱۷). Kumari و همکاران نیز با ایجاد عفونت در زخم سوختگی موش‌ها توسط کلبسیلا پنومونیه و تزریق داخل صفاقی $۱۰^{۸}$ واحد پلاک فاژهای Kpn5، Kpn12، Kpn13، Kpn17 و Kpn22، کاهش قابل ملاحظه‌ی مرگ و میر را گزارش کردند (۳۶). در پژوهش Smith و همکاران، با ایجاد اسهال توسط اشریشیاکلی در خوک و تزریق $۱۰^{۱۰}$ واحد پلاک فاژ به صورت داخل عضلانی، بهبودی پس از ۲۴ ساعت ایجاد شد (۲۱). تأثیر مثبت فاژها در درمان عفونت ناشی از اشریشیاکلی در عفونت سیستمیک و عفونت ناشی از گالریما ملونلا به ترتیب در مطالعات Levin و Bull (۳۷) و Manohar و همکاران (۳۹) گزارش گردید. Guang-Han و همکاران (۳۱) و Danelishvili و همکاران (۳۰) نیز در تحقیقات خود کاهش چشمگیر تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و میکوباکتریوم آویوم را با تزریق داخل وریدی فاژ در موش‌ها عنوان کردند.

تأثیر استفاده‌ی موضعی فاژها بر روند بهبود عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در ۴ پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. Kumari و همکاران از $۱۰^{۱۰}$ واحد پلاک فاژ Kpn5 به صورت موضعی برای درمان عفونت زخم ناشی از کلبسیلا پنومونیه استفاده کردند (۱۵). در مطالعه‌ی Fukuda و همکاران، بهبودی کراتیت ناشی از سودوموناس آئروژینوزا با استفاده‌ی موضعی از $۱۰^{۸} \times ۵$ واحد پلاک فاژ KPP12 ایجاد شد (۴۲). همچنین، Khairnar و همکاران جهت درمان عفونت زخم ناشی از سودوموناس آئروژینوا در ماهی، از فاژ به صورت موضعی استفاده و بعد از ۸ تا ۱۰ روز بهبودی مؤثری را گزارش نمودند (۴۳).

جدول ۵. ویژگی‌های مطالعات اولیه‌ی وارد شده به پژوهش در ارتباط با استفاده از باکتریوفاژها جهت درمان سپسیس ناشی از باکتری‌های گرم منفی در شرایط In vivo

منابع	بیماری	نوع باکتری	مدل حیوانی	نوع فاژ	نتایج
Hung و همکاران (۱۴)	سپسیس	کلبسیلا پنومونیه	موش	ØNK5	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Wang و همکاران (۱۸)	سپسیس	سودوموناس آئروژینوزا	موش	A392Ø	تزریق فاژ پس از ۶۰ دقیقه عفونی کردن، ۱۰۰ درصد زنده ماندن، تزریق فاژ پس از ۱۸۰ دقیقه عفونی کردن، ۵۰ درصد زنده ماندن و تزریق فاژ پس از ۳۶۰ دقیقه عفونی کردن، ۲۰ درصد زنده ماندن را نشان داد.
Wang و همکاران (۱۹)	سپسیس	اشریشیاکلی	موش	9882Ø	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر
Watanabe و همکاران (۲۷)	سپسیس	سودوموناس آئروژینوزا	موش	KPP10	۶۶/۷ درصد کاهش مرگ و میر
Jun و همکاران (۳۵)	سپسیس	ویبریو پاراهمولیتیکوس	موش	pVp-1	۵۰ درصد کاهش مرگ و میر
Vinodkumar و همکاران (۴۰)	سپسیس	سودوموناس آئروژینوزا	موش	CSV-31	۱۰۰ درصد کاهش مرگ و میر

تأثیر استفاده از فاژها به صورت تزریق در بینی بر روند بهبودی عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در ۴ تحقیق بررسی گردید. Morello و همکاران از $۱۰^{۸} \times ۳$ واحد پلاک فاژ P3-CHA به صورت تزریق در بینی استفاده کردند و بقای ۱۰۰ درصدی موش‌ها را پس از چهار روز گزارش نمودند (۱۶)، اما در پژوهش Cha و همکاران، $۱۰^{۹} \times ۱$ واحد پلاک دو فاژ PBAB08 و PBAB25 به صورت کوکتل و تزریق در داخل بینی علیه عفونت ریه‌ی ناشی از آسینتوباکتر بومانی مورد استفاده قرار گرفت و پس از هفت روز بهبودی ۱۵ درصدی گزارش گردید (۴۵). همچنین، Alemayehu و همکاران از $۱۰^{۹} \times ۲$ واحد پلاک کوکتل فاژ ØNH-4 و ØMR299-2 علیه کیستیک فیبروزیس ناشی از سودوموناس آئروزینوزا استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که میزان باکتری ۳ تا ۴ برابر کاهش یافت (۴۴). Debarbieux و همکاران برای درمان عفونت ریه‌ی ناشی از سودوموناس آئروزینوزا، از $۱۰^{۸} \times ۱$ واحد پلاک فاژ PAK-P1 داخل بینی استفاده کردند و بیان کردند که این درمان مؤثر بوده است (۱۳).

تأثیر استفاده از فاژها بر روند بهبودی سپسیس ناشی از باکتری‌های گرم منفی در ۶ مطالعه بررسی شد. در تحقیقات Vinodkumar و همکاران (۴۰) و Wang و همکاران (۱۸–۱۹)، با تزریق داخل صفاقی فاژها در موش‌های مبتلا به سپسیس، بقای ۱۰۰ درصدی گزارش شد، اما در پژوهش Watanabe و همکاران، $۱۰^{۱۰}$ واحد پلاک فاژ به صورت خوراکی استفاده گردید و مرگ و میر در موش‌ها ۶۶/۷ درصد کاهش یافت (۲۷).

نتایج به دست آمده از تأثیر مثبت باکتریوفاژها به صورت موضعی و تزریقی و خوراکی علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در مدل حیوانی، استفاده از باکتریوفاژها را به عنوان گزینه‌ی درمانی جایگزین جهت درمان بیماری‌های عفونی در انسان پیشنهاد می‌کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان بوعلی سینا ساری جهت فراهم نمودن امکانات مناسب تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. N Engl J Med 2010; 362(19): 1804-13.
2. Menegueti MG, Canini SR, Bellissimo-Rodrigues F, Laus AM. Evaluation of Nosocomial Infection Control Programs in health services. Rev Lat Am Enfermagem 2015; 23(1): 98-105.
3. Abedon ST, Thomas-Abedon C, Thomas A, Mazure H. Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? Bacteriophage 2011; 1(3): 174-8.
4. Rahimzadeh G, Saeedi M, Farshidi F, Rezai M S. Phage therapy in treatment of gram-negative bacterial infections: A systematic review. J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28(165): 203-12. [In Persian].
5. Hanlon GW. Bacteriophages: An appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. Int J Antimicrob Agents 2007; 30(2): 118-28.
6. Sulakvelidze A. Bacteriophage: A new journal for the most ubiquitous organisms on Earth. Bacteriophage 2011; 1(1): 1-2.
7. Weinbauer MG. Ecology of prokaryotic viruses. FEMS Microbiol Rev 2004; 28(2): 127-81.
8. Canchaya C, Fournous G, Chibani-Chennoufi S, Dillmann ML, Brussow H. Phage as agents of lateral gene transfer. Curr Opin Microbiol 2003; 6(4): 417-24.
9. Rahimzadeh G, Gill P, Rezai MS. Characterization and lytic activity of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) phages isolated from NICU. Australas Med J 2016; 9(6): 169-75.
10. Rahimzadeh G, Gill P, Rezai M S. Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) phages from sewage at a tertiary pediatric hospital. Arch Pediatr Infect Dis 2017; 5(1): e39615.
11. Rahimzadeh G, Gill P, Rezai MS. Ultra structural characteristics of methicillin resistant Staphylococcus aureus cell wall after affecting with lytic bacteriophages using atomic force microscopy. Iran J Basic Med Sci 2019; 22(3): 290-5.
12. Gelman D, Beyth S, Lerer V, Adler K, Poradosu-Cohen R, Coppenhagen-Glazer S, et al. Combined bacteriophages and antibiotics as an efficient therapy against VRE Enterococcus faecalis in a mouse model. Res Microbiol 2018; 169(9): 531-9.
13. Debarbieux L, Leduc D, Maura D, Morello E, Criscuolo A, Grossi O, et al. Bacteriophages can treat and prevent Pseudomonas aeruginosa lung infections. J Infect Dis 2010; 201(7): 1096-104.
14. Hung CH, Kuo CF, Wang CH, Wu CM, Tsao N. Experimental phage therapy in treating Klebsiella pneumoniae-mediated liver abscesses and bacteremia in mice. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(4): 1358-65.
15. Kumari S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage versus antimicrobial agents for the treatment of murine burn wound infection caused by Klebsiella pneumoniae B5055. J Med Microbiol 2011; 60(Pt 2): 205-10.
16. Morello E, Saussereau E, Maura D, Huerre M, Touqui L, Debarbieux L. Pulmonary bacteriophage therapy on Pseudomonas aeruginosa cystic fibrosis strains: First steps towards treatment and prevention. PLoS One 2011; 6(2): e16963.
17. Vinodkumar CS, Neelagund YF, Kalsurmath S. Bacteriophage in the treatment of experimental septicemic mice from a clinical isolate of multidrug resistant Klebsiella pneumoniae. J Commun Dis 2005; 37(1): 18-29.
18. Wang J, Hu B, Xu M, Yan Q, Liu S, Zhu X, et al. Use of bacteriophage in the treatment of experimental animal

bacteremia from imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa. Int J Mol Med 2006; 17(2): 309-17.
19. Wang J, Hu B, Xu M, Yan Q, Liu S, Zhu X, et al. Therapeutic effectiveness of bacteriophages in the rescue of mice with extended spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli bacteremia. Int J Mol Med 2006; 17(2): 347-55.
20. Smith HW, Huggins MB. Successful treatment of experimental Escherichia coli infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. J Gen Microbiol 1982; 128(2): 307-18.
21. Smith HW, Huggins MB. Effectiveness of phages in treating experimental Escherichia coli diarrhoea in calves, piglets and lambs. J Gen Microbiol 1983; 129(8): 2659-75.
22. D'Herelle F. On an invisible microbe antagonistic toward dysenteric bacilli: brief note by Mr. F. D'Herelle, presented by Mr. Roux. 1917. Res Microbiol 2007; 158(7): 553-4.
23. Eaton MD, Bayne-Jones S. Bacteriophage therapy: Review of the principles and results of the use of bacteriophage in the treatment of infections. JAMA 1934; 103(23): 1769-76.
24. Nale JY, Chutia M, Carr P, Hickenbotham PT, Clokie MR. 'Get in Early'; Biofilm and wax moth (Galleria mellonella) Models reveal new insights into the therapeutic potential of clostridium difficile bacteriophages. Front Microbiol 2016; 7: 1383.
25. Fiorentin L, Vieira ND, Barioni W. Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of Salmonella Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. Avian Pathol 2005; 34(3): 258-63.
26. Miller RW, Skinner EJ, Sulakvelidze A, Mathis GF, Hofacre CL. Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with Clostridium perfringens. Avian Dis 2010; 54(1): 33-40.
27. Watanabe R, Matsumoto T, Sano G, Ishii Y, Tateda K, Sumiyama Y, et al. Efficacy of bacteriophage therapy against gut-derived sepsis caused by Pseudomonas aeruginosa in mice. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(2): 446-52.
28. Nikkhahi F, Soltan Dallal MM, Alimohammadi M, Rahimi FA, Rajabi Z, Fardsanei F, et al. Phage therapy: Assessment of the efficacy of a bacteriophage isolated in the treatment of salmonellosis induced by Salmonella enteritidis in mice. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2017; 10(2): 131-6.
29. Barrow P, Lovell M, Berchieri A. Use of lytic bacteriophage for control of experimental Escherichia coli septicemia and meningitis in chickens and calves. Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5(3): 294-8.
30. Danelishvili L, Young LS, Bermudez LE. In vivo efficacy of phage therapy for Mycobacterium avium infection as delivered by a nonvirulent mycobacterium. Microb Drug Resist 2006; 12(1): 1-6.
31. Guang-Han O, Leang-Chung C, Vellasamy KM, Mariappan V, Li-Yen C, Vadivelu J. Experimental phage therapy for Burkholderia pseudomallei infection. PLoS One 2016; 11(7): e0158213.
32. Hagens S, Habel A, von Ahsen U, von Gabain A, Blasi U. Therapy of experimental pseudomonas infections with a nonreplicating genetically modified phage. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(10): 3817-22.
33. Heo YJ, Lee YR, Jung HH, Lee J, Ko G, Cho YH. Antibacterial efficacy of phages against Pseudomonas aeruginosa infections in mice and Drosophila melanogaster. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(6): 2469-74.
34. Jeon J, Ryu CM, Lee JY, Park JH, Yong D, Lee K. In vivo application of bacteriophage as a potential therapeutic agent to control OXA-66-like carbapenemase-producing Acinetobacter baumannii strains belonging to sequence type 357. Appl Environ Microbiol 2016; 82(14): 4200-8.
35. Jun JW, Shin TH, Kim JH, Shin SP, Han JE, Heo GJ, et al. Bacteriophage therapy of a Vibrio parahaemolyticus infection caused by a multiple-antibiotic-resistant O3:K6 pandemic clinical strain. J Infect Dis 2014; 210(1): 72-8.
36. Kumari S, Harjai K, Chhibber S. Efficacy of bacteriophage treatment in murine burn wound infection induced by klebsiella pneumoniae. J Microbiol Biotechnol 2009; 19(6): 622-8.
37. 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): 881-98.
38. Lood R, Winer BY, Pelzek AJ, Diez-Martinez R, Thandar M, Euler CW, et al. Novel phage lysin capable of killing the multidrug-resistant gram-negative bacterium Acinetobacter baumannii in a mouse bacteremia model. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59(4): 1983-91.
39. Manohar P, Nachimuthu R, Lopes BS. The therapeutic potential of bacteriophages targeting gram-negative bacteria using Galleria mellonella infection model. BMC Microbiol 2018; 18(1): 97.
40. Vinodkumar CS, Kalsurmath S, Neelagund YF. Utility of lytic bacteriophage in the treatment of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa septicemia in mice. Indian J Pathol Microbiol 2008; 51(3): 360-6.
41. Yin S, Huang G, Zhang Y, Jiang B, Yang Z, Dong Z, et al. Phage Abp1 rescues human cells and mice from infection by pan-drug resistant Acinetobacter baumannii. Cell Physiol Biochem 2017; 44(6): 2337-45.
42. Fukuda K, Ishida W, Uchiyama J, Rashel M, Kato S, Morita T, et al. Pseudomonas aeruginosa keratitis in mice: Effects of topical bacteriophage KPP12 administration. PLoS One 2012; 7(10): e47742.
43. Khairnar K, Raut MP, Chandekar RH, Sanmukh SG, Paunikar WN. Novel bacteriophage therapy for controlling metallo-beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa infection in catfish. BMC Vet Res 2013; 9: 264.
44. Alemayehu D, Casey PG, McAuliffe O, Guinane CM, Martin JG, Shanahan F, et al. Bacteriophages phiMR299-2 and phiNH-4 can eliminate Pseudomonas aeruginosa in the murine lung and on cystic fibrosis lung airway cells. MBio 2012; 3(2): e00029-12.
45. Cha K, Oh HK, Jang JY, Jo Y, Kim WK, Ha GU, et al. Characterization of two novel bacteriophages infecting multidrug-resistant (MDR) Acinetobacter baumannii and evaluation of their therapeutic efficacy in vivo. Front Microbiol 2018; 9: 696.

DOI: *10.22122/jims.v37i524.11601* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 524, 4th Week, June 2019**

Received: 09.04.2018 Accepted: 21.05.2019 Published: 12.06.2019

The Effect of Bacteriophages against Gram-Negative Bacteria Infections in Vivo: A Systematic Review

Golnar Rahimzadeh[1], Fereshteh Farshidi[2], Mohammad Sadegh Rezai[3], Shaghayegh Rezai[2]

Review Article

Abstract

Background: Infections caused by multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria are rising. Bacteriophages are suggested as an alternative treatment option for the treatment of antibiotic-resistant bacteria. Bacteriophages in treatment of Gram-negative bacterial infections is not well investigated in vivo. The aim of this study was to review systematically the studies on bacteriophages against infection caused by Gram-negative bacteria in vivo.

Methods: This systematic review was done using electronic databases, including Scopus, PubMed, Google Scholar, and Web of science; the articles published from 1983 to 2018 were investigated. Studies meeting the inclusion criteria were selected, and the data were estimated using a review method.

Findings: 1310 articles were indexed from which 380 were selected based on their abstracts. Then, some were excluded including clinical trials and in-vitro studies. Finally, experimental studies (n = 31), that met the inclusion criteria and were published in English, were selected.

Conclusion: This review showed that bacteriophages are an effective treatment against n-vivo Gram-negative bacteria infections even be used orally, topically, or subcutaneously injected.

Keywords: Bacteriophage, Gram-negative bacteria, Infection, Systematic review

Citation: Rahimzadeh G, Farshidi F, Rezai MS, Rezai S. **The Effect of Bacteriophages against Gram-Negative Bacteria Infections in Vivo: A Systematic Review.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(524): 427-34.

1- PhD Student, Pediatric Infectious Diseases Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2- Pediatric Infectious Diseases Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
3- Professor, Pediatric Infectious Diseases Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
Corresponding Author: Mohammad Sadegh Rezai, Email: drmsrezaii@yahoo.com