اثر الیاف ضدمیکروبی و برهم‌کنش آنها با جنتامایسین روی سودوموناس آئروژینوزا

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۰۹/۲۱

لیلا قاضی‌عسگر*
روحا کسرای کرمانشاهی

گروه زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل اهمیت، گستردگی و تنوع کاربرد الیاف در مجموعه‌های کلینیکی خصوصا به صورت پانسمان و بانداژ، همچنین شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از انواع مقاوم باکتری‌ها، دستاوردهای دهه اخیر در رشته نانوبیوتکنولوژی با اصلاح الیاف جهت ایجاد خاصیت ضدمیکروبی در آنها، نیازهای بیماران در زمینه سلامتی و بهداشت را برآورده می‌سازند. در این مطالعه اثر ضدمیکروبی نوعی از این الیاف روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی گردید. ***روش بررسی:*** این تحقیق فعالیت ضدمیکروبی نوع خاصی از این الیاف را که توسط کارخانه پلی‌اکریل اصفهان تولید شده بر روی یک سویه سودوموناس آئروژینوزا که از بین ۵۴ نمونه جدا شده از زخم‌های بیماران بستری در بیمارستان عیسی‌بن مریم اصفهان انتخاب گردید و یک سویه استاندارد این باکتری به روش shake flask بررسی و سپس به منظور مقایسه اثر ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، ابتدا حداقل غلظت مهارکننده دو ماده ضدمیکروب روی این سویه‌ها تعیین و متعاقبا برهم‌کنش آنها به روش checkerboard بررسی و غلظت مهاری خاص آنها نیز تعیین گردید. ***یافته‌ها:*** نتایج حاصل بیانگر عدم تأثیر الیاف آنتی‌باکتریال روی دو سویه مورد بررسی می‌باشد اما علی‌رغم MIC بالای جنتامایسین روی این باکتری‌ها (۳μg/ml–۱)، ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروبی با MIC در حد $۱۰^{-۳}$μlit/ml رشد باکتری‌ها را مهار نمود. همچنین تعیین برهم‌کنش بین این دو ماده آنتی‌باکتریال روی سویه جدا شده از زخم به صورت سینرژیسم ارزیابی گرید. ***نتیجه‌گیری:*** برخلاف اثر قابل‌توجه ماده خالص ضدمیکروبی مورد استفاده در ساخت الیاف روی سویه‌های مورد آزمایش، تحقیق حاضر نشان‌دهنده عدم تأثیر الیاف ضدمیکروبی مورد بررسی روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

کلمات کلیدی: الیاف، اثر ضدمیکروبی، سودوموناس آئروژینوزا.

*نویسنده مسئول، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی
تلفن: ۰۹۱۳۳۱۳۴۷۱۶
email: leila_ghaziasgar@yahoo.com

مقدمه

کاربردهای گسترده الیاف (textile) به صورت پانسمان زخم به دلیل خصوصیات بی‌نظیری از قبیل ناحیه سطحی وسیع، قدرت جذب، لطافت و سهولت تولید به صورت محصولات متنوع، بیانگر نقش مهم الیاف در مراقبت از زخم‌ها و پیشگیری از بروز زخم‌های مزمن می‌باشد ضمن اینکه شیوع غیرقابل‌کنترل عفونت‌های بیمارستانی نیز مشکل این بیماران را مضاعف نموده است.[۱] به همین دلیل تلاش‌های زیادی جهت ایجاد خاصیت ضدمیکروبی در الیاف از سال‌ها بلکه قرن‌ها پیش انجام گرفته‌است، به طوری‌که اولین کار علمی در این زمینه، استفاده از بانداژ آغشته به کربولیک اسید یا فنل در جراحی بود که توسط ژوزف لیستر (Joseph Lister) در سال ۱۸۶۷ میلادی ابداع شد.[۲] اما بررسی‌ها به منظور اصلاح الیاف بر اساس مکانیسم بیوشیمیایی بیماری و طرح مولکولی برای ایجاد پارچه‌های محافظ سلامتی با عملکرد بالا، با کشف داروهای جدید، فقط در دهه اخیر ظاهر شده و علم پزشکی را متحول ساخته است.[۲] از جمله این عوامل ضدمیکروبی جدید و مواد پلی‌مری اصلاح شده می‌توان به ترکیبات مس و نقره، چیتوزان، تریکلوزان، نمک‌های آمونیوم چهارظرفیتی و نمک‌های فسفونیوم پلی‌مری، بی‌گوانیدهای پلی‌مری و ترکیبات N-halamin اشاره کرد، که در خلال فرایند ریسندگی یا بعد از آن و تحت شرایط کاملا کنترل شده به الیاف

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]

اضافه می‌گردند. در حقیقت این الیاف در مقابل رشد وسیع باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها مقاومت می‌کنند اما بدان معنا نیست که عاری از میکروب یا استریل هستند. در واقع اصطلاح آنتی‌میکروبیال به یک محدوده وسیع از تکنولوژی‌ها اشاره دارد که می‌توانند درجات مختلفی از محافظت را برای محصولات پارچه‌ای در مقابل میکروارگانیسم‌ها فراهم کنند.[۳] کارخانه پلی‌اکریل اصفهان نیز اخیرا با بهره‌گیری از فن‌آوری شیمیایی و بیوتکنولوژی، الیاف اکریلیک حاوی مولکول‌های آمونیوم چهار ظرفیتی با خاصیت انتی‌باکتریال تولید نموده که قادر به کنترل رشد برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشند. در این پژوهش تأثیر فعالیت ضدمیکروبی این الیاف بر روی یک سویه سودوموناس آئروژینوزا مقاوم جدا شده از زخم بیماران بستری در بیمارستان و یک سویه سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1024) با توجه به شیوع قابل توجه سویه‌های مقاوم این باکتری خصوصا در مجموعه‌های کلینیکی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

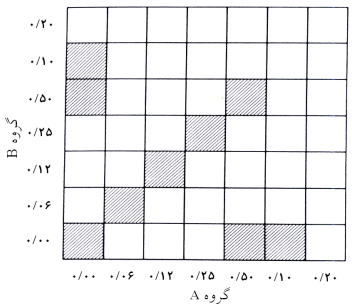
روش بررسی

الف- جداسازی باکتری‌ها از زخم و شناسایی آنها: در این تحقیق که یک مطالعه بنیادی محسوب می‌گردد، زخم‌های عفونی‌شده پوست و بافت نرم بیماران بستری در بیمارستان عیسی بن مریم اصفهان که زمانی در بیمارستان بستری شده یا تحت اعمال جراحی قرار گرفته و از عفونت‌هایی رنج می‌بردند که گاها در حدود یکسال یا حتی بیشتر با آن دست به گریبان بودند، در بهار ۱۳۸۳ نمونه‌برداری و مورد بررسی قرار گرفتند. جهت نمونه برداری از زخم‌ها و آبسه‌ها به ترتیب از سواپ و سرنگ استریل استفاده شد، به طوری‌که ابتدا اطراف زخم را با الکل ۷۰ درجه استریل کرده و پس از برداشتن نمونه، آن را به محیط‌های ژلوز خوندار و تیوگلیکولات منتقل کرده و به مدت ۲۴ ساعت در حرارت 35^{oc} اتوگذاری می‌شود. به منظور شناسایی این باکتری‌ها، ابتدا توسط رنگ‌آمیزی گرم، واکنش گرم و مورفولوژی آنها بررسی و سپس تست‌های بیوشیمیایی لازم برای تشخیص خانواده، جنس و گونه باکتری انجام گرفت.[۴] در این مطالعه هفت سویه سودوموناس آئروژینوزا از ۵۴ نمونه زخم بیماران، جداسازی، شناسایی و مورد بررسی قرار گرفتند. ب- تعیین مقاومت باکتری‌ها با استفاده از تست آنتی‌بیوگرام به روش کربی بائر: به منظور انجام این تست با استفاده از محیط مولر هینتون آگار (Merck) و به روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) حساسیت سویه‌های *P aeruginosa* جدا شده از زخم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول، آمیکاسین، سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکسازین، جنتامایسین، سفالکسین و آمپی‌سیلین بررسی گردید[۴] (دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جهت تست آنتی‌بیوگرام از شرکت پادتن طب تهیه گردید). سپس یک سویه سودوموناس آئروژینوزا مورد آزمایش از بین هفت سویه سودوموناس جدا شده از زخم به دلیل نشان دادن مقاومت‌های چندگانه آنتی‌بیوتیکی و یک سویه سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1024) تهیه شده از کلکسیون میکروبی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، جهت انجام آزمایشات بعدی انتخاب گردیدند. ج- ارزیابی حساسیت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد آزمایش نسبت به ماده خالص ضدمیکروبی مورد استفاده در ساخت الیاف ضدمیکروب به روش چاهک پلیت: در این روش پس از تهیه سوسپانسیون از کشت ۲۴ ساعته باکتری با کدورت مشابه استاندارد ۰/۵ مک فارلند، از رقت ۱/۱۰۰ آن در سرم فیزیولوژی استریل، به روش spread روی محیط مولر هینتون آگار (Merck) تلقیح نموده و سپس در فواصل مناسب چاهک‌هایی به قطر شش میلی‌متر در آگار ایجاد کرده[۱] و به ترتیب ۱۰µl، ۵۰µl، ۱۰۰µl از ماده ضدمیکروبی خالص به هر چاهک اضافه می‌شود، سپس ۲-۱ ساعت پلیت‌ها را در 4^{oc} قرار داده و نهایتا پس از ۴۸-۲۴ ساعت اتوگذاری در 37^{oc}، قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک توسط کولیس تعیین می‌گردد.[۲و۳] برای هر باکتری دو تکرار انجام شد و نتایج با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس تفسیر گردیدند. د- بررسی اثر ضدمیکروبی الیاف بر باکتری‌های مورد آزمایش: در این آزمایش از روش رقت لوله‌ای و قطره پلیت برای شمارش میکروب‌ها و جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی الیاف ضدمیکروبی و همچنین الیاف معمولی از روش شیک فلاسک (shake flask) مطابق با روش استاندارد ASTM E2149-01 (American Society for Testing and Materials) استفاده گردید. به این ترتیب که ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از باکتری مورد نظر با غلظت مشخص ($1/5\times10^{5}$CFU/ml) را به ارلن‌های ۱۰۰ml استریل حاوی ۴۹/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و ۰/۵ گرم از انواع الیاف مورد آزمایش، افزوده و با مخلوط کردن در زمان صفر، اولین رقت مناسب از سوسپانسیون به‌دست آمده را تهیه کرده و به منظور شمارش کلنی‌ها

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]

پنج قطره ۱۰ میکرولیتری از یک سوسپانسیون (با رقت مشخص) روی یک پلیت نوتربنت آگار تلقیح میگردد (روش drop plate). در نهایت، پلیت‌های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه می‌شوند و سپس تمام کلنی‌ها در هر قطره شمارش می‌شود، با هم جمع شده و تقسیم بر پنج می‌گردد (لازم به ذکر است که از نظر آماری تعداد سه تا ۳۰ کلنی در هر قطره قابل قبول می‌باشد).[۵] این عمل شش ساعت و ۲۴ ساعت بعد از زمان صفر و هوادهی ارلن‌ها بر روی شیکر (مدل یونی‌ماکس Heidolph 20.0) (۹۵-۸۵ دور در دقیقه) نیز تکرار می‌گردد. یک ارلن شاهد نیز که حاوی باکتری و بافر فسفات بود، با هریک از آزمایشات، مورد بررسی و شمارش قرار گرفت تا میزان رشد هر یک از باکتری‌ها در بافرفسفات نیز مشخص گردد.[۶،۱] میزان درصد کاهش باکتری‌ها در اثر مجاورت با الیاف ضدمیکروبی طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

درصد کاهش= $\frac{B-A}{B}$ ×۱۰۰ در این فرمول A تعداد کلنی باکتری‌ها بعد از ۲۴ ساعت و B تعداد کلنی باکتری‌ها در زمان صفر در یک میلی‌لیتر محیط مورد استفاده است. داده‌های حاصل با انجام آزمون آنالیز واریانس بررسی گردیدند. و- تعیین Minimal Inhibitory Concentration (MIC) به روش‌های رقت در آگار و میکروپلیت با استفاده از دستگاه الایزاریدر: جهت تعیین MIC ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضدمیکروبی بر باکتری‌های مورد نظر، روش رقت در آگار انتخاب گردید. در این روش هر یک از رقت‌های مورد نظر از ماده آنتی‌باکتریال به حجم مشخصی از محیط مولر- هینتون آگار استریل و مذاب افزوده و در پلیت ریخته می‌شود. یک پلیت فاقد عامل ضدمیکروبی نیز به عنوان کنترل مثبت رشد در نظر گرفته می‌شود. سپس سطح هر پلیت با 1×10^{4}CFU/spot باکتری تلقیح شده و پس از ۲۴ ساعت اتوگذاری، پایین‌ترین غلظت ماده ضدمیکروب که رشد باکتری را به‌طور کامل مهار می‌کند به عنوان MIC گزارش می‌گردد (لازم به ذکر است که در این روش امکان تعیین MBC وجود ندارد).[۴] به منظور تعیین MIC آنتی‌بیوتیک درمانی (جنتامایسین) بر باکتری‌های مورد بررسی، سوسپانسیون تازه باکتری را با رقت 5×10^{5} CFU/ml به چاهک‌های میکروتیترپلیت افزوده و در حضور رقت‌های مورد نظر از جنتامایسین به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ c}$ اتوگذاری می‌شود. (ستون ۱ کنترل مثبت و ستون ۱۲ کنترل منفی می‌باشند). سپس جذب‌نوری چاهک‌ها در طول‌موج ۶۳۰nm بااستفاده از دستگاه



شکل- ۱: روش‌ساده شده checkerboard (MIC داروهای A و B، ۱ فرض‌شده است).[۷]

خواننده الایزا (مدل Statfax-2100 ساخت Awarness Technology INC امریکا) خوانده و رشد یا عدم رشد در آنها بررسی گردید. هر آزمایش دو بار تکرار شد.[۴] متعاقب تعیین MIC جنتامایسین در میکروپلیت، جهت تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC) آن بر روی باکتری‌ها، از چاهک‌هایی که رشدی در آنها مشاهده نشده روی محیط‌کشت MHA کشت داده، پس از ۷۲-۴۸ ساعت اتوگذاری در $37^{\circ C}$، کمترین رقت آنتی‌بیوتیک که سبب از بین رفتن ۹۹/۹٪ باکتری ها شده است به عنوان MBC گزارش می‌گردد.[۴] نتایج MIC دو ماده ضد میکروب با استفاده از آزمون آماری ANOVA مقایسه گردیدند.

ه- تعیین میزان FIC و برهم‌کنش دو ماده ضدمیکروب (ماده خالص ضدمیکروب+ جنتامایسین) روی باکتری‌های مورد آزمایش: برای این منظور از روش checkerboard استفاده گردید به این ترتیب که ۱ml از هر یک از رقت‌های مورد نظر از دو ماده آنتی‌باکتریال شامل غلظت‌های افزایشی هر دو دارو از ۵-۴ رقت پایین‌تر از MIC آنها تا دو برابر MIC، و همچنین غلظت نقطه MIC و یک رقت پایین‌تر از آن برای هر دارو به تنهایی (شکل ۱) به حجم مشخصی (۲۳ml) از محیط مولر- هینتون آگار استریل و مذاب، افزوده و پس از مخلوط‌کردن، در پلیت‌استریل ریخته‌می‌شود. یک پلیت فاقد عامل‌ضدمیکروبی نیز به‌عنوان کنترل مثبت رشد در نظر گرفته‌می‌شود. سپس سطح هر پلیت با 1×10^{4}CFU/spot باکتری تلقیح شده و پس از ۲۴-۱۶ ساعت اتوگذاری در $37^{\circ c}$، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی می‌شوند. در این روش FIC برای هر دارو از تقسیم غلظتی از آن دارو که برای مهار رشد در یک ستون یا ردیف ضروری می‌باشد بر MIC دارو به تنهایی روی باکتری مورد نظر، به‌دست می‌آید و شاخص FIC مطابق فرمول $FIC_{index} = FIC_A + FIC_B = \frac{(A)}{(MIC_A)} + \frac{(B)}{(MIC_B)}$ محاسبه می‌شود:[۷] با این روش، سینرژیسم توسط یک FIC index ≤۰/۵، عدم واکنش بین دو دارو توسط FIC index معادل یک و آنتاگونیسم به عنوان FIC index معادل دو تعیین می‌گردند.[۷]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]

یافته‌ها

در این تحقیق از میان ۵۴ نمونه باکتریایی زخم و آبسه، هفت سویه سودوموناس آئروژینوزا توسط تست‌های متداول بیوشیمیایی آزمایشگاه میکروب‌شناسی شناسایی شده (جدول ۱) و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها به روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) بررسی گردید. نتایج نشان داد یکی از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه بوده به طوری‌که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفالکسین، سفتریاکسون و تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول مقاوم و تنها به آمیکاسین، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین حساس می‌باشد. به همین دلیل این سویه همراه با سویه‌استاندارد سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1024) جهت آزمایشات بعدی انتخاب گردیدند. بررسی قطر هاله‌های عدم رشد باکتری در اطراف چاهک‌های حاوی مقادیر متفاوت از ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضدمیکروبی (روش چاهک پلیت)، نشان‌دهنده اثر مهاری و ضدمیکروبی این ماده بر روی باکتری‌های موردآزمایش می‌باشد به‌طوری‌که قطرهاله عدم رشد در مورد دو سویه‌سودوموناس آئروژینوزا و در همه حالات مورد آزمایش

جدول- ۱: تست‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی سودوموناس آئروژینوزا

واکنش	تست	واکنش	تست
+	پیوسیانین	+	رشد در $42^{\circ}C$
+	تبدیل NO_3 به N_2	−	هیدرولیز نشاسته
+	سیترات	+	حرکت
d**	اوره‌آز	+	ژلاتیناز
+	اکسیداز	+/−	OF*

*** OF= Oxidative Fermentation, **d: different reaction in different strains**

بیش از ۱۲mm گزارش گردید (میانگین دو بار تکرار). با توجه به اینکه خاصیت ضدمیکروبی یک ماده در حالت ترکیب با الیاف نسبت به زمانی که به صورت آزاد وجود دارد، متفاوت می‌باشد بنابراین خاصیت ضدمیکروبی الیاف مورد نظر نیز به روشshake flask بر روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا ارزیابی گردید. نتایج حاصل در جدول ۲ نشان می‌دهند که الیاف حاوی ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی فاقد خاصیت ضدمیکروبی روی باکتری‌های مورد آزمایش می‌باشند. نتایج حاصل از تعیین MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروبی و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در جدول ۳، حاکی از اثر مهارکنندگی (MIC90) قابل توجه این ترکیب نسبت به جنتامایسین بوده و تفاوت معنی‌داری بین MIC ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف و MIC جنتامایسین دیده می‌شود ($p<0/001$). میزان FIC و نوع بر هم

جدول- ۲: میانگین تغییرات رشد سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد آزمایش در مجاورت با الیاف حاوی مواد ضدمیکروب (میانگین ۳ بار تکرار)

باکتری	زمان نمونه‌گیری	شاهد	الیاف معمولی	الیاف ضدمیکروب	p
سودوموناس آئروژینوزا	۰	$1/27\times10^{5}$	$1/13\times10^{5}$	$9/3\times10^{4}$	۰/۷۴
	۶	$8/3\times10^{5}$	$6/8\times10^{5}$	$6/7\times10^{5}$	
	۲۴	$1/23\times10^{7}$	$1/4\times10^{7}$	$1/5\times10^{7}$	
	٪ تغییرات	+٪۹۵۸۵	+٪۱۲۲۸۹/۴	+٪۱۶۰۲۹	
سودوموناس آئروژینوزا (PTCC1024)	۰	$1/5\times10^{5}$	$1/4\times10^{5}$	$1/3\times10^{5}$	۰/۶۸
	۶	$2/1\times10^{5}$	3×10^{5}	$1/8\times10^{4}$	
	۲۴	$3/3\times10^{5}$	$1/6\times10^{5}$	$6/5\times10^{4}$	
	٪ تغییرات	+٪**۱۲۰**	+٪**۱۴**	+٪**۵۰**	

+ : درصد افزایش تعداد باکتری‌ها، - :درصد کاهش تعداد باکتری‌ها، *آزمون آنالیز واریانس، $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول- ۳: مقایسه MIC ماده ضدمیکروبی خالص الیاف با MIC و MBC جنتامایسین بر روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد آزمایش (دو تکرار)

باکتری	ماده خالص ضد میکروبی الیاف (µl/ml)	جنتامایسین (µg/ml)		p (MIC)
	MIC*	MIC	MBC	
سودوموناس آئروژینوزا	۰/۱۸۷	۳	۶۰	<۰/۰۰۱
سودوموناس آئروژینوزا (PTCC1024)	۰/۲۵	۱	۱۰	<۰/۰۰۱

MIC* دو ماده ضد میکروب با استفاده از آزمون آماری ANOVA مقایسه و $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد

جدول- ۴: برهم‌کنش (FIC) ماده ضدمیکروبی خالص الیاف با جنتامایسین بر روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد آزمایش (دو تکرار)

باکتری	FIC_A	FIC_B	FIC_{index}	واکنش
سودوموناس آئروژینوزا	۰/۵	۰/۲۵	۰/۷۵	سینرژیسم (ضعیف)
سودوموناس آئروژینوزا (PTCC1024)	۰/۷۵	۰/۵	۱/۲۵	بدون واکنش

A: ماده ضدمیکروب خالص الیاف، B: آنتی‌بیوتیک جنتامایسین

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]

کنش دو ماده آنتی‌باکتریال مورد بررسی نیز بیانگر سینرژیسم ضعیف و یا عدم واکنش بر روی سویه‌های مورد نظر می‌باشد (جدول ۴).

بحث

حضور غالب سویه‌هایسودوموناس آئروژینوزا با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه در عفونت‌های بیمارستانی از قبیل انواع سوختگی‌ها و بیماران بستری در ICU، مشکلات و هزینه‌های کلینیکی قابل‌توجهی را ایجاد می‌نماید. به همین دلیل بررسی‌های گسترده‌ای جهت یافتن روش‌های مؤثر در کنترل این سویه‌های مقاوم در حال انجام است. یکی از روش‌های پیشنهادی استفاده از الیاف دارای خاصیت ضد میکروب به‌صورت پانسمان به‌منظور پیشگیری یا کنترل رشد این باکتری‌ها می‌باشد. در نتایج این پژوهش همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس مشخص شد که کاهش تعداد باکتری‌ها در سه گروه‌موردآزمون در مورد هریک از سویه‌های بررسی شده فاقد تفاوت آماری معنی‌دار بوده و بنابراین الیاف ضدمیکروبی مذکور تأثیری در کنترل رشد دو سویه سودوموناس آئروژینوزا نداشتند که می‌توان علت آن را با توجه به نحوه عملکرد ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی در سطح دیواره سلولی باکتری‌ها و وجود غشاء خارجی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا (به عنوان باکتری‌های گرم منفی) به صورت سدی در برابر نفوذ این ترکیبات توجیه نمود.[۷] در مقایسه با این نتایج، Shin نیز در سال ۱۹۹۹ غلظت‌های کمتر از ۱٪ الیگومر چیتوزان مورد استفاده در الیاف پلی‌پروپیلن را روی سودوموناس آئروژینوزا فاقد تأثیر گزارش نمود[۸] اما Hayes در سال ۲۰۰۵ درصد کاهش سودوموناس آئروژینوزا جداشده از عفونت‌های ادراری را در مقابل الیاف حاوی ماده ضدمیکروبی با نام تجاری AEM 5700، ۹۹/۹٪ گزارش می‌نماید،[۹] همچنین بررسی‌های Rujitanaroj نیز در سال ۲۰۰۸ حاکی از فعالیت ضدمیکروبی بانداژهای ساخته‌شده از الیاف ژلاتینی با پوشش نانوپارتیکل نقره علیه (ATCC 27853) سودوموناس‌آئروژینوزا می‌باشد.[۱۰] علت وجود این اختلاف در درصد کاهش باکتری‌ها را می‌توان به نوع سویه مورد آزمایش، نوع ماده ضدمیکروب مورد استفاده و شرایط انجام آزمایش مربوط دانست. از سوی دیگر داده‌های‌جدول ۳ نشان می‌دهند که MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروب در مقایسه با MIC و MBC جنتامایسین (که به عنوان اولین داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از Pseudomonas تجویز می‌شود)، دارای تأثیرفوق‌العاده بیشتری در مهار باکتری‌ها نسبت به جنتامایسین می‌باشد و طبق آزمون آماری ANOVA این اختلاف کاملا معنی‌دار است ($p<۰/۰۰۱$). ایجاد اثر ضد میکروبی سینرژیسم ضعیف در نتیجه ترکیب ماده خالص ضدمیکروبی الیاف با جنتامایسین روی‌سویه جدا شده از زخم قابل توجه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد پتانسیل عمل ترکیب آمونیوم چهار ظرفیتی موردبررسی در اثر واکنش با الیاف اکریلیک کاهش یافته به‌طوری‌که برخلاف شکل خالص خود دیگر قادر به کنترل‌رشد سودوموناس‌آئروژینوزا نمی‌باشد. *سپاسگزاری:* از همکاری صمیمانه مسئولین محترم شرکت پلی‌اکریل اصفهان جهت فراهم نمودن امکان استفاده از الیاف ضدمیکروب تولیدشده در این کارخانه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Knill CJ, Kennedy JF, Mistry J, Miraftab M, Smart G, Groocock MR, et al. Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosan for wound dressings. *Carbohydrate Polymers*. 2004, 55: 65-76.
2. Tew GN, Liu D, Chen B, Doerksen RJ, Kaplan J, Carroll PJ, et al. De novo design of biomimetic antimicrobial polymers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 5110-4.
3. Vincent EJ, Vigo TL. Bioactives fibers in haelth care. In: Vincent EJ, Vigo TL, editors. Bioactive Fibers and Polymers. Washington, D.C.: American Chemichal Society: 2001. p. 1-3.
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. Missouri: Mosby Inc: 2002. p. 230-40, 248, 285-95.
5. Pongsamart S, Nanatawanit N, Lertchaipon J, Lipipun V. Novel water soluble antibacterial dressing of durian polysaccharide gel. In: III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 4: Targeted Screening of Medicinal and Aromatic Plants, Economics and Low. Chiang Mai: Thailand, 2005.
6. Renaud FN, Freney J. Les textiles antimicrobiens. Pour to science. 1999, 266.
7. Pillai SK, Moellering C, Elipoulos GM. Antimicrobial combinations. Antimicrobial combination. In: Lorian V, editor. Antibiotic in Laboratory Medicine. Philadelphia: Williams & Wilkins: 2005. p. 365-73.
8. Shin Y, Yoo D, Min K. Antimicrobial finishing of polypropylene nonwoven fabric by treatment with chitosan polygomer. *J App Polym Sci* 1999; 74: 2911-6.
9. Hayes SF, White WC. How antimicrobial treatment can improve nonwovens; 2005. Available from: [http://www.aegisasia.com/improvenonwovens.html].
10. Rujitanaruj PO, Pimpha N, Supaphol P. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer* 2008, 49: 4723-32.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]

Tehran University Medical Journal; Vol. 66, No. 10, Jan 2009: 708-713

Effect of anti-microbial fiber and its interaction with gentamicin on Pseudomonas aeruginosa

Qaziasgar L.*
Kermanshahi R. K.

Department of Biology and Microbiology, Faculty of sciencse, Isfahan University.

Received: August 20, 2007 Accepted: December 12, 2007

Abstract

***Background*:** Because of importance and extensive use of textile in clinical setting especially as bandage, so outbreak of nosocomial infections due to Bacteria resistance; nanobiotechnological advances in recent decade, achieved methods for fabrication antimicrobial effect in fibers that can satisfied the needs of patients in the wake of health and hygiene.

***Methods*:** The antimicrobial effect of special type of fibers produced in Isfahan Poly Acryl Plant on one resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from 54 wound samples of patients in Isabn e Maryam hospital and *P.aeruginosa (PTCC1024)* was studied by using shake flask method. In order to compare the effect of pure antimicrobial agent of the fiber with that of gentamicin, the minimal inhibitory concentration of these agents was tested on strains. The effect of the interaction of these two antimicrobial agents and their fractional inhibitory concentration on chosen strains was studied using checkerboard method.

***Results*:** The results show inefficient effect by antimicrobial fiber on *P.aeruginosa* strains after 24 hrs. But despite the high level MIC of gentamicin on these bacteria (1-3 µg/ml), the MIC of pure antimicrobial agent of fiber at a level of 10^{-3} µl/ml caused growth inhibition. The interaction of these antibacterial agents on the *P.aeruginosa* isolated from wound was evaluated as synergism.

Conclusions: According to this study the antimicrobial effect of the fiber on growth inhibition of *P.aeruginosa* strains is negative (despite of significant effect by pure antimicrobial agent used in produced the antimicrobial fiber on examined strains).

Keywords: Fiber, antimicrobial, effect, *P.aeruginosa.*

*Corresponding author: Department of Biology and Microbiology, Faculty of sciencse, Isfahan University, Isfahan, Iran.
Tel: +98-9133134716
Fax: +98-311-6254355
email: leila_ghaziasgar@yahoo.com

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-12]