

اثر الیاف ضد میکروبی و برهمکنش آنها با جنتامایسین روی سودوموناس آئروژینوزا

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

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل اهمیت، گستردگی و تنوع کاربرد الیاف در مجموعه‌های کلینیکی خصوصاً به صورت پانسمان و بانداز، همچنین شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از انواع مقاوم باکتری‌ها، دستاوردهای دهه اخیر در رشتۀ نانوبوتکنولوژی با اصلاح الیاف جهت ایجاد خاصیت ضد میکروبی در آنها، نیازهای بیماران در زمینه سلامتی و بهداشت را برآورده می‌سازند. در این مطالعه اثر ضد میکروبی نوعی از این الیاف روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی گردید. روش بررسی: این تحقیق فعالیت ضد میکروبی نوع خاصی از این الیاف را که توسط کارخانه پل‌اکریل اصفهان تولید شده بر روی یک سویه سودوموناس آئروژینوزا که از بین ۵۴ نمونه جدا شده از زخم‌های بیماران بستری در بیمارستان عیسی بن 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 ضد میکروب روی این سویه‌ها تعیین و متعاقباً برهمکنش آنها به روش checkerboard بررسی و غلظت مهاری خاص آنها نیز تعیین گردید. یافته‌ها: نتایج حاصل بیانگر عدم تأثیر الیاف آنتی‌باکتریال خالص الیاف روی دو سویه مورد بررسی می‌باشد اما علی‌رغم MIC بالای جنتامایسین روی این باکتری‌ها ($1\text{--}3\mu\text{g}/\text{ml}$)، ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضد میکروبی با MIC در حد $10\text{ }\mu\text{l/ml}^{-3}$ رشد باکتری‌ها را مهار نمود. همچنین تعیین برهمکنش بین این دو ماده آنتی‌باکتریال روی سویه جدا شده از زخم به صورت سینرژیسم ارزیابی گردید. نتیجه‌گیری: برخلاف اثر قابل توجه ماده خالص ضد میکروبی مورد استفاده در ساخت الیاف روی سویه‌های مورد آزمایش، تحقیق حاضر نشان‌دهنده عدم تأثیر الیاف ضد میکروبی مورد بررسی روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

کلمات کلیدی: الیاف، اثر ضد میکروبی، سودوموناس آئروژینوزا.

*لیلا قاضی عسگر

روحا کسرای کرمانشاهی

گروه زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی،
دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

*بیوسته مسئول، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی،
تلفن: ۰۹۱۳۳۱۳۴۲۱۶، email: leila_ghaziasgar@yahoo.com

مقدمه

در جراحی بود که توسط ژوف لیستر (Joseph Lister) در سال ۱۸۶۷ میلادی ابداع شد.^۱ 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 متتحول ساخته است.^۲ از جمله این عوامل ضد میکروبی 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 کاملاً کنترل شده به الیاف

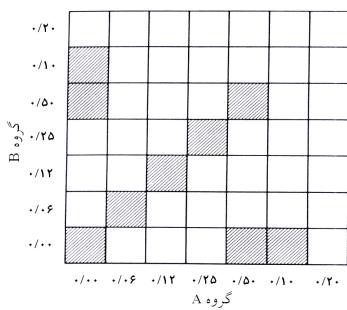
کاربردهای گسترده الیاف (textile) به صورت پانسمان زخم به دلیل خصوصیات بی‌نظیری از قبیل ناحیه سطحی وسیع، قدرت جذب، لطفت و سهولت تولید به صورت محصولات متنوع، بیانگر نقش مهم الیاف در مراقبت از زخم‌ها و پیشگیری از بروز زخم‌های مزمن می‌باشد ضمن اینکه شیوع غیرقابل کنترل عفونت‌های بیمارستانی نیز مشکل این بیماران را مضاعف نموده است.^۱ به همین دلیل تلاش‌های زیادی جهت ایجاد خاصیت ضد میکروبی در الیاف از سال‌ها بلکه قرن‌ها پیش انجام گرفته است، به طوری که اولین کار علمی در این زمینه، استفاده از بانداز آغشته به کربولیک اسید یا فنل

روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) حساسیت سویه‌های *P aeruginosa* جدا شده از زخم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متیپریم-سولفامتوکسازول، آمیکاسین، سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین، سپیروفلوکسازین، 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) نهیه 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 هیتون آگار (Merck) تلقیح نموده و سپس در فواصل مناسب چاهک‌هایی به قطر شش میلی‌متر در آگار ایجاد کرده^۱ و به ترتیب ۱ml، ۱۰ml، ۵۰ml از ماده ضدمیکروبی خالص به هر چاهک اضافه می‌شود، سپس ۱-۲ ساعت پلیت‌ها را در ۴۰°C قرار داده و نهایتاً پس از ۲۴-۴۸ ساعت اتوگذاری در ۳۷°C، قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک توسط کولیس تعیین می‌گردد.^۳ 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 غلاظت مشخص (CFU/ml^۵) 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 به دست آمده را تهیه کرده و به منظور شمارش کلی‌ها

اضافه می‌گرددند. 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 میکرووارگانیسم‌ها فراهم کنند.^۳ کارخانه پلی‌اکریل اصفهان نیز اخیراً با بهره‌گیری از فن‌آوری شیمیایی و بیوتکنولوژی، الیاف اکریلیک حاوی مولکول‌های آمونیوم چهار ظرفیتی با خاصیت آنتی‌باکتریال تولید نموده که قادر به کنترل رشد برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشدند. 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 خصوصاً 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 عفونی شده 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 گاه‌ها در حدود یکسال یا حتی بیشتر با آن دست به گربیان بودند، در بهار ۱۳۸۳ نمونه‌برداری و مورد بررسی قرار گرفتند. جهت نمونه‌برداری از زخم‌ها و آبیسه‌ها به ترتیب از سوپاپ و سرنگ استریل استفاده شد، به طوری که 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 ۳۵°C 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 باائز: به منظور انجام این تست با استفاده از محیط مولر هیتون آگار (Merck) و به



شکل-۱: روش ساده شده
MIC checkerboard
۱ فرض شده است.^۷

خواننده الایزا (مدل 2100 Statfax) ساخت Awarness Technology INC (امریکا) خواننده و رشد یا عدم رشد در آنها بررسی گردید. هر آزمایش دو بار تکرار شد.^۸ 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 محیط کشت MHA کشت داده، پس از ۴۸-۷۲ ساعت اتوگذاری در ۳۷°C، کمترین رقت آنتی‌بیوتیک که سبب از بین رفتن ۹۹/۹٪ باکتری‌ها شده است به عنوان MBC گزارش می‌گردد.^۹ نتایج MIC دو ماده ضد میکروب با استفاده از آزمون آماری ANOVA مقایسه گردیدند. ه- تعیین میزان FIC و برهم‌کنش دو ماده ضد میکروب (ماده خالص ضد میکروب+ 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 ۴-۵ رقت پایین‌تر از MIC آنها تا دو برابر MIC و همچنین غلظت نقطه MIC و یک رقت پایین‌تر از آن برای هر دارو به تنها (شکل ۱) به حجم مشخصی (۲۳ml) از محیط مولر- هیستون آغاز استریل و مذاب، افزوده و پس از مخلوط کردن، در پلیت استریل ریخته می‌شود. یک پلیت فاقد عامل ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل ثابت رشد در نظر گرفته می‌شود. سپس سطح هر پلیت با 1×10^0 CFU/spot 1×10^0 باکتری تلقیح شده و پس از ۲۴ ساعت اتوگذاری، پایین‌ترین غلظت ماده ضد میکروب که رشد باکتری را به طور کامل مهار می‌کند به عنوان MIC گزارش می‌گردد (لازم به ذکر است که در این روش امکان تعیین MBC وجود ندارد).^{۱۰} به منظور تعیین MIC آنتی‌بیوتیک درمانی (جنتامایسین) بر باکتری‌های مورد بررسی، سوسپانسیون تازه باکتری را با رقت 5×10^5 CFU/ml به چاهک‌های میکروتیرپلیت افروده و در حضور رقت‌های مورد نظر از جنتامایسین به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C اتوگذاری می‌شود. (ستون ۱ کنترل ثابت و ستون ۱۲ کنترل منفی می‌باشند). سپس جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰nm با استفاده از دستگاه

پنج قطره ۱۰ میکroliterی از یک سوسپانسیون (با رقت مشخص) روی یک پلیت نوتربینت آگار تلقیح می‌گردد (روش drop plate). در نهایت، پلیت‌های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°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).^{۱۱} این عمل شش ساعت و ۲۴ ساعت بعد از زمان صفر و هوادهی ارلن‌ها بر روی شبکر (مدل یونی‌ماکس 20.0) (Heidolph ۸۵-۹۵) 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 بافر فسفات نیز مشخص گردد.^{۱۲} میزان درصد کاهش باکتری‌ها در اثر مجاورت با الیاف ضد میکروبی طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{درصد کاهش} = \frac{B - A}{B} \times 100$$

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 الایزایریدر: جهت تعیین MIC ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضد میکروبی 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- هیستون آغاز استریل و مذاب افزوده و در پلیت ریخته می‌شود. یک پلیت فاقد عامل ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل ثابت رشد در نظر گرفته می‌شود. سپس سطح هر پلیت با 1×10^0 CFU/spot 1×10^0 باکتری تلقیح شده و پس از ۲۴ ساعت اتوگذاری، پایین‌ترین غلظت ماده ضد میکروب که رشد باکتری را به طور کامل مهار می‌کند به عنوان MIC گزارش می‌گردد (لازم به ذکر است که در این روش امکان تعیین MBC وجود ندارد).^{۱۳} به منظور تعیین MIC آنتی‌بیوتیک درمانی (جنتامایسین) بر باکتری‌های مورد بررسی، سوسپانسیون تازه باکتری را با رقت 5×10^5 CFU/ml به چاهک‌های میکروتیرپلیت افروده و در حضور رقت‌های مورد نظر از جنتامایسین به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C اتوگذاری می‌شود. (ستون ۱ کنترل ثابت و ستون ۱۲ کنترل منفی می‌باشند). سپس جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰nm با استفاده از دستگاه

جدول-۱: تست‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی سودوموناس آنروژینوza

تست	واکنش	تست	واکنش
رشد در ۴۲°C	+	پیوسینین	+
هیدرولیز نشاسته	-	N ₂ به NO ₃	+
حرکت	+	سیترات	+
ژلاتیناز	+	اوره آز	d**
OF*	+/-	اکسیداز	+

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

بیش از ۱۲mm گزارش گردید (میانگین دو بار تکرار). با توجه به اینکه خاصیت ضد میکروبی یک ماده در حالت ترکیب با الیاف نسبت به زمانی که به صورت آزاد وجود دارد، متفاوت می‌باشد بنابراین خاصیت ضد میکروبی الیاف مورد نظر نیز به روش shake flask بر روی سویه‌های سودوموناس آنروژینوza ارزیابی گردید. نتایج حاصل در جدول ۲ نشان می‌دهند که الیاف حاوی ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی فاقد خاصیت ضد میکروبی روی باکتری‌های مورد آزمایش می‌باشند. نتایج حاصل از تعیین MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک جنتامايسین در جدول ۳، حاکی از اثر مهارکنندگی (MIC90) قابل توجه این ترکیب نسبت به جنتامايسین مهار و تفاوت معنی‌داری بین MIC ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف و MIC جنتامايسین دیده می‌شود ($p < 0.01$). میزان FIC و نوع بر هم

یافته‌ها

در این تحقیق از میان ۵۴ نمونه باکتریایی زخم و آبسه، هفت سویه سودوموناس آنروژینوza توسط تست‌های متداول بیوشیمیایی آزمایشگاه میکروب‌شناسی شناخته شده (جدول ۱) و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها به روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) بررسی گردید. نتایج نشان داد یکی از سویه‌های سودوموناس آنروژینوza دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه بوده به طوری که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفالکسین، سفتریاکسون و تری‌متیپریم- سولفامتوکسازول مقاوم و تنها به آمیکاسین، سپروفلوكسازین و جنتامايسین حساس می‌باشد. به همین دلیل این سویه همراه با سویه استاندارد سودوموناس آنروژینوza (PTCC 1024) جهت آزمایشات بعدی انتخاب گردیدند. بررسی قطره‌های عدم رشد باکتری در اطراف چاهک‌های حاوی مقادیر متفاوت از ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضد میکروبی (روش چاهک پلیت)، نشان‌دهنده اثر مهاری و ضد میکروبی این ماده بر روی باکتری‌های مورداً آزمایش می‌باشد به طوری که قطره‌های عدم رشد در مورد دو سویه سودوموناس آنروژینوza و در همه حالات مورد آزمایش

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

باکتری	زمان نموده گیری	شاهد	الیاف معمولی	الیاف ضد میکروب	P
سودوموناس آنروژینوza	سودوموناس	$1/27 \times 10^5$	$1/13 \times 10^5$	$9/3 \times 10^4$	>0.74
	آنروژینوza	$8/3 \times 10^5$	$6/8 \times 10^5$	$6/7 \times 10^5$	<0.74
	سودوموناس	$1/23 \times 10^7$	$1/4 \times 10^7$	$1/5 \times 10^7$	<0.68
	آنروژینوza (PTCC1024)	$+/\!9.585$	$+/\!12289/4$	$+/\!16029$	<0.68
سودوموناس آنروژینوza	سودوموناس	$1/5 \times 10^5$	$1/4 \times 10^5$	$1/3 \times 10^5$	<0.68
	آنروژینوza	$2/1 \times 10^5$	3×10^5	$1/8 \times 10^4$	<0.68
	سودوموناس	$3/3 \times 10^5$	$1/6 \times 10^5$	$6/5 \times 10^4$	<0.68
	آنروژینوza (PTCC1024)	$+/\!120$	$+/\!14$	$+/\!50$	<0.68

+: درصد افزایش تعداد باکتری‌ها، -: درصد کاهش تعداد باکتری‌ها، آزمون آنالیز واریانس، $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول-۴: برهم کشش (FIC) ماده ضد میکروبی خالص الیاف با جنتامايسین بر روی سویه‌های سودوموناس آنروژینوza مورد آزمایش (دو تکرار)

باکتری	FIC _A	FIC _B	FIC _C	واکنش
سودوموناس آنروژینوza	۰/۷۵	۰/۲۵	۰/۵	سینرژیسم (ضعیف)
سودوموناس آنروژینوza	۱/۲۵	۰/۵	۰/۷۵	بدون واکنش

(PTCC1024)

A: ماده ضد میکروب خالص الیاف، B: آنتی‌بیوتیک جنتامايسین

جدول-۳: مقایسه MIC ماده ضد میکروبی خالص الیاف با MBC و MIC جنتامايسین بر روی سویه‌های سودوموناس آنروژینوza مورد آزمایش (دو تکرار)

باکتری	ماده خالص ضد میکروبی الیاف ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	جنتامايسین ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	MBC	MIC	MIC*
سودوموناس آنروژینوza	۰/۱۸۷	۰/۱۸۷	۶	۳	<0.01
سودوموناس آنروژینوza (PTCC1024)	۰/۲۵	۱	۱۰	۱	<0.01

*: دو ماده ضد میکروب با استفاده از آزمون آماری ANOVA مقایسه و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد

نمود^۸ اما Hayes در سال ۲۰۰۵ در صد کاهش سودوموناس آثروژینوزا جدایشده از عفونت‌های ادراری را در مقابل الیاف حاوی ماده ضدمیکروبی با نام تجاری AEM ۵۷۰۰ ۹۹٪ گزارش می‌نماید.^۹ همچنین بررسی‌های Rujitanaroj نیز در سال ۲۰۰۸ حاکی از فعالیت ضدمیکروبی باندازه‌های ساخته شده از الیاف ژلاتینی با پوشش نانوپارتيکل نقره علیه (ATCC 27853) سودوموناس آثروژینوزا می‌باشد.^{۱۰} علت وجود این اختلاف در در صد کاهش باکتری‌ها را می‌توان به نوع سویه مورد آزمایش، نوع ماده ضدمیکروب مورد استفاده و شرایط انجام آزمایش مربوط دانست. از سوی دیگر داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهند که MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروب در مقایسه با MIC و MBC جتنامايسین (که به عنوان اولین داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از Pseudomonas تجویز می‌شود)، دارای تأثیر فوق العاده بیشتری در مهار ANOVA باکتری‌ها نسبت به جتنامايسین می‌باشد و طبق آزمون آماریANOVA این اختلاف کاملاً معنی دار است ($p < 0.001$). ایجاد اثر ضد میکروبی سینرژیسم ضعیف در نتیجه ترکیب ماده خالص ضدمیکروبی الیاف با جتنامايسین روی سویه جدا شده از زخم قابل توجه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد پتانسیل عمل ترکیب آمونیوم چهار ظرفیتی موربدبررسی در اثر واکنش با الیاف اکریلیک کاهش یافته به‌طوری که برخلاف شکل خالص خود دیگر قادر به کنترل رشد سودوموناس آثروژینوزا نمی‌باشد. سپاسگزاری: از همکاری صمیمانه مسئولین محترم شرکت پائی اکریل اصفهان جهت فراهم نمودن امکان استفاده از الیاف ضدمیکروب تولید شده در این کارخانه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Knill CJ, Kennedy JF, Mistry J, Miraftab M, Smart G, Grocock MR, et al. Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosan for wound dressings. *Carbohydrate Polymers*. 2004; 55: 65-76.
- Tew GN, Liu D, Chen B, Doerkens 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.
- Vincent EJ, Vigo TL. Bioactives fibers in health care. In: Vincent EJ, Vigo TL, editors. *Bioactive Fibers and Polymers*. Washington, D.C.: American Chemical Society; 2001. p. 1-3.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Missouri: Mosby Inc; 2002. p. 230-40, 248, 285-95.
- 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.
- Renaud FN, Freney J. *Les textiles antimicrobiens. Pour to science*. 1999, 266.
- 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.
- Shin Y, Yoo D, Min K. Antimicrobial finishing of polypropylene nonwoven fabric by treatment with chitosan polymer. *J App Polym Sci* 1999; 74: 2911-6.
- Hayes SF, White WC. How antimicrobial treatment can improve nonwovens; 2005. Available from: [http://www.aegisasia.com/improvenonwovens.html].
- Rujitanaruj PO, Pimpah N, Supaphol P. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer* 2008, 49: 4723-32.

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 سویه‌های سودوموناس آثروژینوزا با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه در عفونت‌های بیمارستانی از قبیل انواع سوختگی‌ها و بیماران بستری در ICU، مشکلات و هزینه‌های کلینیکی قابل توجهی را ایجاد می‌نماید. به همین دلیل بررسی‌های گستره‌های جهت یافتن روش‌های مؤثر در کنترل این سویه‌های مقاوم در حال انجام است. یکی از روش‌های پیشنهادی استفاده از الیاف دارای خاصیت ضد میکروب به صورت پانسمان به‌منظور پیشگیری یا کنترل رشد این باکتری‌ها می‌باشد. در نتایج این پژوهش همانظور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس مشخص شد که کاهش تعداد باکتری‌ها در سه گروه مورد آزمون در مورد هریک از سویه‌های بررسی شده فاقد تفاوت آماری معنی‌دار بوده و بنابراین الیاف ضدمیکروبی مذکور تأثیری در کنترل رشد دو سویه سودوموناس آثروژینوزا 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 آثروژینوزا (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 آثروژینوزا فاقد تأثیر گزارش

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

Qazisgar L.*
Kermanshahi R. K.

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

Abstract

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

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 Isabne 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 science, Isfahan University, Isfahan, Iran.
Tel: +98-9133134716
Fax: +98-311-6254355
email: leila_ghazisgar@yahoo.com