مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و پنجم/شماره ۸٤/بهار ۱۳۸۶

تـأثیر الیـاف ضـدمیکروبی بـر سـویه‌هـای مقـاوم استافیلوکوک جدا شده از زخم

دکتر روحا کسری کرمانشاهی*، لیلا قاضی عسگر**

* استاد گروه زیست شناسی، بخش میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان
** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۹/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: نیازهای بیماران می‌تواند از طریق کاربرد الیاف دارای خاصیت ضدمیکروبی، به منظور مراقبت از زخم‌ها و پیشگیری از بروز زخم‌های مزمن، برآورده شود. در همین راستا در این تحقیق فعالیت ضـدمیکروبی نـوع خاصی از این الیاف مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها: در این پژوهش، الیاف ضد میکروب تولیدی کارخانه پلی‌اکریل اصفهان، قبل و بعد از عملیات شستشو بـر روی سه سویه استافیلوکوکوس اورئوس و یک سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقـاوم و یـک سـویه استافیلوکوکوس اورئوس شاخص (ATCC 6538P=PTCC 1112) مورد مطالعه و بررسـی قـرار گرفت. ابتدا حساسیت سویه‌های مورد نظر نسبت به اثر مهارکنندگی ماده خالص ضد میکروبی ثابت شـد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) آنها نیز تعیین گردید. در مرحله بعـد توسـط روش شـیک فلاسـک تأثیر فعالیت ضدمیکروبی الیاف فوق قبل و بعد از عملیات شستشو، بر روی این سـویه‌هـا، مـورد بررسـی قرار گرفت. اثر ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف با آنتی بیوتیک پنی‌سیلین G که به عنوان اولین انتخـاب آنتی‌بیوتیکی در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک‌ها تجویز می شود، نیز مقایسه گردید.

یافته ها: الیاف ضد میکروبی با ۳۰٪، ۶۰٪ و ۱۰۰٪ ماده ضدمیکروبی بر روی سویه‌های اسـتافیلوکوکوس پـس از ۲۴ ساعت مؤثر بود. همچنین با وجود MIC بالای پنـی‌سـیلینG بـر روی ایـن بـاکتری‌هـا (۳۲-۶۴ µg/ml)، ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروبی با MIC در حد ۱۰-۴ µl/ml رشد باکتری‌هـا را مهار نمود.

نتیجه گیری: یافته‌های پژوهش حاضر، فعالیت ضدمیکروبی الیاف مورد بررسـی در پیـشگیری و کنتـرل عفونـت‌هـای بیمارستانی ناشی از استافیلوکوکها را مورد تأیید قرار داده و امید است کاربرد بالینی آن‌ها در آینده نزدیک و بعد از مطالعات بالینی موفق، فراهم شود.

واژگان کلیدی: **الیاف ضدمیکروبی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، حداقل غلظت بازدارنده (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MBC).**

تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول ها: ۴
تعداد نمودار ها: –
تعداد منابع: ۱۱

آدرس نویسندهٔ مسئول: لیلا قاضی‌عسگر، گروه زیست شناسی بخش میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان
E-mail: leila_ghaziasgar@yahoo.com

www.mui.ac.ir

مقدمه

بر خلاف پیشرفت‌های علمی قابل توجه در زمینه کنترل عفونت‌های بیمارستانی، هنوز عفونت‌های ناشی از سویه‌های استافیلوکوک مشکلات بالینی فراوانی را به خصوص در مواردی نظیر زخم‌ها و سوختگی‌ها ایجاد می‌کنند. این میکروارگانیسم‌های عفونی‌کننده ممکن است از فلور طبیعی بیمار (endogenous) یا از طریق ارتباط با بیماران دیگر و پرسنل بیمارستان (exogenous) کسب شوند و توسط جا به جایی وسایل آلوده از قبیل ملحفه و لباس پرستاران منتشر گردند. بنابراین به‌منظور پیشگیری و کنترل عفونت‌های بیمارستانی، حذف منابع عفونت و بررسی ریشه‌های انتقال پاتوژن و حساسیت میزبان ضروری می‌باشد(۱). الیاف، به دلیل ویژگی‌های بی‌نظیر و مطلوبی نظیر ناحیه سطحی وسیع، قدرت جذب، لطافت و سهولت تولید به صورت محصولات متنوع مانند لباس، ملحفه و به خصوص پانسمان و بانداژ، کاربرد بالینی گسترده‌ای دارند. همین امر سبب شده است تا به تازگی با پیشرفت‌های نانوبیوتکنولوژی، به منظور بهبود سریع زخم‌ها و همچنین ممانعت از انتقال پاتوژن‌ها، تعداد زیادی محصولات پارچه‌ای با پرداخت ضدمیکروبی برای کاربرد در مجموعه‌های بالینی تولید و تأیید شود(۲). پیشینهٔ این امر به سال‌ها قبل باز می‌گردد به نحوی که ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح نیز از پارچه‌های کتانی آغشته به عسل به عنوان عامل ضدمیکروبی در درمان زخم استفاده می‌شده است؛ بررسی‌های دهه اخیر به منظور اصلاح الیاف برای ایجاد پارچه‌های محافظ سلامتی با عملکرد بالا، با تأکید بر مکانیسم بیوشیمیایی بیماری و طرح مولکولی و با توجه به کشف داروهای جدید، علم پزشکی را متحول ساخته‌است. ترکیبات مس و نقره، چیتوزان، تریکلوزان، نمک‌های آمونیوم چهار ظرفیتی و نمک‌های فسفونیوم پلی‌مری، بی‌گوانیدهای پلی‌مری و ترکیبات N-halamin از جمله عوامل ضدمیکروبی جدید و مواد پلیمری اصلاح شده است که در خلال فرآیند ریسندگی یا بعد از آن و تحت شرایط کاملاً کنترل شده به الیاف اضافه می‌گردند. هر چند این الیاف در مقابل رشد وسیع باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها مقاومت می‌کنند اما، این بدان معنا نیست که این گونه محصولات عاری از میکروب یا استریل هستند. در واقع اصطلاح آنتی‌میکروبیال به یک محدوده وسیع از فن‌آوری‌ها اشاره دارد که می‌توانند درجات مختلفی از محافظت را برای محصولات پارچه‌ای در مقابل میکروارگانیسم‌ها فراهم کنند(۳).

به تازگی در کشور ما نیز کارخانه پلی‌اکریل اصفهان با به کارگیری دانش مهندسی نساجی، فن‌آوری شیمیایی و بیوتکنولوژی و با استفاده از الیاف اکریلیک و ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم (که در تهیه صابون‌ها، لوسیون‌ها و سایر آنتی‌سپتیک‌های پوست کاربرد گسترده‌ای دارند)، الیاف ضدمیکروبی قادر به کنترل رشد برخی از باکتریها و قارچها تولید کرده است. در این پژوهش، تأثیر فعالیت ضدمیکروبی این الیاف قبل و بعد از عملیات شستشو بر روی سه سویه استافیلوکوکوس اورئوس و یک سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم جدا شده از زخم بیماران بستری در بیمارستان مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

روش‌ها

الف- جداسازی باکتری‌ها از زخم و شناسایی آن‌ها:

برای نمونه‌برداری از زخم‌ها و آبسه‌ها به ترتیب از

www.mui.ac.ir

سواپ و سرنگ استریل استفاده شد، به طوری که ابتدا اطراف زخم را با الکل ۷۰ درجه استریل کرده، پس از برداشتن نمونه، آن را به محیط‌های ژلوز خوندار و تیوگلیکولات منتقل کردیم؛ سپس نمونه به مدت ۲٤ ساعت در حرارت $35C^{\circ}$ اتوگذاری شد. به منظور شناسایی این باکتری‌ها، ابتدا توسط رنگ‌آمیزی گرم، واکنش گرم و مورفولوژی آن‌ها بررسی و سپس تست‌های بیوشیمیایی لازم برای تشخیص خانواده، جنس وگونه باکتری انجام گرفت(٤). در این تحقیق ۲۱ سویه استافیلوکوکوس از ٥٤ نمونه زخم بیماران بستری در بیمارستان عیسی بن مریم اصفهان، جداسازی و بررسی شد.

ب- تعیین مقاومت باکتری‌ها با استفاده از تست آنتی‌بیوگرام به روش کربی بائر: به منظور انجام این تست ابتدا با استفاده از محیط مولر هینتون آگار (Merck) و به روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) حساسیت باکتری‌های جدا شده از زخم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین، تری‌متوپریم-سولفونامید، آمیکاسین، سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکسازین، سفتی زوکسیم، نالیدیکسیک اسید، سفالوتین، آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید، اگزاسیلین، جنتامایسین، وانکومایسین، سفوتاکسیم، سفازولین، سفالکسین، کاناماسین، پنی‌سیلین و استرپتومایسین بررسی گردید(٤) (دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جهت تست آنتی‌بیوگرام از شرکت پادتن طب تهیه گردید).

سپس از بین ۲۱ سویه استافیلوکوکوس مورد آزمایش جدا شده از زخم، یک سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سه سویه استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل نشان دادن مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه و یک سویه استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC PTCC 1112 = 6538P) تهیه شده از کلکسیون میکروبی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، جهت انجام آزمایشات لازم انتخاب شد. لازم به ذکر است سه سویه از گونه استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس حساسیت و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از هم متمایز شد که با شماره‌های ۱، ۲ و ۳ مشخص شده‌اند.

ج- ارزیابی حساسیت استافیلوکوک‌های مورد بررسی نسبت به ماده خالص ضدمیکروبی مورد استفاده در ساخت الیاف ضدمیکروب به روش چاهک پلیت: در این روش ابتدا از کشت میکروبی خالص ۲٤ ساعته هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش چندکلنی برداشت شد؛ سپس با اتوگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رسیدن به استاندارد ۰/٥ مک فارلند و تهیه رقت ۱/۱۰۰ از نمونه در سرم فیزیولوژی استریل با سواپ استریل آن را بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش spread به طور یکنواخت تلقیح گردید. آن گاه در فواصل مناسب، چاهک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر در پلیت ایجاد کرده، در ته هر چاهک یک قطره از محیط کشت مولر هینتون آگار استریل ذوب شده اضافه شد(۲). با استفاده از میکروپیپت، به ترتیب 10µl، 50µl و 100µl از ماده ضدمیکروبی خالص به هر چاهک اضافه شده، بعد از ۲-۱ ساعت قرار دادن در یخچال، در $37C^{\circ}$ اتوگذاری شد. پس از ۲٤ و ٤۸ ساعت پلیت‌ها از نظر رشد باکتری‌ها بررسی گردید. برای هر باکتری دو تکرار انجام شد(٤-۳).

د- تعیین MIC (Minimal Inhibitory Concentration) به روش‌های رقت در آگار و میکروپلیت با استفاده از دستگاه خواننده الایزا (Elisa

www.mui.ac.ir

Reader): به‌دلیل عدم حلالیت ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضدمیکروبی، برای تعیین MIC این عامل 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، پس از ۲۴ ساعت اتوگذاری، پایین‌ترین غلظت ماده ضدمیکروب که رشد باکتری را به طور کامل مهار کند، به عنوان MIC گزارش می‌گردد؛ لازم به ذکر است که در این روش امکان تعیین MBC وجود ندارد(٤).

به منظور تعیین MIC آنتی‌بیوتیک درمانی (پنی‌سیلین) بر باکتری‌های مورد بررسی، ابتدا رقت‌های لازم از آن تهیه شد و سپس حدود ۱۰۰ میکرولیتر از آن به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ چاهکی محتوی ۱۰۰ میکرولیتر از محیط‌کشت TSB اضافه گردید. بدین ترتیب که در یک ردیف ۱۲ تایی، در چاهک شماره ۲ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از کم‌ترین غلظت ماده آنتی‌باکتریال ریخته شد، در چاهک شماره ۳، به همان میزان از محلول آنتی‌باکتریال با غلظت دو برابر چاهک شماره ۲، اضافه شد و این روند تا چاهک شماره ۱۱ ادامه یاقت. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری مورد نظر با رقت 5×10^5 CFU/ml، به همه چاهک‌ها (به جز ستون شماره ۱۲) افزوده شد (ستون شماره ۱ کنترل مثبت و ستون شماره ۱۲ کنترل منفی می‌باشد). به علت حجم کم مواد مورد استفاده، پس از بستن درب میکروپلیت، دور آن با پارافیلم بسته و ۲٤ ساعت در دمای ۳۷°c قرار داده شد. سپس جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ٦۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الایزا (مدل Statfax-2100 ساخت Awarness Technology INC ساخت آمریکا) خوانده شد و رشد یا عدم رشد در آن‌ها بررسی گردید. هر آزمایش دو بار تکرار شد(٤).

متعاقب تعیین MIC پنی‌سیلین در میکروپلیت، جهت تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC) آن بر روی باکتری‌ها، از چاهک‌هایی که رشدی در آن‌ها مشاهده نشده بود و نیز چاهک‌های کنترل مثبت و منفی نمونه‌هایی روی محیط کشت MHA کشت داده شد؛ پس از ۷۲-٤۸ ساعت اتوگذاری در ۳۷°C، کم‌ترین رقت آنتی‌بیوتیک که سبب از بین رفتن ۹۹/۹٪ باکتری‌ها شود به عنوان MBC گزارش گردید(٤).

هـ- بررسی وجود آنزیم β-لاکتاماز در باکتری‌ها به روش اسیدومتری: به منظور تعیین مکانیسم مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های β-لاکتام، وجود آنزیم β-لاکتاماز در این باکتری‌ها بررسی شد. برای انجام این آزمایش، PH معرف فنل‌رد ۵٪ حل شده در۲۰ میلیون واحد پنی‌سیلین G با NaOH یک مولار به ۸/۵ رساندیم و یک لوله مویینه به قطر mm ۱-۰/۲ را در آن فرو برده، تا بالا رفتن محلول به میزان cm ۲-۱ در لوله صبر کردیم. سپس سر لوله مویینه را تا حدی که ته لوله توسط باکتری بسته شود روی کلنی‌های باکتری مورد نظر در کشت ۲٤ ساعته روی محیط نوترینت آگار کشیدیم. درصورت تولید آنزیم β-لاکتاماز توسط باکتری، رنگ محلول در عرض ۱۵-۵ دقیقه از بنفش به زرد یا قهوه‌ای تغییر می‌یابد؛ این پدیده به دلیل شکسته شدن پنی‌سیلین G توسط آنزیم و تولید اسید پنی‌سیلوئیک و اسیدی شدن محیط رخ می‌دهد(۵).

www.mui.ac.ir

و- بررسی اثر ضدمیکروبی الیاف بر باکتری‌های مورد آزمایش: در این آزمایش از روش رقت لوله‌ای و قطره پلیت برای شمارش میکروب‌ها و از روش شیک فلاسک (shake flask) جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی الیاف معمولی و نیز الیاف ضدمیکروبی با درصدهای گوناگون ماده ضدمیکروب (۳۰٪، ۶۰٪ و ۱۰۰٪) استفاده گردید. به این منظور، در ارلن‌های استریل حاوی ۴۹/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات، ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از باکتری مورد نظر با غلظت مشخص ($۱/۵\times۱۰^{۶}$CFU/ml) و سپس ۰/۵ گرم از انواع الیاف مورد آزمایش را اضافه کردیم، آن گاه با مخلوط کردن در زمان صفر، اولین رقت مناسب از سوسپانسیون را به دست آوردیم؛ به منظور شمارش کلنی‌ها به روش قطره پلیت (drop plate)، پلیت‌های حاوی آگار به سه قسمت مساوی تقسیم شد و توسط سمپلر، ۱۰ میکرولیتر از یک سوسپانسیون (با رقت مشخص) در یک قسمت از سه قسمت یک پلیت تلقیح گردید. این کار پنج مرتبه انجام می‌شد و در یک قسمت از یک پلیت آگار که مربوط به آن رقت خاص است، پنج قطره ۱۰ میکرولیتری دیده می‌شد. این عمل در دو قسمت دیگر پلیت نیز تکرار می‌گردید و در نهایت بعد از جذب قطرات روی پلیت، پلیت‌های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷° C انکوبه می‌شدند؛ سپس شمارش کلنی‌ها صورت می‌گرفت. به منظور شمارش کلنی، بعد از ۲۴ ساعت با بررسی پلیت‌ها تمام کلنی‌ها در هر قطره شمارش و با هم جمع شده، تقسیم بر پنج می‌گردد (از نظر آماری تعداد ۳ تا ۳۰ کلنی در هر قطره قابل قبول است). این عمل ۶ و ۲۴ ساعت بعد از زمان صفر و هوادهی ارلن‌ها بر روی شیکر (مدل یونی‌ماکس Heidolph 20.0) با ۹۵-۸۵ دور در دقیقه نیز تکرار گردید. یک ارلن حاوی باکتری و بافر فسفات، به عنوان شاهد، با هر یک از آزمایشات مورد بررسی و شمارش قرار گرفت تا میزان رشد هر یک از باکتری‌ها در بافر فسفات نیز مشخص گردد (۶).

ز- روش شستشوی الیاف: برای این کار ابتدا محلولی ۰/۵٪ از پودر لباسشویی با نام تجارتی تاژ (ساخت شرکت شیمیایی بهداد) و با فرمول تریپلی فسفات سدیم، پربورات سدیم، کربنات سدیم، سیلیکات سدیم، سولفات سدیم، سدیم متیلن فسفونات، صابون، پاک‌کننده آنبونیک، پاک‌کننده نانیونیک، آنزیمهای لیپاز، پروتئاز، سلولاز و آمیلاز، اسانس و سایر افزودنی‌های مجاز تهیه و در بن‌ماری به دمای ۷۱±۲°C رسانده شد؛ سپس قطعه‌ای از الیاف به وزن ۰/۵ گرم به ارلن حاوی این محلول اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه با ۲۰۰ دور در دقیقه روی هیتر مگنت‌دار (Heidolph MR3003)، عملیات شستشو انجام گرفت. پس از گذشت زمان ذکر شده، الیاف از محلول خارج و جهت آبکشی اولیه در یک ارلن حاوی آب مقطر استریل قرار داده شد؛ سپس بار دیگر از ارلن اول خارج و به ارلن دیگر حاوی آب مقطر استریل منتقل گردید. در ادامه، با قرار دادن الیاف بر روی قیف و کاغذ صافی (شماره ۱ واتمن) استریل، ۱۰ مرتبه با آب مقطر استریل الیاف آبکشی شد و در آخر با استفاده از پنس استریل تا حد امکان آب آن خارج گردید؛ پس از آن، الیاف برای خشک کردن در یک پلیت استریل بر روی کاغذ صافی استریل گذاشته و در فور با دمای ۵۰° C قرار داده شد. به منظور تهیه الیاف دو بار شسته شده، همه مراحل فوق بار دیگر روی الیاف خشک شده در فور تکرار گردید. پس از

www.mui.ac.ir

جدول ۱. نتیجه تست آنتی‌بیوگرام به روش کربی-بائر بر روی باکتری‌های مورد آزمایش و بررسی وجود آنزیم β-لاکتاماز در آن‌ها

سویه‌های جداشده	نوع آنتی‌بیوتیک																β-lactamase
	پنی‌سیلین	آموکسی‌سیلین	اگزاسیلین	سفازولین	سفالوتین	سفالکسین	سفوتاکسیم	نالیدیکسیک اسید	سیپروفلوکساسین	وانکومایسین	استرپتومایسین	سفتریاکسون	سفتزوکسیم	تتراسیکلین	کانامایسین	آمیکاسین	جنتامایسین	
استافیلوکوکوس اورئوس (۱) (MRSA)	-	I	R	-	R	-	-	R	I	-	-	I	I	-	-	S	R	(+)
استافیلوکوکوس اورئوس (۲)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	(+)
استافیلوکوکوس اورئوس (۳)	R	R	-	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	-	(+)
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	-	-	-	R	S	R	-	-	S	S	-	R	R	-	-	-	S	(-)

خشک شدن الیاف دو بار شسته شده، اثر ضدباکتریایی آن‌ها بر روی باکتری‌های مورد نظر به روش shake flask بررسی شد(۳).

میزان درصد کاهش باکتری‌ها در اثر مجاورت با الیاف ضدمیکروبی طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد کاهش} = \frac{B-A}{B} \times ۱۰۰$$

در این فرمول A، تعداد کلنی باکتری‌ها بعد از ۲٤ ساعت و B، تعداد کلنی باکتری‌ها در زمان صفر در یک میلی‌لیتر محیط مورد استفاده است.

یافته‌ها

- حساسیت سویه‌های استافیلوکوک جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به روش انتشار در دیسک، همچنین وجود آنزیم β-لاکتاماز درآن‌ها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. ایجاد هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها و اندازه‌گیری آن، حساسیت قابل‌توجه باکتری‌های مقاوم مورد بررسی را نسبت به مقادیر متفاوت از ماده خالص آنتی‌باکتریال الیاف ضدمیکروبی ثابت نمود.
- مقایسه MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروبی با MIC و MBC پنی‌سیلین که به عنوان اولین داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از S.aureus تجویز می‌شود، نشان‌دهنده تأثیر فوق‌العاده بیشتر این ماده به عنوان یک عامل باکتریوساید در مهار باکتری‌ها نسبت به پنی‌سیلین می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه نتایج MIC ماده آنتی‌باکتریال خالص الیاف ضدمیکروبی و پنی‌سیلین G بر روی باکتری‌های مورد آزمایش (دو تکرار)

ماده‌ضدمیکروبی / نام باکتری	ماده خالص ضدمیکروبی الیاف(µl/ml) MIC	پنی‌سیلین G (µg/ml) MIC	پنی‌سیلین G (µg/ml) MBC	P value (MIC)
استافیلوکوکوس اورئوس (۱) (MRSA)	۰/۰۰۰۷	۳۲	۱۲۸	<۰/۰۰۰۱
استافیلوکوکوس اورئوس (۲)	۰/۰۰۲	٦٤	۱۲۸	<۰/۰۰۰۱
استافیلوکوکوس اورئوس (۳)	۰/۰۰۲	۳۲	٦٤	<۰/۰۰۰۱
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۰/۰۰۲	۱	۳۲	<۰/۰۰۰۱
استافیلوکوکوس اورئوس *(ATCC6538p)*	۰/۰۰۰۷	۰/۰۳	۰/۲۵	<۰/۰۰۰۱

کاهش تعداد باکتری‌ها در چهار سویه مورد آزمایش در مجاورت شاهد و الیاف گوناگون (قبل و بعد از شستشو) پس از ۲٤ ساعت، با استفاده از روش آماری chi-square آنالیز شد که نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار بین گروه الیاف دارای ماده ضدمیکروب با گروه شاهد و الیاف معمولی بود (P<۰/۰۰۱). به طوری که در جدول ۳ مشاهده

www.mui.ac.ir

جدول ۳. تأثیر ضدمیکروبی الیاف حاوی درصدهای مختلف ماده ضدمیکروب بر روی باکتری‌های مورد آزمایش (قبل از شستشو)

نام باکتری	نوع الیاف	شاهد	الیاف معمولی	الیاف دارای ۳۰٪ ماده آنتی باکتریال	الیاف دارای ۶۰٪ ماده آنتی باکتریال	الیاف دارای ۱۰۰٪ ماده آنتی باکتریال
استافیلوکوکوس اورئوس (۱) (MRSA)	٪۱۹۹ افزایش	٪۱۳۹/۵۳ افزایش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش
استافیلوکوکوس اورئوس (۲)	٪۳۷ کاهش	٪۷۰/۳ کاهش	٪۹۱/۶ کاهش	٪۹۲/۲ کاهش	٪۱۰۰ کاهش
استافیلوکوکوس اورئوس (۳)	٪٤٦۳/۹ افزایش	٪۷۵/۸ افزایش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	٪۵۰۵ افزایش	٪۱۱۶/۵ افزایش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش
استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC6538p)	٪۹۷/۰٤ کاهش	٪۷۹/۰۱ کاهش	٪۹۹/۳۷ کاهش	٪۱۰۰ کاهش	٪۱۰۰ کاهش

می‌کنید، تعداد کلنی‌های سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سویه‌های شماره ۱ و ۳ استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی دارای کاهش ۱۰۰٪ در برابر الیاف حاوی ماده ضدمیکروب با درصدهای گوناگون قبل از شستشو می‌باشند.

جدول ۴. تأثیر ضدمیکروبی الیاف حاوی درصدهای مختلف ماده ضدمیکروب بر روی باکتری‌های مورد آزمایش (بعد از شستشو)

نام باکتری	نوع الیاف	شاهد	الیاف معمولی	الیاف دارای ۱۰۰٪ ماده آنتی باکتریال
استافیلوکوکوس اورئوس (۱) (MRSA)	٪۷۲ افزایش	٪۱/۹ افزایش	٪۸۸ کاهش
استافیلوکوکوس اورئوس (۲)	٪۳۷ کاهش	٪۷۳/۹ کاهش	٪۸۹/۸ کاهش
استافیلوکوکوس اورئوس (۳)	٪٦۸/۲ افزایش	٪٦۲/٤ کاهش	٪۷۷/۲ کاهش
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	٪۱۰۷۸ افزایش	٪٤۹۰/٦ افزایش	٪۵٦۱/۵ افزایش
استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC6538p)	٪۹/۰٤ کاهش	٪۷٤ کاهش	٪۸۷ کاهش

سویه شماره ۲ نیز در برابر الیاف دارای ۱۰۰٪ ماده ضدمیکروب، ۱۰۰٪ کاهش و در مقابل الیاف حاوی ۳۰٪ و ٦۰٪ ماده ضدمیکروب به‌ترتیب ۹۱/٦٪ و ۹۲/۲٪ کاهش نشان می‌دهد. در جدول ٤ نیز مقایسه‌های مربوط به بعد از شستشو آمده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر عفونت‌های بیمارستانی ناشی از سویه‌های استافیلوکوک دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی شیوع زیادی یافته‌است؛ از این رو، برای یافتن عوامل ضدمیکروبی علیه این باکتری به منظور پیشگیری و کنترل گسترش عفونت‌های حاصل از آن، فعالیت‌های گسترده‌ای در حال انجام است(۷). به کارگیری الیاف با خاصیت ضدباکتریایی یکی از روش‌های نوین در این عرصه می‌باشد؛ نتایج حاصل از این پژوهش نیز مبین تأثیر معنی‌دار الیاف مورد بررسی بر روی این باکتری‌هاست، به طوری که ترکیب آمونیوم چهار ظرفیتی مورد استفاده به عنوان ماده خالص ضدمیکروبی در الیاف اکریلیک، قادر بوده است در کم‌ترین مقدار خود یعنی ۱۰ µl نیز رشد سویه‌های مورد مطالعه را به صورت معنی‌داری مهار کند.

در مقایسه با این نتایج، Joiner میزان کاهش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC6538 در برابر الیاف دارای ۱۰۰٪ ماده ضدمیکروبی را ۹۹/٦٪ (۳)، Shin و همکاران مقدار کاهش سویه‌ای از استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به الیاف با غلظت ۰/۰۱٪ از ماده ضدمیکروبی الیگومر چیتوزان را بیش از ۹۰٪ (۸)، McGee و همکاران کاهش رشد در S.aureus جدا شده از زخم در برابر الیاف ضدمیکروبی با نام تجاری sylgard را ۱۰۰٪ (۹) و Salivo کاهش میزان باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (ATCC 12228) در برابر الیاف ضدمیکروبی با نام تجاری Saniwear را ۹۷٪ (۱۰)

www.mui.ac.ir

گزارش می‌کنند؛ علت این اختلاف در میزان کاهش، تفاوت در نوع سویه باکتری، نوع الیاف، نوع ماده ضدمیکروبی و غلظت ماده ضدمیکروبی مورد استفاده و نیز تفاوت در شرایط آزمایش می‌باشد.

همان طور که گفته شد در مطالعه حاضر، کاهش تعداد باکتری‌ها در مقایسه با الیاف شسته شده نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بوده است که عدم تأثیر شستشو بر خاصیت ضدمیکروبی الیاف مورد بررسی را تأیید می‌کند. این نتیجه با نتایج پژوهش Bender و همکاران (۳) و نیز نتایج بررسی Lee و همکاران بر روی الیاف پلی‌استر حاوی ذرات نانونقره(۱۱) همخوانی دارد.

نتیجه گیری: در مجموع، پژوهش حاضر فعالیت ضدمیکروبی الیاف مورد بررسی را در پیشگیری و کنترل عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مورد تأیید قرار می‌دهد. البته، امکان کاربرد این الیاف برای مصارف درمانی در آینده نزدیک و بعد از انجام مطالعات بالینی بیشتر برای ارزیابی اثر آن بر پوست بدن، فراهم خواهد شد.

منابع

1. Takai K, Ohtsuka Y, Nakao M, Yamamoto K, Matsuoka J, Hirai Y. Antibacterial properties of antimicrobial-finished textile products. Microbiol Immunol 2002;46(2):75-81.

2. 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. Carbohyd Polymers 2004;55(1):65-76.

3. Vincent EJ, Vigo TL. Bioactive fibers and polymers. Washington DC: American Chemichal Society; 2001. p. 201-17.

4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, editors. Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 11th ed. Missouri: Mosby; 2002.

5. Lorian V. Antibiotic in laboratory medicine. 5th Edition. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2005.

6. Renaud FN, Freney J. Les textiles antimicrob-iens. Pour to science 1999; 266: 134-140.

7. Allen KL, Hutchinson G, Molan PC. The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VER. Text of a paper presented at the First World Wound Healing Congress. 2000, 10-13 September. Melborn, Australia.

8. Shin Y, Yoo D, Min K. Antimicrobial finishing of polypropylene nonwoven fabric by treatment with chitosan oligomer. J Appl Polym Sci 1999;74(12): 2911-6.

9. McGee JB, Malek JR, White WC. New antimicrobial treatment for carpet applications. 2005. [cited 28 July 2007], Available from URL: http://microbeshield.com/techdocs/How_Antimicrobial_Treatments_Can_Improve_Nonwovens_4B2.pdf

10. Salvio G. A new polyester fibre with anti-microbial activity [on line]. MONTEFIBRE Sp A (ITALY).1999. Available from URL: http://www.mef.it/en/polyester/pdf/sani_con00.pdf

11. Lee HJ, Yeo SY, Jeong SH. Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. J Mater Sci 2003;38(10):2199-204.

www.mui.ac.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 25, No 84, Spring 2007

Received: 17.1.2007
Accepted: 2.3.2007

Effect of Antimicrobial Fibers on the Resistant Strains of Staphylococcus Isolated from Wounds

Kasra Kermanshahi R PhD*, Ghaziasgar L MSc**

* Professor, Department of Biology and Microbiology, Faculty of Sciences, Isfahan University, Isfahan
** Department of Biology and Microbiology, Faculty of Sciences, Isfahan University, Isfahan

Abstract

Background: Some needs of patients can be provided by application of antimicrobial fibers in fabrics preparation. The aim of this study was to assess the antimicrobial effect of a particular kind of these fibers.

Methods: The antimicrobial fibers were produced by Isfahan Poly Acryl company. We studied three resistant Staphylococcus aureus strains, one Staphylococcus epidermidis strain and one standard Staphylococcus aureus strain (ATCC6538p=PTCC1112).
At first sensitivity of sample strains to the controlling effect of pure antimicrobial agent was proved, and then their MIC was determined with agar dilution method. In the next stage, the effect of antibacterial activity of antibacterial fibers on these strains was studied before and after washing. The effect of antimicrobial pure agent of fibers was compared with the effect of penicillin G as the first selected antibiotic for treatment of Staphylococcus originated infections.

Findings: Antimicrobial fibers containing 30%, 60% and 100% antimicrobial agent had significant effects on Staphylococcus strains after 24 hours. In spite of the high MIC of penicillin G on these bacteria (32-64 µg/ml), the antibacterial pure agent of fibers with a MIC about 10-4 µl/ml inhibited the bacteria growth.

Conclusion: The results confirmed the antibacterial activity of examined fibers in preventing and controlling nosocomial infections resulted from Staphylococcus sp. We hope that clinical trial in the near future would provide the possibility of using these fibers in clinical experiences.

Key words: **Antimicrobial Fibers, Staphylococcus Aureus, Staphylococcus Epidermidis, Minimal Inhibitory Concentration (MIC); Minimal Bactericidal Concentration (MBC)**

Page count: 9
Tables: 4
Figures: 0
References: 11

Address of Correspondence: Leila Ghaziasgar MSc, Department of Biology and Microbiology, Faculty of Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran
E-mail: leila_ghaziasgar@yahoo.com

www.mui.ac.ir