Arch Jundishapur
Journal of Medical Sciences

Aug, Sep 2021. Volume 20. Number 3

Research Paper:

Antibacterial Effect of Platelet Concentrate and Amniotic Membrane as two Human-derived Biological Products

Shahrzad Someh Sarai Sabet[1], *Teena Dadgar[1], Hadi Bazzazi[2]

1. Department of Biology, Gorgan Branch, Gorgan, Islamic Azad University, Iran.
2. Department of Medical Laboratory Sciences, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Someh Sarai Sabet Sh, Dadgar T, Bazzazi H. Antibacterial Effect of Platelet Concentrate and Amniotic Membrane as two Human-Derived Biological Products. Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2021; 20(3):262-271. https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.3.2058

https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.3.2058

CC BY NC

Received: 17 Apr 2020
Accepted: 07 Mar 2021
Available Online: 01 Aug 2021

Keywords:
Antimicrobial effect, Blood platelets, Amniotic membrane

ABSTRACT

Background and Objectives: Regarding the increasing spread of bacterial resistance, researchers are always interested in finding effective antibiotics of natural origin. The amniotic membrane and blood platelet concentrate are two biological products with an antibacterial effect. The present study aimed to investigate the antibacterial effect of the biological products on broad-spectrum MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa and methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.

Subjects and Methods *The amniotic membrane*, blood platelet concentrate, *S. aureus*, and *P. aeruginosa* isolates were collected from hospitals in Gorgan City, Iran. The isolates were identified using the biochemical tests. The methicillin-resistant *S. aureus* and MBL-producing *P. aeruginosa* strains were collected by the combined disk and iodometric methods. The antibacterial effects of platelet serial dilutions of bacteria were prepared using 0.5 McFarland turbidity standard suspension in tubes. Then, different concentrations of bacteria were mixed with platelet. After four different encounter durations, a sample was obtained and cultured on medium and bacterial growth was examined. The amniotic membrane was assessed by disk diffusion methods.

Results The results showed that all isolates of *P. aeruginosa* and *S. aureus* were MBL producers. The platelet concentrate showed the antibacterial effect on all S. aureus isolates, whereas it lacked such an effect on P. aeruginosa isolates. It indicates that the amniotic membrane has an antibacterial effect on all *S. aureus* and *P. aeruginosa* isolates.

Conclusion The amniotic membrane and platelet concentrate showed high antimicrobial potential against multidrug-resistant *S. aureus* and *P. aeruginosa* pathogens. Therefore, human-derived natural products can be used as a source for efficient antibiotics.

Corresponding Author:
Teena Dadgar, PhD.
Address: Department of Biology, Gorgan Branch, Gorgan, Islamic Azad University, Iran.
Tel: +98 (911) 1775990
E-Mail: dadgar_teena@yahoo.com

www.SID.ir

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور
مرداد و شهریور ۱۴۰۰ . دوره ۲۰ . شماره ۳

مقاله پژوهشی:

بررسی اثر آنتی‌باکتریال کنسانتره پلاکت و پرده آمنیوتیک به عنوان دو فراورده بیولوژیکی انسانی

شهرزاد صومعه‌سرایی‌ثابت[۱]، *تینا دادگر[۱]، هادی بزازی[۲]

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.
۲. گروه علوم آزمایشگاهی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۲۹ فروردین ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۱۷ اسفند ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف با گسترش روزبه‌روز مقاومت‌های باکتریایی، مطالعات برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های کارآمد با منشأ طبیعی همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. پرده آمنیوتیک و کنسانتره پلاکت دو فراورده بیولوژیکی هستند که دارای اثر ضدباکتریایی هستند. اثر ضدباکتریایی این دو فراورده بیولوژیک بر روی دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، هدف بررسی این پژوهش است.

روش بررسی پرده آمنیوتیک، کنسانتره پلاکت، جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا همگی از بیمارستان‌های شهر گرگان جمع‌آوری شدند. تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی جهت تأیید جدایه‌ها و همچنین تست‌های دیسک ترکیبی و یودومتری برای تعیین جدایه‌های مقاوم به متی‌سیلین و سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز صورت گرفت و اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت از طریق روش رقت‌های سریال از سوسپانسیون باکتری و چهار زمان پس از مجاورت با پلاکت، روی محیط کشت داده شد و سپس بررسی شد. همچنین اثر ضدباکتریایی پرده آمنیوتیک نیز از طریق روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها نتایج نشان‌دهنده این است که همه شش جدایه سودوموناس آئروژینوزا و شش جدایه استافیلوکوکوس اورئوس تولیدکننده بتالاکتاماز بودند. کنسانتره پلاکت دارای اثر ضدباکتریایی بر روی همه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بود، ولی بر روی هیچ‌یک از جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا اثر ضدباکتریایی نشان نداد. پرده آمنیوتیک داری اثر ضدباکتریایی علیه همه جدایه‌های سودوموناس آئروزینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بود.

نتیجه‌گیری پرده آمنیوتیک و کنسانتره پلاکت پتانسیل ضدمیکروبی بالایی علیه پاتوژن‌های دارای مقاومت چندگانه از خود نشان دادند، بنابراین می‌توان از فراورده‌های انسانی با منشأ طبیعی به عنوان منشائی برای جست‌وجوی آنتی‌بیوتیک‌های کارآمد استفاده کرد.

کلیدواژه‌ها:
اثر ضدمیکروبی، پلاکت، پرده آمنیوتیک

مقدمه

بیماری‌های عفونی یکی از دلایل اساسی مرگ‌ومیر و ناتوانی است که با وجود پیشرفت چشمگیر در درمان و پیشگیری همچنان یکی از فاکتورهای تهدیدکننده سلامت به شمار می‌آیند. چنان‌که در بین میکروب‌های بیماری‌زا برای پستانداران مقاومت آنتی‌بیوتیکی با سرعتی هشداردهنده در حال افزایش است [۱،۲]. از طرفی مصرف برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت بالقوه می‌تواند به عنوان عامل بروز عوارض جانبی تهدیدکننده حیات در نظر گرفته شود [۲]. در کنار تولید آنتی‌بیوتیک‌های نسل جدید استفاده از روش‌های بیولوژیکی طبیعی در جهت مبارزه با باکتری‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به پرده آمنیوتیک و کنسانتره پلاکت اشاره کرد. در حال حاضر از پرده آمنیوتیک انسانی به طور گسترده‌ای در جراحی‌های چشم، ترمیم اعصاب محیطی، سوختگی‌ها و جراحی افراد مبتلا به اپیدرمولیزیس بولوزا و همچنین تهیه محیطی مناسب برای تمایز سلول‌های عصبی استفاده می‌شود [۳] و مطالعات نشان داده‌اند که غشای آمنیوتیک به دلیل بیان mRNA الافین، اچ‌بی‌دی ۱-۳ و مهارکننده‌های پروتئاز لوکوسیت ترشحی در اپی‌تلیال آن دارای خاصیت ضدمیکروبی است [۴].

همچنین پلاکت‌ها نیز به عنوان یک فراورده بیولوژیک قادر

* **نویسنده مسئول:**
دکتر تینا دادگر
نشانی: گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۱۷۷۵۹۹۰ (۹۱۱) ۹۸+
رایانامه: dadgar_teena@yahoo.com

www.SID.ir

به آزادسازی کموکاین ضد میکروب از جمله مشتقات پروتئین اولیه پروپلاکت‌ها، thymosin b4 (CXCL5)، هستند. پلاکت‌ها ساختار و عملکرد مشابهی با گرانولوسیت‌ها دارند که دارای خاصیت ضدباکتریایی هستند. درحقیقت در میان سلول‌های خونی پلاکت‌ها با برهم‌کنش دادن با باکتری‌ها و به دام انداختن آن‌ها نقش مهمی در ایمنی در برابر میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند [۵].

اخیراً سازمان جهانی بهداشت با انتشار لیستی از باکترهای مقاوم که تهدیدکننده حیات انسان به شمار می‌روند، خواستار تلاش‌های بیشتر در زمینه کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید علیه این باکتری‌ها شد [۲]. از جمله این باکتری‌ها می‌توان به سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس اشاره کرد. در این پژوهش اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت و پرده آمنیوتیک بر این دو باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

تعداد شش جدایه استافیلوکوکوس اورئوس و شش جدایه سودوموناس آئروزینوزای مولد بتالاکتاماز از نمونه‌های بالینی و از بیماران در شهر گرگان جدا شدند. این باکتری‌ها با استفاده از روش استاندارد شناسایی و به بخش آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی گرگان انتقال یافتند. همچنین از سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (27853ATCC) و سویه‌های استاندارد سودوموناس آئروزینوزا (25923ATCC) همچنین آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین ۲۰ میکروگرم و ایمی‌پنم ۱۰ میکروگرم به عنوان کنترل مثبت در این مطالعه استفاده شد.

جهت تأیید جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جمع‌آوری‌شده، از تست‌های بیوشیمیایی مختلف استفاده شد. این تست‌ها شامل رشد در محیط بلاد اگار، مانیتول سالت اگار، کاتالاز، کواگولاز، و DNase بودند. همچنین جهت تأیید ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جمع‌آوری‌شده، از تست‌های بیوشیمیایی شامل رشد در محیط مک‌کانکی آگار، تست اکسیداز، واکنش در محیط TSI و تست Oxidative-Fermentation، بررسی تحرک، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و تولید پیوسیانین در محیط مولرهینتون آگار استفاده شد [۶]. جهت تعیین فنوتیپی حضور آنزیم بتالاکتاماز در استافیلوکوکوس اورئوس، از تست یودومتری استفاده شد. بدین ترتیب که پنی‌سیلین جی یک میلیون دویست واحدی را با ۴ میلی‌لیتر آب مقطر تزریقی توسط سرنگ مخلوط و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول پنی‌سیلین درون چاهک وارد شد. سپس کلنی باکتری داخل چاهک حل شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. در ادامه به وسیله قطره‌چکان یک قطره نشاسته ۰/۴ درصد به درون چاهک افزوده شد و ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت. در مرحله آخر ۳ میکرولیتر معرف ید به داخل چاهک ریخته شد و گزارش نتایج از ۶۰ ثانیه تا ۵ دقیقه ثبت شد [۷،۸].

جهت شناسایی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از دستورالعمل CLSIA (pproved Standard M100-S15) استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه‌شده از هر سویه باکتری به محیط مولرهینتون حاوی ۴ درصد نمک طعام تلقیح شد. پس از انجام کشت دیسک اگزاسیلین بر روی آن قرار داده شد و بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری شد. ایزوله‌هایی که قطر هاله عدم رشد دیسک اگزاسیلین آن‌ها کمتر یا مساوی ۱۰ میلی‌متر بود، به عنوان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در نظر گرفته شد [۹،۱۰].

بررسی شیوع آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده (ESBL)[1] با روش Combination Disk و با استفاده از دیسک‌های سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرمی)، سفوتاکسیم کلاولانیک اسید (۳۰-۱۰ میکروگرمی) انجام شد. سوسپانسیون باکتریایی با سوآپ استریل در محیط مولرهینتون آگار تلقیح شد و دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاولانیک در محیط قرار داده شد. نتایج بعد از ۱۸ الی ۲۴ ساعت انکوبه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. به این ترتیب که مواردی که در آن‌ها قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک سفوتاکسیم کلاولانیک اسید بیش از پنج میلی‌متر نسبت به سفوتاکسیم افزایش داشت، به عنوان سویه تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شد [۱۱،۱۲].

جهت تهیه پلاکت خون ابتدا افراد واجد شرایط که سابقه بیماری عملکردی پلاکت و ترومبوسیتوپنی کمتر از ۱۰ هزار، سپسیس و مصرف داروهای فیبرینولیتیک را نداشتند، برای مطالعه انتخاب شدند. سپس از اهداکنندگان داوطلب پس از انجام تست غربالگری زمان خون‌روی (BT)[2] و شمارش تام خون (CBC)[3] و در صورت نرمال بودن تست‌ها، حدود ۴۵۰ میلی‌لیتر خون با استفاده از کیسه‌های سه تایی جمع‌آوری شد. سپس خون موردنظر با دور سبک معادل شتاب ثقل g ۲۲۰۰ به مدت ۳-۴ دقیقه در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پلاسمای سرشار از پلاکت به کیسه دوم منتقل شد و با دور تند معادل g ۴۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلاکت‌ها در ته کیسه متراکم شوند. به منظور تغلیظ پلاکت‌ها لایه رویی یا پلاسمای تهی از پلاکت (PPP)[4] به کیسه سوم منتقل شد و تنها ۵۰ سی‌سی پلاسما روی پلاکت‌ها باقی ماند و رسوب پلاکتی تشکیل‌شده در پلاسمای باقی‌مانده شناور شد. پس از آن جهت نگهداری به انکوباتورهای شیکردار با تکان دادن ملایم در دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

1. Extended spectrum beta lactamase
2. Bleeding time
3. Complete Blood Count
4. Platelet-Poor Plasma

www.SID.ir

در این مطالعه ۱۵ نمونه پرده آمنیوتیک به روش نمونه‌گیری تصادفی ساده بدون جایگزینی از میان مادران واجد شرایط انتخاب شد. رنج سنی مادران بین ۲۰ تا ۳۵ سال بود. پرده آمنیوتیک پس از سزارین زنان باردار واجد شرایط مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های سطح شهر گرگان که به شیوه سزارین انتخابی زایمان کرده بودند تهیه شد. نمونه‌ها از میان بیمارانی که عمل سزارین پس از تکمیل دوره بارداری آنان انجام شده بود انتخاب شد. علت انتخاب زایمان سزارین آن بود که امکان آلوده شدن پرده های جنینی با فلور میکروبی واژن در طی زایمان طبیعی وجود دارد. آمنیون و کوریون در شرایط استریل اتاق عمل از هم جدا شده و پرده‌های آمنیوتیک به‌دست‌آمده به وسیله محلول فیزیولوژی، در مدت حداکثر یک ساعت به آزمایشگاه دانشگاه علوم‌پزشکی انتقال یافت. نمونه‌های پرده آمنیوتیک که در این مطالعه از آن‌ها استفاده شد، فاقد هرگونه پارگی زودرس و حاصل زایمان سزارین انتخابی بودند. زنان بارداری که نمونه‌ها پس از زایمان آن‌ها تهیه شد، فاقد بیماری‌های سیستمیک و نیز فاقد سابقه عفونت ادراری تناسلی در سه هفته آخر بارداری بودند. همچنین در هفته آخر بارداری برای آن‌ها از درمان آنتی‌بیوتیکی استفاده نشده بود.

جهت بررسی اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت برای هر سوش باکتری سه رقت $۱/۵\times۱۰^{۶}$، $۱/۵\times۱۰^{۷}$ و $۱/۵\times۱۰^{۸}$ تهیه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر پلاکت مورد آزمون تهیه‌شده از سازمان انتقال خون به هر لوله اضافه شد. لوله چهارم را به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته و فقط باکتری درون آن تلقیح شد. به محض تهیه سوسپانسیون در ساعت اول از همه رقت‌ها و کنترل مثبت ۵ میکرولیتر برداشته و روی محیط مولرهینتون آگار (پلیت ۶سانتی‌متری) کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شدند و این کار برای ۲۴ ساعت به مدت هر ۲ ساعت یک‌بار ادامه داده شد و نتایج ۲۴ ساعت بعد مورد بررسی قرار گرفت [۱۳].

جهت بررسی اثر ضدباکتریایی غشای آمنیوتیک ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شده از هر سویه باکتری به محیط مولرهینتون آگار ریخته شد و به روش متراکم و به طور کاملاً یکنواخت توسط سوآپ استریل بر سطح پلیت کشت داده شد. سپس در مرکز هریک از پلیت‌ها یک قطعه از غشای آمنیوتیک برش یافته (۲×۲ سانتی‌متر) قرار داده شد و درنهایت پلیت کشت‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد [۱۴].

یافته‌ها

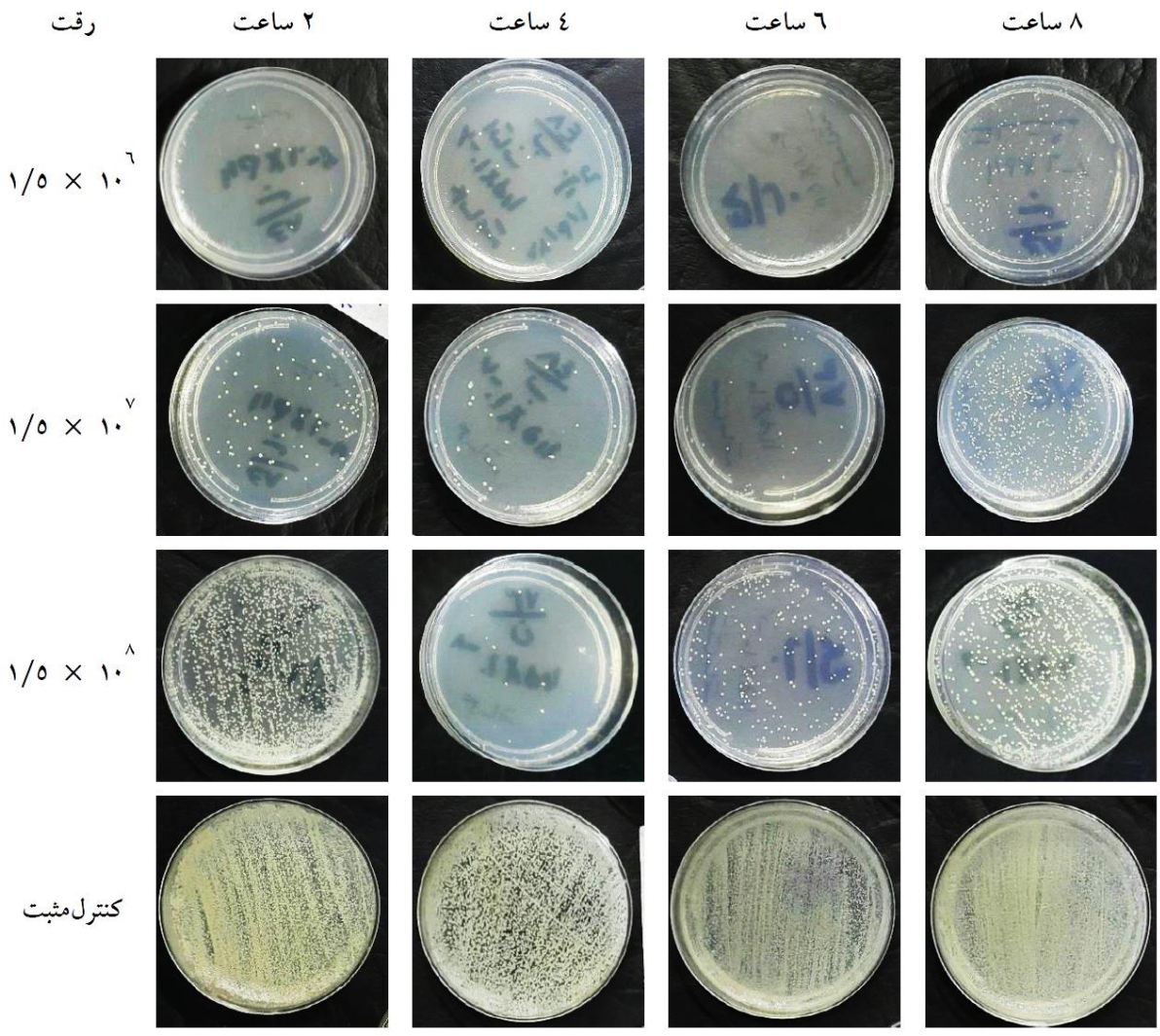
بررسی اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت

در بررسی تولید بتالاکتاماز و مقاومت به متی‌سیلین نتایج حاکی از این بودند که همه شش جدایه استافیلوکوکوس اورئوس موردمطالعه مولد بتالاکتاماز بودند. همچنین سه جدایه نسبت به متی‌سیلین مقاومت نشان دادند. همچنین تمام جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا موردبررسی در غربالگری اولیه بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بر پایه سفوتاکسیم قرار گرفتند و تست تأییدی با استفاده از روش DDTA در حضور کلاونیک اسید انجام شد که شش جدایه موردمطالعه مولد بتالاکتاماز بودند.

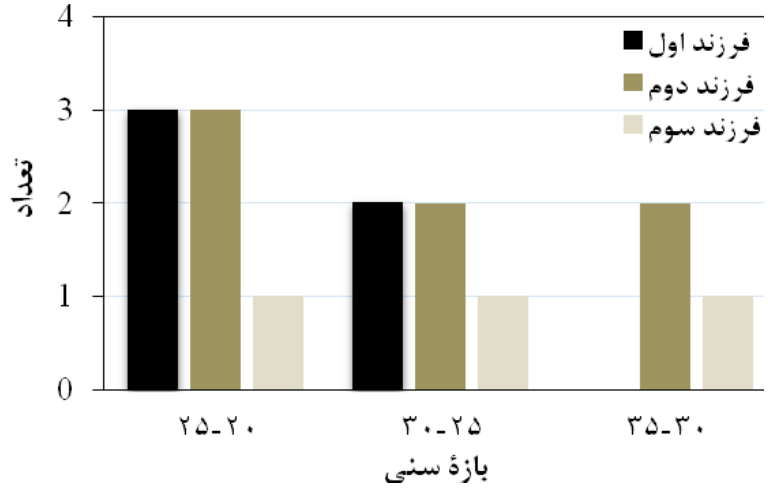
نتایج بررسی اثر آنتی‌باکتریال پلاکت در رقت‌های مختلف باکتریایی نشان داد با ثابت بودن مقدار کنسانتره پلاکت و کاهش رقت باکتری، تعداد کلنی‌های حاصل از کشت هر رقت ($۱/۵\times۱۰^{۸}$، $۱/۵\times۱۰^{۷}$ و $۱/۵\times۱۰^{۶}$) در مجاورت پلاکت در مورد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز در مقایسه با نمونه کنترل (بدون پلاکت) کاهش داشته است. این در حالی است که تعداد کلنی‌ها در همه رقت‌ها برای باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد پلاکت) بدون تغییر است و کاهش رقت باکتری در فعالیت آنتی‌باکتریال پلاکت مؤثر نیست. بنابراین از مجموع شش نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز، همگی آن‌ها در برابر کنسانتره پلاکت حساس بودند. این نتایج در مورد باکتری سودوموناس آئروژینوزا متفاوت بوده و همه سویه‌های بتالاکتاماز مثبت نسبت به کنسانتره پلاکت مقاومت نشان دادند.

بررسی اثر کنسانتره پلاکت در ساعات مختلف بر روی کشت انواع باکتری نشان داد که کنسانتره پلاکت می‌تواند بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز (مقاوم و حساس به متی‌سیلین) مؤثر باشد. این بررسی بعد از گذشت ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ ساعت از زمان کشت انجام شد که در ساعات ۲، ۴، ۶ و ۸ بهترین اثر را بر روی باکتری داشت. نتایج بیان‌کننده این است که در رقت‌های $۱/۵\times۱۰^{۶}$ و $۱/۵\times۱۰^{۷}$ بهترین ساعت اثرگذاری کنسانتره پلاکت ساعت ۶ بوده و در رقت $۱/۵\times۱۰^{۶}$ ساعت ۸ بیشترین کاهش را در تعداد کلنی‌ها نشان داد. کمترین اثرگذاری نیز در ساعت ۱، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ بوده است (تصویر شماره ۱). همچنین اثر پلاکت بر روی باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز نتایجی متفاوت از اثر آن بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را نشان داد. بدین ترتیب که پلاکت بعد از گذشت ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ علیه جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا مؤثر نبودند.

www.SID.ir

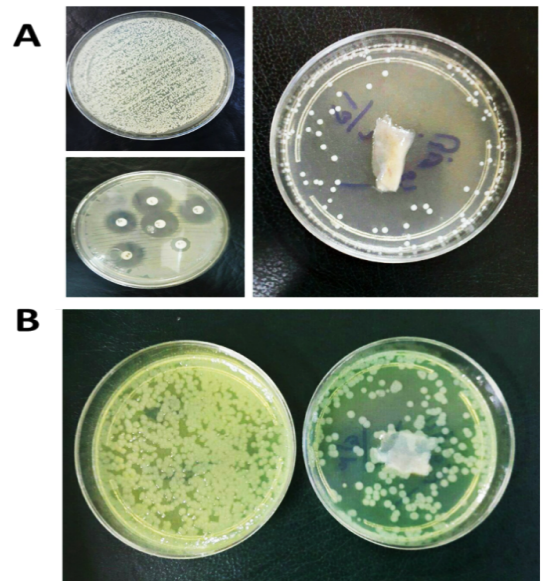


تصویر ۱. تأثیر کنسانتره پلاکت بر روی رقت‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس‌های بتالاکتاماز مثبت در ساعات مختلف



تصویر ۲. مشخصات جمعیت‌شناختی اهداکنندگان پرده آمنیوتیک

www.SID.ir



مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

تصویر ۳. تأثیر پرده آمنیوتیک

الف: تأثیر پرده آمنیوتیک بر استافیلوکوکوس اورئوس (قطر هاله ۲۲ میلی‌متر) مولد بتالاکتاماز در مقایسه با کنترل مثبت و دیسک ونکومایسین (قطر هاله ۱۳ میلی‌متر)؛ ب: تأثیر پرده آمنیوتیک برسودوموناس آئروژینوزای مولد بتالاکتاماز در مقایسه با کنترل مثبت.

بررسی اثر ضدباکتریایی پرده آمنیوتیک

در این مطالعه تعداد پانزده نمونه پرده آمونیوتیک مورد بررسی قرار گرفت که مشخصات جمعیت‌شناختی آن در تصویر شماره ۲ قابل مشاهده است.

به طور کلی از ۱۵ پرده آمونیوتیک موردمطالعه ۱۰ پرده آمونیوتیک اثر ممانعت از رشد علیه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز را نشان می‌دهد. در این مطالعه تمامی ۱۰ نمونه پرده آمنیوتیک مؤثر تهیه‌شده از مادران اثر مشابهی داشتند و همگی قدرت ضدمیکروبی خوبی را علیه جدایه‌های بالینی و سویه استاندارد نشان دادند. شش جدایه استافیلوکوکوس اورئوس بتالاکتاماز موردمطالعه به همراه سویه استاندارد که همگی نسبت به پنی‌سیلین مقاومت بودند نسبت به پرده آمنیوتیک حساس بوده و جدایه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین هم نسبت به پرده آمنیوتیک حساسیت خوبی را نشان دادند. همچنین شش جدایه سودوموناس آئروژینوزای مولد بتالاکتاماز نیز همراه سویه استاندارد همگی نسبت به پرده آمنیوتیک حساس بوده و تأثیر ضدمیکروبی پرده آمونیوتیک در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کنترل قطر هاله بیشتر همراه با کاهش رقت باکتری را نشان داده است (تصویر شماره ۳).

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، تأثیر پرده آمنیوتیک بر سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد ایجادشده باکتری‌های موردمطالعه در حضور پرده آمنیوتیک و مقایسه آن با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک

نمونه	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) در حضور		
	پرده آمنیوتیک	ونکومایسین	ایمی‌پنم
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین مولد بتالاکتاماز	۲۱	۱۴.۳	–
استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین مولد بتالاکتاماز	۱۹.۶	۱۴.۳	–
استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد ۲۷۸۵۲	۱۹	۱۵	–
سودوموناس آئروژینوزای مولد بتالاکتاماز	۱۶.۲	–	۲۵
سودوموناس آئروژینوزای استاندارد ۲۵۹۲۳	۱۵	–	۲۱

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

www.SID.ir

سودوموناس آئروژینوزا بیشتر بوده است. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در مقایسه با نوع حساس به متی‌سیلین حساسیت بیشتری نشان داده و دارای قطر هاله بزرگ‌تری است. نتایج نشان‌دهنده این است که تأثیر پرده آمنیوتیک بر همه سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین بیشتر بود. این در حالی است که برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا شرایط متفاوت بوده و تأثیر آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم بیشتر از پرده آمنیوتیک بوده است.

بحث

گسترش روزافزون مقاومت میکروبی باعث ایجاد چالشی جدی در حوزه درمان شده است به طوری که مسئله درمان بیماران و کنترل بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار داده است. با وجود آنکه طیف گسترده‌ای از مواد با خاصیت آنتی‌میکروبیال در دسترس هستند، اما به دلیل بروز مقاومت باکتریایی در سال‌های اخیر، تلاش محققان در جهت کشف یک ماده آنتی‌باکتریال مؤثر در مدیریت و درمان عفونت‌های زخم و پس از جراحی ادامه دارد. مطالعه حال حاضر با هدف بررسی اثر ضدباکتریایی دو فراورده بیولوژکی شامل کنسانتره پلاکت و پرده آمنیوتیک بر روی دو باکتری سودوموناس ائورژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس صورت گرفت.

اورتس[5] و همکاران، اثر ژل کنسانتره پلاکت انسانی را در درمان عفونت جراحی مفصل زانو بررسی کردند. این مطالعه بر روی ۱۶۵ بیمار مبتلا به استئوارتریت که نیاز به جراحی داشتند، انجام شد. به این صورت که ۸۵ نفر تحت درمان با ژل پلاکتی قرار گرفتند و به نتایج مثبتی در این زمینه رسیدند [۱۵].

یوان[6] و همکارانش نیز عفونت ناشی از استئومیلیت مزمن را که با آنتی‌بیوتیک درمان درمان نشده بود، با استفاده از کنسانتره پلاکت انسانی درمان کرده و به نتایج قابل قبولی در زمینه اثر آنتی‌باکتریال کنسانتره پلاکت انسانی دست پیدا کردند. طی این تحقیق اعلام شد که PRP به دلیل برخورداری از غلظت بالای فاکتورهای رشد و گلبول‌های سفید می‌تواند باعث تسریع فرایند التیام زخم و کاهش واکنش‌های التهابی شود که این دو مکانیسم نشان‌دهنده سودمندی استفاده از PRP در درمان زخم‌های مزمن است [۱۶].

موجن[7] و همکاران، اثر آنتی‌باکتریال ژل کنسانتره پلاکت انسانی فعال‌شده با ترومبین را بر روی زخم پس از جراحی و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و از آن به عنوان یک استراتژی مؤثر در کنترل عفونت‌های پس از جراحی یاد کردند. نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق آن‌ها با نتایج یافت‌شده در این پژوهش مشابه بوده است. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج موجن مطابقت دارد [۱۷].

همچنین در طی این پژوهش مشخص شد که پرده آمنیوتیک علیه هر دو باکتری موردبررسی اثر ضدباکتریایی داشت. در حالی که پلاکت فقط بر روی استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهاری خود را نشان داد.

در مطالعات سایر محققین مشخص شده بود پرده آمنیوتیک تیمار شده با آنتی‌بیوتیک خاصیت آزادسازی تدریجی آنتی‌بیوتیک را داراست. این عامل نیز به وسیله معیارهای خروج از مطالعه ما که شامل عدم مصرف آنتی‌بیوتیک و عدم ابتلا به عفونت توسط مادر باردار در طی سه هفته آخر بارداری بود، به حداقل ممکن رسید، اما با این حال جذب و آزادسازی مواد ضدباکتریایی موجود در مایع آمنیوتیک می‌تواند از عوامل احتمالی اثر ضدباکتریایی پرده آمنیوتیک باشد. در مایع آمنیوتیک مواد ضدباکتریایی از قبیل ایمونوگلوبولین‌ها، بتالیزین و لیزوزیم موجود است که می‌توانند جذب بافت پرده آمنیوتیک شده و در محیط آزمایش آزاد شوند.

در مطالعه مهدی سلطان دلال و همکاران نیز این اثر علیه سودوموناس آئروژینوزا و در مطالعه کیاارگاردا[8] و همکاران نیز خاصیت ممانعت‌کنندگی پرده علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده بود که نتایج آن‌ها با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق هم‌خوانی دارد [۱۸].

در مطالعه مجید زارع بیدکی و همکاران که در سال ۱۳۹۱ با هدف ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی پرده‌های جنینی انسان در محیط آزمایشگاهی انجام شد، بیشترین اثر ضدباکتریایی بر روی سویه‌های استرپتوکوکوس پیوترنر، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس یافت شد و هیچ اثر ضدباکتریایی علیه اشریشیاکلی مشاهده نشده بود. اثر ضدباکتریایی پرده جنینی بر روی استافیلکوکوس اورئوس مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش است [۱۹].

نتیجه‌گیری

نتیجه این مطالعه نشان‌دهنده این است که کنسانتره پلاکت در مقایسه با پرده آمنیوتیک طیف اثر ضدباکتریایی محدودتری دارد، زیرا پرده آمنیوتیک روی هر دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی مولد بتالاکتاماز اثر مهارکنندگی دارد. این در صورتی است که کنسانتره پلاکت تنها بر باکتری گرم مثبت یعنی استافیلوکوکوس اورئوس اثرگذار بود. نتایج بیان‌کننده این است که در رقت‌های $1/5\times10^{6}$ و $1/5\times10^{7}$ بهترین ساعت اثرگذاری کنسانتره پلاکت ساعت ۶ بوده و در رقت $1/5\times10^{6}$ ساعت ۸ بیشترین کاهش را در تعداد کلنی‌ها نشان داد. کمترین اثرگذاری نیز در ساعت ۱، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ بوده است. همچنین نتایج نشان‌دهنده این است که تأثیر پرده آمنیوتیک بر روی سودوموناس آئروژینوزا که گرم منفی است، کمتر از تأثیر آن بر روی استافیلوکوکوس

5. Everts
6. Yuan
7. Moojen
8. Kija ergaarda

www.SID.ir

اورئوس است. این نتیجه از مقایسه قطر هاله ایجادشده توسط پرده آمنیوتیک بر روی کشت هر دو باکتری با کنترل مثبت که دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و ایمی‌پنم بودند، حاصل شد که نشان می‌دهد قطر هاله در اطراف پرده آمنیوتیک برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با قطر هاله همین باکتری در اطراف دیسک ونکومایسین بزرگ‌تر است، ولی در مورد سودوموناس آئروژینوزا قطر هاله اطراف دیسک ایمی‌پنم بیشتر از قطر هاله ایجادشده در اطراف پرده آمنیوتیک است. نتایج همچنین نشان می‌دهند که حساسیت جدایه‌های MRSA به پرده آمنیوتیک نسبت به سویه‌های MSSA بیشتر است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

اصول اخلاقی تماماً در این مقاله رعایت شده است.

حامی مالی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی نویسنده اول در گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

www.SID.ir

Refrences

[1] Maria-Neto S, de Almeida KC, Macedo ML, Franco OL. Understanding bacterial resistance to antimicrobial peptides: From the surface to deep inside. Biochim Biophys Acta. 2015; 1848(11 Pt B):3078-88. [DOI:10.1016/j.bbamem.2015.02.017] [PMID]

[2] Andersson DI, Hughes D, Kubicek-Sutherland JZ. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. Drug Resist Updat. 2016; 26:43-57.[DOI:10.1016/j.drup.2016.04.002] [PMID]

[3] Parolini O, Soncini M, Evangelista M, Schmidt D. Amniotic membrane and amniotic fluid-derived cells: Potential tools for regenerative medicine? Regen Med. 2009; 4(2):275-91. [DOI:10.2217/17460751.4.2.275] [PMID]

[4] Feng G, Yu L. [Research progress of human amniotic membrane applications (Chinese)]. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi. 2014; 31(4):930-4. [PMID]

[5] Sorrentino S, Studt JD, Medalia O, Tanuj Sapra K. Roll, adhere, spread and contract: Structural mechanics of platelet function. Eur J Cell Biol. 2015; 94(3-4):129-38. [DOI:10.1016/j.ejcb.2015.01.001] [PMID]

[6] Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. Jawetz melnick & adelbergs medical microbiology 26/E. New York: McGraw Hill Professional; 2012. https://books.google.com/books?id=OY3DUKbcopAC&q

[7] Microbiologyinfo. Beta lactamase test – principle, procedure, uses and interpretation [Internet]. 2019 [Updated 14 June 2019]. Available from: https://microbiologyinfo.com/beta-lactamase-test/

[8] Ebrahimi M, Dadgar T, Koohsari H. Detection of β -lactamase activity in various clinical coagulase negative staphylococci and its correlation with drug resistance. Paper presented at: 19th International Congress of Microbiology of Iran. 4-6 September; Tehran, Iran. https://civilica.com/doc/782605/

[9] Swenson JM, Spargo J, Tenover FC, Ferraro MJ. Optimal inoculation methods and quality control for the NCCLS oxacillin agar screen test for detection of oxacillin resistance in Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol. 2001; 39(10):3781- 4. [DOI:10.1128/JCM.39.10.3781-3784.2001] [PMID] [PMCID]

[10] Sobhani Poor MH, Mansouri S, Saeidadeli N. [Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Antibiotic Resistance Patterns of the Isolates from the Nose of Training Soldiers in Kerman in 2012 (Prsian)]. Iran J Med Microbiol. 2014; 8(3):15-21. https://ijmm.ir/article-1-348-fa.pdf

[11] Kalantar D, Mansouri S. Emergence of multiple B-lactamases produced by Echerichia coli cilinical isolates hospitalized patient in Kerman, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2010; 3(4):137-45. https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=178917

[12] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 21th informational supplement [Internet]. 2011 [Updated Jan 2011]. Available from: https://www.aeciherj.org.br/publicacoes/clsi.pdf

[13] Abbasnia S, Teymori F, Moradpor M, Derakhshan M, Ghazvini K. [Evaluation of antibacterial effect of hand hygiene gel on different concentrations of bacteria (Persian)]. Med J Mashhad Univ Med Sci. 2017; 59(6):312-21. [DOI:10.1016/j.ejcb.2015.01.001]

[14] Kjaergaard N, Hein M, Hyttel L, Helmig RB, Schønheyder HC, Uldbjerg N, et al. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001; 94(2):224-9. [DOI:10.1016/S0301-2115(00)00345-6] [PMID]

[15] Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. J Natl Med Assoc. 2006; 98(3):398-402. [PMID]

[16] Yuan T, Zhang C, Zeng B. Treatment of chronic femoral osteomyelitis with platelet-rich plasma (PRP): A case report. Transfus Apher Sci. 2008; 38(2):167-73. [DOI:10.1016/j.transci.2008.01.006] [PMID]

[17] Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, Overdevest EP, van Zundert A, Knape JT, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against Staphylococcus aureus. J Orthop Res. 2008; 26(3):404-10. [DOI:10.1002/jor.20519] [PMID]

[18] Soltan Dallal MM, Kalafi Z, Rastegar Lari A, Hosseini SK, Rahimi Foroushani A, Deilami Khiabani Z, et al. The effect of reduced bacterial dilution on human amniotic membrane antibacterial activity, in vitro. Zahedan J Res Med Sci. 2013; 15(5):6-8.

[19] Zare Bidaki M, Lessani T, Khazaie Z. [Evaluation of anti-bacterial effects of chorionic membranes in vitro (In Persian)]. J Birjand Univ Med Sci. 2012; 19(2):140-7. https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=285385

www.SID.ir

Archive of SID

This Page Intentionally Left Blank

www.SID.ir