Archive of SID

دانشور
پزشکی

بررسی اثر پروپامیدین ایزتیونات و پلی‌میکسین «ب» بر آکانتامبای جدا شده از بیماران مبتلا به کراتیت آکانتامبایی در محیط کشت سلولی هلا

نویسندگان: مهدی دلاوری[1*]، دکتر عبدالحسین دلیمی‌اصل[2]، دکتر فاطمه غفاری‌فر[3]، دکتر فریبا خوش‌زبان[4] و یحیی معروفی[1]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲- استاد گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۳- استادیار گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۴- استادیار گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شاهد

* نویسنده مسئول: Email: delavarim@yahoo.com

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال چهاردهم – شماره ۷۰
شهریور ۱۳۸۶

وصول:	۸۵/۱/۳۰
ارسال اصلاحات:	۸۵/۶/۲۸
دریافت اصلاحات:	۸۵/۷/۱۰
ارسال اصلاحات:	۸۵/۸/۲۸
دریافت اصلاحات:	۸۵/۹/۱۰
پذیرش:	۸۵/۹/۲۰

چکیده

هدف: آکانتامبا، تک یاخته‌ای آزادزی است که در آب، خاک، هوا و حتی در حلق انسان یافت می‌شود. این انگل، عامل کراتیت آمیبی در افراد استفاده‌کننده از لنزهای تماسی است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر پروپامیدین ایزتیونات و پلی‌میکسین «ب» بر آکانتامبای جدا شده از بیماران دارای لنزهای تماسی مبتلا به کراتیت آکانتامبایی در محیط کشت سلولی هلا بوده است.

روش مطالعه: نمونه‌های مورد استفاده ابتدا در محیط کشت آگار غیرمغذی (Non nutrient agar) (N.N.A) و همچنین در محیط کشت اگزنیک کشت داده شدند. سپس ایزوله‌ها به چاهک‌های حاوی سلول‌های هلا انتقال یافتند پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت کشت انگل، پروپامیدین ایزتیونات یا پلی‌میکسین «ب» به چاهک‌های حاوی سلول‌های هلا اضافه شد (پروپامیدین ایزتیونات دوزهای۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و پلی‌میکسین «ب» دوزهای ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی). میزان رشد انگل در حضور دارو پس از ۲۴ ساعت بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در همه غلظت‌ها، پروپامیدین ایزوتیونات و پلی‌میکسین «ب» در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنادار است و پروپامیدین ایزوتیونات با غلظت ۱۰میکروگرم بر میلی‌لیتر بیش‌ترین تأثیر را در ممانعت از رشد انگل دارد.

نتیجه‌گیری: تأثیر دوزهای مختلف از داروهای مذکور بر ایزوله‌های انگل متفاوت بوده، افزایش مدت زمان رشد انگل، باعث کاهش اثر بخشی دارو می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آکانتامبا، کراتیت آکانتامبایی، پروپامیدین ایزتیونات، پلی‌میکسین «ب»، کشت سلولی هلا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آکانتامبا تک‌یاخته‌ای آزادزی است که پراکندگی وسیعی در طبیعت دارد. این آمیب در مرحله تروفوزوئیتی قادر به رشد، تقسیم و تغذیه است. انگل در شرایط نامساعد محیطی، کیست‌های مقاومی را تشکیل می‌دهد. تروفوزوئیت دارای ضمائمی میخ مانند و بر آمده از سطح بدن است و فرم کیستی به اشکال مختلف ستاره‌ای، شش گوش یا چند گوشه دیده می‌شود. این فرم دو جداره و لایه خارجی آن چروکیده است. کیست‌ها در برابر خشکی و عوامل فیزیکی و شیمیایی مقاومند و به همین دلیل در محیط‌های مختلف دیده می‌شوند. این انگل دارای گونه‌های مختلف بیماری‌زا و غیربیماری‌زا است که در بخش وسیعی از محیط پراکنده‌اند و از مکان‌های مختلف از قبیل آب لوله‌ها، استخر، بتری‌های آب معدنی، خاک، و هوا قابل جدا شدن است[۱،۲و۳]. گونه‌های مختلف آکانتامبا در محیط کشت آگار غیرمغزی (N.N.A) همراه اشرشیا کلی، به‌عنوان منبع غذایی، و در دمای ۲۸°c رشد می‌کنند [۳و۴]. آکانتامبا عامل بیماری کراتیت آمیبی و آنسفالیت آمیبی گرانولوماتوزی است. کراتیت آکانتامبایی بیماری دردناکی محسوب می‌شود که با علائمی از قبیل حلقه اینفیلتره شده در قرنیه، تخریب سطوح اپیتلیال قرنیه و درد شدید چشم همراه است. در سطح خارجی این انگل، پروتئینی تحت عنوان پروتئین باند شونده به مانوز (manose binding protein: MBP) وجود دارد که به کربوهیدرات‌های موجود در سطح اپی‌تلیال قرنیه متصل می‌شود و در واقع، اولین مرحله در پاتوژنیسیته انگل است [۵،۶و۷]. کراتیت ناشی از آلودگی به این انگل، انتخاب دارو، و یا ترکیب دارویی مناسب برای درمان بیمار بسیار حائز اهمیت است. این دارو باید علیه گونه‌های مختلف انگل مؤثر بوده، برای بافت‌های چشم بیمار سمی نباشد. در واقع، این انگل به درمان ضدمیکروبی مقاوم است و درمان قطعی برای آن وجود ندارد [۸و۹]. به‌منظور یافتن دارویی مناسب برای درمان بیماری کراتیت آکانتامبایی، مطالعات متعددی صورت گرفته و محققان داروهای مختلفی از قبیل پروپامیدین ایزتیونات، کلرهگزیدین، پنتامیدین، نئومایسین و... را در این زمینه آزموده‌اند [۱۰،۱۱و۱۲]. در برخی موارد نیز داروها به‌صورت ترکیبی مورد استفاده قرار گرفته است. در میان محققان، سیل (Seal) در سال ۲۰۰۳ ترکیب پروپامیدین ایزتیونات و کلرهگزیدین را به‌کار برد و نتایج خوبی از این مطالعه به‌دست آورد[۱۳]. در تجربه‌ای دیگر ترکیب پروپامیدین ایزتیونات و نئومایسین مورد استفاده قرار گرفت [۱۴]. مقایسه دو داروی پاویدین یودین و کلرهگزیدین نشان داد که فعالیت ضدمیکروبی داروی پاویدین یدین بر آکانتامبا حدود ۰/۵ تا ۲/۵ درصد بیش‌تر از داروی کلرهگزیدین است[۱۵]. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر مصرف داروهای پروپامیدین ایزتیونات و پلی‌میکسین «ب» بر آکانتامباهای جدا شده از بیماران دارای لنزهای تماسی مبتلا به کراتیت آکانتامبایی در محیط کشت سلولی هلا بوده است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری از بیماران

به کمک چشم پزشک، برش‌هایی در قرنیه افراد مبتلا به کراتیت آکانتامبایی که به بیمارستان فارابی مراجعه کرده بودند ایجاد شد و نمونه‌ها در بافر Page's Saline نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. ۲۱ نمونه از بیماران (۱۲ مرد و ۹ زن با پراکندگی نامنظم سنی ۲۰ تا ۷۲ سال) گرفته شد و قبل از شروع تحقیق برای انتخاب نمونه‌ها از نتایج بررسی‌های مولکولی دیگر محققین استفاده گردید. با استفاده از نتایج مطالعات مولکولی صورت گرفته بر روی ایزوله‌ها، سه ایزوله «الف»، «ب» و «ج» مورد استفاده قرار گرفت و با توجه به یکسان بودن برخی ایزوله‌ها سعی شد سه ایزوله کاملاً متفاوت انتخاب شود. قابل ذکر است از افراد مورد آزمایش رضایتنامه کتبی اخذ شد.

مشخصات مربوط به سه ایزوله مورد آزمایش

ایزوله «الف»: آقایی ۴۸ ساله که از لنز تماسی استفاده می‌کرد و دارای زخم وسیع قرنیه در چشم راست بود. او با شکایت از درد و تاری دید به بیمارستان فارابی

www.SID.ir

Archive of SID

مراجعه کرده بود. نتایج کشت و آزمایش‌های میکروسکوپی تراشه قرنیه نسبت به آلودگی با آکانتامبا مثبت گزارش شد.

ایزوله «ب»: آقایی ۲۹ ساله که از لنز تماسی استفاده می‌کرد و با شکایت از درد، تورم و تاری دید چشم چپ به بیمارستان فارابی مراجعه کرد. نتایج کشت و آزمایش‌های میکروسکوپی تراشه قرنیه نسبت به آلودگی با آکانتامبا مثبت گزارش شد.

ایزوله «ج»: خانم ۲۴ ساله‌ای که از لنز تماسی استفاده می‌کرد و با شکایت از درد و تاری دید در چشم راست به بیمارستان فارابی مراجعه کرد. نتایج کشت و آزمایش‌های میکروسکوپی تراشه قرنیه نسبت به آلودگی با آکانتامبا مثبت گزارش شد.

هیچ یک از افراد، بیماری دیگری نداشت و تحت درمان دارویی نیز نبود. همچنین مطالعات قبلی به روش مولکولی (PCR) بر روی این سه ایزوله نشان داد که ایزوله‌ها از لحاظ خصوصیات مولکولی کاملاً متفاوتند.

کشت ایزوله‌های آکانتامبا

نمونه‌ها در محیط کشت آگار غیرمغذی (N.N.A) به همراه باکتری اشرشیاکلی، به‌عنوان منبع غذایی، کشت و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس تعدادی از نمونه‌ها در محیط کشت اگزنیک کشت گردیدند. برای تهیه این محیط، مواد زیر در یک لیتر آب‌مقطر حل‌شدند:

۲۰ گرم protease peptone، ۲ گرم Yeast extract، ۰/۹۸ گرم Magnesium sulfate، ۱ گرم Sodium Citrate، ۰/۰۲ گرم Ferric ammonium، ۰/۳۵۵ گرم KH_2PO_4, $7H_2O$ و ۱۸ گرم Glucose. در ضمن این عمل، مقدار ۰/۰۵۹ گرمCaCl2 به آرامی به محیط اضافه شد.

در کشت اگزنیک برای جدا کردن کیست‌های آکانتامبا، سطوح پلیت حاوی محیط NNA با استفاده از PBS شستشو داده شدند. به‌منظور حذف سایر میکروارگانیزم‌های همراه آمیب، رسوب حاصل سه بار با اسید کلریدریک ۳ درصد شستشو داده شد. تعداد 10^4 کیست از هر ایزوله به فلاسک حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط اگزنیک افزوده شد و نمونه‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

کشت سلول هلا

سلول هلا از مؤسسه پاستور تهیه شد و در محیط (Dulbeccos Mod. Eagle Medium: DMEM) به همراه سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum: FBS) ۱۰ درصد کشت داده شد. فلاسک‌های حاوی سلول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و $5CO_2$ درصد انکوبه شدند.

کشت سه ایزوله «الف»، «ب» و «ج» در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای و اضافه کردن دارو: بعد از تشکیل منولایر در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای ۵۰۰۰ انگل به هر ۳ چاهک از هر ردیف اضافه شد، به این صورت که هر ستون از پلیت به ایزوله‌ای مجزا از انگل اختصاص داشت و ستون چهارم پلیت به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

در مرحله اول تحقیق، به انگل ۲۴ ساعت فرصت رشد داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پروپامیدین ایزتیونات و نیز ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی از پلی‌میکسین «ب» به محیط کشت حاوی انگل اضافه شد، بدین‌صورت که در ۲ ردیف اول چاهک‌ها به ترتیب مقادیر ذکر شده از پروپامیدین ایزتیونات و در ۲ ردیف دوم، مقادیر ذکر شده پلی‌میکسین «ب» اضافه گردید. به‌عنوان کنترل، به‌طور همزمان و در شرایط کاملاً یکسان به چاهک حاوی سلول فقط انگل اضافه شد. ۲۴ ساعت پس از اضافه کردن دارو، شمارش تعداد انگل انجام شد. در مرحله دوم تحقیق، به انگل ۴۸ ساعت فرصت رشد داده شد. سپس مشابه مرحله اول، دوزهای مذکور از داروها اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت، شمارش تعداد انگل انجام شد. اضافه کردن انگل‌ها به محیط سلولی در شرایط کاملاً کنترل شده باعث شد که انگل به فرم تروفوزوئیت تبدیل شود. این امر در کشت‌های کنترل نیز کاملاً مشهود بود، به‌طوری‌که در محیط سلولی تا ۷۲ ساعت پس از کشت، انگل از شرایط مساعد زیستی برخوردار بود و به فرم کیستی تبدیل نشد و موارد تبدیل به فرم کیستی ۷۲ ساعت پس از

www.SID.ir

Archive of SID

کشت مشاهده گردید که همزمان با تخریب کامل منولایر سلولی بود؛ یعنی عملاً در زمان افزودن دارو، انگل به فرم تروفوزوئیت بود و فرم کیستی وجود نداشت و در واقع، ما اثر دارو را بر حالت مهاجم (تروفوزوئیت) انگل بررسی کردیم.

محاسبات و تحلیل آماری

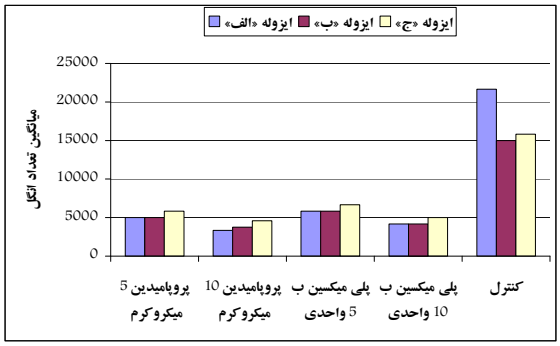
برای محاسبات آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها روش One Way ANOVA و آزمون Mann-Whitney U با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد استفاده قرار گرفت. درصد عدم رشد نیز به‌صورت زیر محاسبه شد:

درصد عدم رشد انگل = $\frac{\text{میانگین تعداد انگل در گروه مورد} - \text{میانگین تعداد انگل در گروه کنترل}}{\text{میانگین تعداد انگل در گروه کنترل}} \times ۱۰۰$

نتایج

میانگین تعداد انگل پس از اضافه کردن دارو: در مرحله اول، در هر سه ایزوله، حداکثر میزان رشد در چاهک حاوی پلی‌میکسین «ب» ۵ واحدی و کم‌ترین میزان رشد در چاهک حاوی پروپامیدین ایزتیونات ۱۰ میکروگرمی مشاهده شد. در هر سه ایزوله، میانگین تعداد انگل با گروه کنترل دارای اختلاف معنادار بود (جدول ۱) (نمودار ۱). نتایج به‌دست آمده در مرحله دوم نیز نشان داد که میانگین تعداد انگل در هر ایزوله نسبت به مرحله اول بیش‌تر بود که این امر به دلیل افزایش مدت زمان رشد انگل قبل از اضافه کردن دارو بود. در این مرحله نیز میانگین تعداد انگل در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنادار داشت (جدول ۲) (نمودار ۲).

درصد عدم رشد انگل: به‌طور کلی در هر سه ایزوله درصد عدم‌رشد در دوز ۱۰ میکروگرم پروپامیدین ایزتیونات از سایر دوزها بیش‌تر، و کم‌ترین درصد عدم رشد مربوط به دوز ۵ واحدی از پلی‌میکسین «ب» بود (جدول ۱). در مرحله دوم نیز پروپامیدین ایزتیونات توانایی بیش‌تری در جلوگیری از رشد انگل داشت. نتایج این مرحله نشان داد که درصد عدم رشد انگل نسبت به مرحله اول کم‌تر شده است، در واقع، افزایش مدت زمان رشد انگل، باعث کاهش اثربخشی داروها شده است (جدول ۲).



نمودار ۱- مقایسه میانگین تعداد انگل در سه ایزوله «الف»، «ب» و «ج» ۴۸ ساعت پس از کشت

جدول۱: میانگین تعداد انگل شمارش شده در ایزوهای «الف»، «ب» و «ج» ۴۸ ساعت پس از کشت

میزان و نوع دارو	ایزوله الف			ایزوله ب			ایزوله ج		
	عدم‌رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد	عدم رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد	عدم‌رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد
برولن ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۷۶/۹۲	۵۰۰۰	۰۰	۶۶/۶۶	۵۰۰۰	۰۰	۶۳/۱۵	۵۸۳۳	۸۳۳/۳۳
برولن ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۸۴/۶۱	۳۳۳۳	۸۳۳/۳۳	۷۵	۳۷۵۰	۷۲۱/۶۸۸	۷۱/۰۵	۴۵۸۳	۴۱۶/۶۶
پلی‌میکسین«ب» ۵ واحدی	۷۳/۰۷	۵۸۳۳	۸۳۳/۳۳	۶۱/۱۱	۵۸۳۳	۸۳۳/۳۳	۵۷/۸۹	۶۶۶۷	۸۳۳/۳۳
پلی‌میکسین«ب» ۱۰ واحدی	۸۰/۷۶	۴۱۶۷	۸۳۳/۳۳	۷۲/۲۲	۴۱۶۷	۸۳۳/۳۳	۶۸/۴۲	۵۰۰۰	۰۰
کنترل	۰۰	۲۱۶۶۷	۱۶۶۶/۶۶	۰۰	۱۵۰۰۰	۰۰	۰۰	۱۵۸۳۳	۸۳۳/۳۳

* در مقایسه گروه‌های مورد با کنترل P value از روش آماری Mann-Whitney به‌دست آمد ($p<۰/۰۵$).

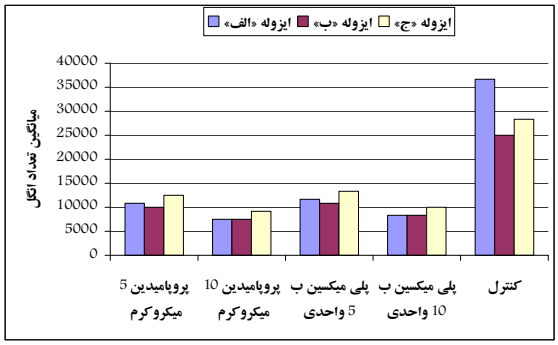
www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲: میانگین تعداد انگل شمارش شده در ایزوهای «الف»، «ب» و «ج» ۷۲ ساعت پس از کشت

میزان و نوع دارو	ایزوله الف			ایزوله ب			ایزوله ج		
	عدم‌رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد	عدم رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد	عدم‌رشد (٪)	میانگین	خطای استاندارد
برولن ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۷۰/۴۵	۱۰۸۳۳	۸۳۳/۳۳	۶۰	۱۰۰۰۰	۱۴۴۳/۳۷	۵۵/۸۸	۱۲۵۰۰	۰۰
برولن ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۷۹/۵۴	۷۵۰۰	۰۰	۷۰	۷۵۰۰	۰۰	۶۷/۶۴	۹۱۶۷	۸۳۳/۳۳
پلی‌میکسین «ب» ۵ واحدی	۶۸/۱۸	۱۱۶۶۷	۸۳۳/۳۳	۵۶/۶۶	۱۰۸۳۳	۸۳۳/۳۳	۵۲/۹۱	۱۳۳۳۳	۸۳۳/۳۳
پلی‌میکسین «ب» ۱۰واحدی	۷۷/۲۷	۸۳۳۳	۸۳۳/۳۳	۶۶/۶۶	۸۳۳۳	۸۳۳/۳۳	۶۴/۷۰	۱۰۰۰۰	۰۰
کنترل	۰۰	۳۶۶۶۷	۱۶۶۶/۶۶	۰۰	۲۵۰۰۰	۰۰	۰۰	۲۸۳۳۳	۱۶۶۶/۶۶

* در مقایسه گروه‌های مورد با کنترل P value از روش آماری Mann-Whitney به‌دست آمد.(p<۰/۰۵)



نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد انگل در سه ایزوله «الف»، «ب» و «ج» ۷۲ ساعت پس از کشت

بحث

کراتیت آکانتامبایی، بیماری تخریب‌کننده بافت استرومای قرنیه است در سال‌های اخیر روش‌های درمانی مختلفی در مورد آن مورد ارزیابی قرار گرفته، اما هیچ‌کدام در معالجه کلینیکی و پارازیتولوژیکی بیماری تأثیر مداوم و پایدار نداشته است. فاکتوری که در امر درمان بیماری اهمیت دارد، کشت و تشخیص سریع سویه‌های آکانتامبا و نیز بررسی و سنجش عوامل ضدانگلی است. این روش، پزشک را برای برنامه‌ریزی درمانی به‌منظور دستیابی به بهترین نتایج در این زمینه یاری می‌کند[۶و۷]. بر اساس اتفاق نظر محققین، عامل ضدآمیبی علیه گونه‌های آکانتامبا، زمانی دارای ارزش کلینیکی است که باعث تخریب هر دو مرحله تروفوزئیتی و کیستی‌آمیب شود. نتایج تمام آزمایش‌های داروشناسی بر روی انگل نشان می‌دهد که فرم تروفوزئیتی آن بسیار حساس‌تر از فرم کیستی است [۶و۷و۱۲]. همان‌گونه که محققین مختلف گزارش کرده‌اند قدرت کشندگی داروهای ضدآمیبی بر روی انگل در گونه‌های مختلف متفاوت است و این امر یکی از دلایل پیچیدگی درمان کراتیت آکانتامبایی محسوب می‌شود که همراه با عوامل دیگری چون متفاوت بودن تظاهرات کلینیکی و فقدان آزمون‌های دارویی مناسب در طیف وسیعی از داروهای مورد نظر، سبب عدم دسترسی به دارویی مطمئن در زمینه درمان بیماری می‌شود [۱۵،۱۶و۱۷]. نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر نیز مؤید این یافته‌ها است. در جریان پژوهش، تأثیر دو داروی پروپامیدین ایزتیونات و پلی‌میکسین «ب» در دوزهای مختلف مورد مقایسه قرار گرفته است. در مرحله اول ۲۴ ساعت پس از اضافه کردن انگل به سلول‌ها، داروی پروپامیدین ایزتیونات در دوز ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و پلی‌میکسین «ب» به مقدار ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی اضافه شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در میان این دوزها، تأثیر پروپامیدین ایزتیونات ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از سه دوز دیگر بیش‌تر بوده و قدرت بیش‌تری در جلوگیری از رشد انگل داشته است. نکته مهم در نتایج به‌دست آمده در این مرحله، تفاوت موجود در تأثیر دارو در بین ایزوله‌ها است، به‌طوری‌که هر دو داروی پروپامیدین ایزتیونات و پلی‌میکسین «ب» بر روی ایزوله «الف» نسبت به دو ایزوله دیگر تأثیر بیش‌تری داشتند. همچنین تأثیر داروها در جلوگیری از رشد انگل بر ایزوله «ب» نسبت به ایزوله «ج» بیش‌تر بود. این امر تأییدی است بر وجود

www.SID.ir

Archive of SID

اختلاف در زمینه درمان بیماری که در واقع، همان متفاوت بودن تأثیرپذیری ایزوله‌های مختلف نسبت به دارو است. در مرحله بعدی پژوهش، جریان کار به گونه‌ای بود که پس از اضافه کردن انگل به سلول‌ها، ۴۸ ساعت به آن‌ها فرصت داده شد تا رشد و تکثیر یابند. سپس داروهای مذکور اضافه شد. نتایج به‌دست آمده در این مرحله نیز در مقایسه با گروه کنترل معنادار بود. اما نکته قابل توجه، پایین‌تر بودن درصد عدم رشد انگل در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پروپامیدین ایزتیونات و مقادیر ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی پلی‌میکسین «ب» نسبت به مرحله اول بود؛ یعنی در زمانی که به انگل فرصت بیش‌تری برای رشد داده شد میزان تأثیر داروها نیز کم‌تر شد. برای مثال در مرحله اول، پروپامیدین ایزتیونات در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به میزان ۸۴ درصد از رشد ایزوله «الف» ممانعت کرد، در حالی‌که در مرحله دوم که انگل مدت زمان بیش‌تری برای رشد داشت این میزان به ۷۹ درصد کاهش یافت. در ایزوله «ب» و «ج» در تمام دوزهای مورد استفاده چنین تفاوتی مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که هر چه زمان رشد و تکثیر انگل بیش‌تر باشد احتمال مهار رشد به واسطه مصرف دارو کم‌تر خواهد شد. نتایج مذکور به خوبی بیانگر این مطلب است که تشخیص سریع و به موقع بیماری کراتیت آمیبی در امر درمان بسیار اهمیت دارد و در واقع در صورت پیشرفت بیماری تا مرحله‌ای خاص، درمان بیماری امکان پذیر نیست. مقایسه نتایج به‌دست آمده از دو داروی مورد استفاده نشان می‌دهد که داروی پروپامیدین ایزتیونات بر روی ایزوله‌های جدا شده از بیماران تأثیر بیش‌تری نسبت به پلی‌میکسین «ب» دارد. علاوه بر موارد گفته شده، مصرف داروی پروپامیدین ایزتیونات از لحاظ اقتصادی برای بیمار مقرون به صرفه‌تر است و چنان که مقایسه قیمت دو دارو نشان می‌دهد هزینه تهیه داروی پلی‌میکسین «ب» ۴ برابر هزینه تهیه پروپامیدین ایزتیونات است.

منابع

1. Singh, B. N. and Dutta, G. D. P. Small free-living aerobic amoebae: soil as a suitable habitat, isolation, culture, classification, pathogenicity, epidemiology and chemotherapy. Ind. J. Parasitol., 1984, 8: 1-23.
2. Michel, R., R. Ro¨hl, and H. Schneider. Isolation of free-living amoebae from nasal mucosa of healthy individuals. Zentbl. Bakteriol. Hyg., 1982, 176:155–159.
3. Mehlotra, R.K and Shukla, O.P. Pathogenic free-living amoeba: cultivation nutritional requirements and chemotherapy of infection.Ind.J.Microbiol., 1997, 37:113-123.
4. Weekers, P. H. H., Wijen, J. P. H., Lomans, B. P. and Vogels, G. D. Axenic mass cultivation of the free-living soil amoeba. Acanthamoeba castellanii in a laboratory fermentor. Antonie Leeuwenhoek., 1996, 69: 317-322.
5. Weekers, P. H. H. and Vogels, G. D. Axenic cultivation of the free-living soil amoebae, Acanthamoeba castellanii and Hartmannella vermiformis in a chemostat. J. Microbiol. Methods., 1994, 19: 13-18.
6. Cao, Z., Jefferson, M. and Panjwani, N. Role of carbohydrate-mediated adherence in cytopathogenic mechanisms of Acanthamoeba. J. Biol. Chem., 1998, 273: 38–45.
7. Khan N.,Role of mannose binding protein in the pathogenesis of acanthamoeba. J. Euk. Microbiol., 2002, 50,8-10
8. Suchuster, FL. and Visvesvara, G.S. Opportunistic amoebae: challenges in prophylaxis and treatment. Drug. Resist. Updates., 2004, 7: 41–51
9. Hirst, L.W., Green, W.R., Merz, W., Kaufmann, C., Visvesvara,.S.,Jensen, A., Howard, M., Management of Acanthamoeba keratitis:a case report and review of the literature. Ophthalmology, 1984, 1, 1105–1111.
10. Alizade H., Silvany RE., Meyer D.R., Dougherty J. M., McCulley JP. In vitro amoebicidal activity of propamidine and pentamidine isethionate against Acanthamoeba species and toxicity to corneal tissues. Cornea.1997,16(1):94-100.
11. Suchuster, FL., Visvesvara G.S., Efficacy of novel antimicrobial against clinical isolates of opportunistic amoeba.J.Euk.Microbiol.,1998, 45,612-618
12. Oliva, S., Jantz, M.,Tiernan, R., Cook,DL., Judson, M.A., Successful treatment of widely disseminated acanthamoebiasis. Southern Med. J., 1999, 92,55-57.
13. Seal, D.V., Acanthamoeba keratitis update incidence, molecular epidemiology and new drugs for treatment. Eye., 2003, 17, 893–905.
14. Varga, J.H., Wolf, T.C., Jensen, H.G., Parmley, V.C., Rowsey, J.J., Combined treatment of Acanthamoeba keratitis with propamidine, neomycin, and polyhexamethylene biguanide. Am. J. Ophthalmol., 1993, 115, 466–470.
15. Simonetta, G., Cevini, C., Bruno, A. and Penso,G. In vitro effectiveness of povidone iodine on Acanthamoeba isolates from human cornea. A.A. Chem., 1998, 42: 2232-2234
16. Kosrirukvongs, P., Wanachiwanawin, D., Visvesvara, G.S., Treatment of Acanthamoeba keratitis with chlorhexidine. Ophthalmology.199, 106,798-802.
17. Walochnik J., Duchene M., Eibl H., Aspock H., Treatment of Acanthamoeba keratitis: standard, problems, and new approaches. Wien Klin Wochenschr., 2003,115 (Suppl 3)7-10.

www.SID.ir