مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
شماره ٦٦ زمستان ١٣٨٦

تاثیر فاکتورهای محیطی در کارایی کینولونها و فلوئوروکینولونها علیه کلی فرمها

هاله قوام زاده*
گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
فریدون ملک زاده
گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
عباس اخوان سپهی
گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

بر خلاف علم و آگاهی ما درباره آنتی بیوگرامها، آگاهیهای نسبی کمی در مورد مواجه شدن مواد شیمی درمانی مختلف، با شرایط متنوع، وجود دارد. فلوئوروکینولونهای در دسترس، به صورت تجاری، عوامل شیمی درمانی سنتتیک جدید هستند که علیه عفونتهای باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی و بی هوازیها استفاده می شوند. در این مطالعه، اثرات فاکتورهای انتخابی مانند دما، pH، کاتیونهای Ca^{+2}، Na^{+}، Mn^{+2}، Fe^{+2} و Zn^{+} روی فعالیتهای سیپروفلوکساسین، افلوکساسین، انروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید، علیه باکتریهای کلی فرم، توسط استفاده از روش تهیه رقت در لوله یا میکرودایلوشن در محیط مولر هینتون، بررسی گردید. نتایج گرفته شده، مشخص کرد که دمای ۲۵ تا 35^0C، فعالیت کینولونها و فلوئوروکینولونها را کاهش داد. درحالیکه دمای 40^0C، کارایی این عوامل را افزایش داد. pH اسیدی، (تا ۵/۵)، باعث افزایش فعالیت کینولونها و کاهش فعالیت فلوئوروکینولونها، علیه باکتریها گردید. pH قلیایی، (تا ۸/۵)، اثر عکس نشان داد. غلظت کلرید سدیم (تا ۲۵۰ µg/ml)، در کارایی این عوامل تاثیر قابل ملاحظه ای نداشت. افزایش غلظت کلرید کلسیم، سولفات منگنز، سولفات آهن، (تا ۲۵۰ µg/ml)، فعالیت کینولونها و فلوئوروکینولونها را کاهش داد. افزودن مقدار ۱۰۰ µg/ml کلرید روی، به محیط، تاثیر کمی روی فعالیت این داروها دارد. این نتایج نشان می دهد، فعالیتهای مواد شیمی درمانی استفاده شده، تحت فاکتورهای متنوع محیطی، تفاوت می کند. در هر مورد، باید شرایط بهینه این عوامل را در in vivo را پیدا کرد تا بهترین اثر را علیه عفونتها داشته باشند.

واژه های کلیدی: **کینولون، کلی فرم، فاکتورهای محیطی.**

مقدمه:

یک کانون عفونت، ممکن است با شرایط محیطی متنوعی مواجه شود. با انجام آزمایش سنجش حساسیت ضد میکربی و بدست آوردن اطلاعاتی در مورد MIC، می توان نتایج کلینیکیin vivo را نیز پیش بینی کرد. در عمل،

* عهده دار مکاتبات

Archive of SID
www.SID.ir

ممکن است، عوامل مختلفی در کارایی مواد شیمی درمانی دخالت کند. بعنوان مثال، pH، غلظتهای کاتیونها و دما، همگی ممکن است، بسته به محل عفونت، تفاوت بکند. این مطالعه اثر تنشهای محیطی مختلف را، روی فعالیت in vitro کینولونها و فلوئوروکینولونهای انتخابی، ارزیابی می کند. پژوهشها و مطالعاتی نیز، در گذشته، در مورد تاثیر عوامل و تنشهای محیطی، علیه داروها انجام شده است. بعنوان نمونه، پژوهشگران، اثرات دما را بر فعالیتهای باکتری کشی سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین، علیه اشریشیاکلی، سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، بررسی کردند. آنها مشخص کردند که وقتی که دمای انکوباسیون از ^{o}C ۳۷ به ۳۰ ، ۲۵ و ^{o}C۲۰ تغییر کرد، فعالیتهای باکتری کشی ٤- کینولونها، بطور موثری کاهش می یابد.[۷و۸] در مورد pH نیز مطالعاتی انجام گرفته است. برای مثال، توسط استفاده از متد میکرودایلوشن، فعالیت in vitro توسوفلوکساسین (A-64730)، یک کینولون جدید، علیه پاتوژنهای سیستیک فیبروزیس، سویه های سودوموناس آئروجینوزا، اشریشیاکلی، سودوموناس سپاشیا، استافیلوکوکوس اورئوس و هموفیلوس آنفولانزا، با پنج کینولون دیگر مقایسه گردید. ملاحظه شد که در pH= ۸/۲، فعالیت آن کمی کاهش یافت. ولی در pH= ۵/۲، کاهش بیشتر فعالیت مشاهده شد. [۱] تاثیر کاتیونهای مختلف نیز، روی فعالیت ضد میکربی مواد شیمی درمانی بررسی شده است. پژوهشگرانی نیز، معلوم کردند که با در معرض قرار گرفتن تمام کاتیونهای فلزی، با آنتی بیوتیکهای کینولونی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آنتی بیوتیکها، بطور قابل ملاحظه ای، تفاوت می کند که به موجب آن، یک کاهش در فعالیت ضد میکربی را باعث می شود. از منیزیوم، سیپروفلوکساسین و اشریشیاکلی بعنوان باکتری آزمایش شده، استفاده کردند. نتایج نشان داد که، وقتی باکتری مورد نظر، در معرض هر دو عامل قرار می گیرد، یک کاهش برابر در فعالیت باکتری کشی و اثر Postantibiotic، ایجاد می شود. [۲]

مواد و روشها

سویه های باکتریایی: سویه های مورد استفاده در این تحقیق، از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی و عفونی ایران، تهیه شد، که عبارت بودند از:

Escherichia Coli, ATCC 25922, PTCC 1399, Klebsiella Pneumoniae , ATCC 10031, PTCC 1053, Enterobacter Aerogenes ATCC 13048, PTCC 1221, Citrobacter 1600. Freundii ATCC 8090, PTCC

همگی نمونه ها، به صورت لیوفیلیزه بودند.

عوامل ضد میکربی: آنتی بیوتیکها، به صورت پودر از کارخانه های داروسازی، تهیه شدند. نالیدیکسیک اسید ۹۹/۶۳٪ با Potency = ۹۹۶/۳ µg/ml، از شرکت داروسازی شیمی دارو- داروپخش تهیه گردید.

سیپروفلوکساسین ۸٤/۳٪ با Potency = ۸٤۳ µg/ml، افلوکساسین ۹۹/۸٪ با Potency = ۹۹۸ µg/ml، انروفلوکساسین ۱۰۰٪ با Potency = ۱۰۰۰ µg/ml، از شرکت داروسازی رازک تهیه گردید.

محیطهای کشت: محیطهای کشت مورد استفاده در این پژوهش، عبارت بودند از: محیط کشت Mueller Hinton Broth، محیط کشت Mueller Hinton Agar، محیط کشت Nutrient Agar.

Archive of SID

www.SID.ir

اثر تنشهای محیطی: در این پژوهش، از روش تهیه رقت در لوله Broth Dilution Test، استفاده شد. پس از درست کردن رقت سریال از آنتی بیوتیکهای مورد بررسی، در محیط کشت مولر هینتون براث، در لوله، سوسپانسیون باکتریایی استاندارد، با کدورت تقریبی 10^7 cfu/ml، تهیه شد و به این لوله ها تلقیح شد. آنگاه تمامی لوله ها، در ۳۵ ^oC، به مدت ۱۸ ساعت، در انکوباتور قرار داده شد. دماهای مورد آزمایش در ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ٤٠^oC تنظیم شدند.

برای تعیین اثر pH، با اضافه کردن HCl 0/1 N و یا NaOH 0/1 N، pH مورد نظر تنظیم شد. pHهای مورد آزمایش، ٥/٥، ٦/٥، ٧/٤ و ٨/٥ بودند و طبق روش بالا، آزمایش انجام گردید. در نهایت نتایج با نمونه شاهد مقایسه و بررسی گردید.

اثر یون Na^+ و Ca^+، نیز به روش تهیه رقت در لوله، بطور جداگانه اندازه گیری شد. به این ترتیب که محیط کشت مولر هینتون برات بدون افزودنی و مولر هینتون برات با کلرید سدیم و کلرید کلسیم، بطور جداگانه، هر کدام به مقادیر ۲۵، ۱۲۵، ۲۵۰ µg/ml، تهیه شد و سپس آزمایش انجام گردید و بعد از گرماگذاری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد، نتایج خوانده شد و MIC و MBC ترکیبات، با نمونه شاهد مقایسه شد.

اثر یونهای Fe^{+2}، MN^{+2} و Zn^+، نیز به روش تهیه رقت در لوله، هر کدام بطور جداگانه اندازه گیری شد. به این ترتیب که محیط کشت مولر هینتون برات بدون افزودنی و مولر هینتون برات با سولفات آهن، سولفات منگنز، هر کدام بطور جداگانه، به مقادیر ۲۵، ۱۲۵، ۲۵۰ µg/ml، و برای کلرید روی، با مقادیر ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ µg/ml تهیه شد و سپس آزمایش انجام گردید و بعد از گرماگذاری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد، نتایج خوانده شد و MIC و MBC ترکیبات، با نمونه های شاهد مقایسه گردید.

نتایج

دما: در این پژوهش، بعد از بررسی و مقایسه نتایج با لوله های شاهد، معلوم شد که دماهای مورد آزمایش، بر فعالیت ضد میکربی کینولونها و فلوئوروکینولونها، اثر می گذارد. در روش تهیه رقت در لوله، با کاهش دما، از ۳۵ ^oC به ۳۰ درجه، MIC و MBC داروهای مورد آزمایش، در مورد باکتریهای اشریشیاکلی، کلبسیلا نومونی ای و انتروباکتر آئروجنز، دو برابر افزایش یافت و در نتیجه فعالیت دو برابر کاهش نشان داد. با کاهش دما تا ۲۵ درجه نیز، دو برابر کاهش فعالیت در باکتریهای اشریشیاکلی، کلبسیلا نومونی ای و انتروباکتر آئروجنز، مشاهده گردید. فقط در مورد دمای ۲۵ ^oC، در مورد اشریشیاکلی، با کمی تاخیر (در حدود ٤ ساعت)، عدم رشد باکتری مشخص شد. در مورد سیتروباکتر فروندی، کاهش دما، تا ۳۰ ^oC، تاثیری بر فعالیت باکتری نگذاشت. ولی با پایین آمدن دما تا ۲۵ ^oC، دو برابر افزایش MIC و MBC و در نتیجه کاهش فعالیت را ملاحظه گردید. سیتروباکتر فروندی، در دمای٤٠^oC، رشدی از خود نشان نداد. ولی MIC و MBC داروها، در مورد سه باکتری دیگر، با افزایش دما تا ٤٠ ^oC، دو برابر کاهش یافت و فعالیت افزایش نشان داد.

pH: در مورد اثر pH برفعالیت ضد میکربی کینولونها، بعد از مقایسه لوله شاهد با دیگر لوله ها، مشخص شد که، فعالیت کینولونها و فلوئوروکینولونها، تحت تاثیر قرار می گیرد. MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، در مورد باکتری اشریشیاکلی، کلبسیلا نومونی ای و انتروباکتر آئروجنز، با کاهش pH، از ٧/٤ به

Archive of SID

www.SID.ir

٦/٥، دو برابر و از ٧/٤ به ٥/٥، چهار برابر افزایش یافت، که نشان دهنده کاهش فعالیت فلوئوروکینولونهای مورد آزمایش است. MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، در مورد سیتروباکتر فروندی، با کاهش pH، از ٧/٤ به ٦/٥، چهار برابر و از ٧/٤ به ٥/٥، هشت برابر افزایش یافت، که نشان می دهد فعالیت داروها، کاهش یافته است. در pH قلیایی (pH = ٨/٥)، در هیچ کدام از باکتریها، تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده نگردید.

در مورد نالیدیکسیک اسید، کاهش pH، از ٧/٤ به ٦/٥، تغییر محسوسی در هیچ کدام از سویه ها، نشان نداد. ولی با کاهش pH، از ٧/٤ به ٥/٥، برای هر کدام از سویه های سیتروباکتر فروندی، کلبسیلا نومونی ای و انتروباکتر آئروجنز، دو برابر کاهش MIC، ملاحظه شد. یعنی فعالیت کینولون، دو برابر افزایش یافت. برای اشریشیاکلی، با کاهش pH، از ٧/٤ به ٥/٥، چهار برابر کاهش MIC، دیده شد. در pH قلیایی، اشریشیاکلی، کاملا" مقاوم به نالیدیکسیک اسید بود و کاهش فعالیت نالیدیکسیک اسید، مشاهده شد و سویه های دیگر، حدود دو برابر افزایش MIC و کاهش فعالیت دارو ملاحظه گردید.

کلرید کلسیم: در این بررسی، با مقایسه لوله شاهد، ملاحظه شد که غلظت ٢٥ µg/ml از کلرید کلسیم، تاثیری بر فعالیت کینولونها و فلوئوروکینولونها، روی سویه های تحت بررسی نمی گذارد. ولی با افزایش مقدار کلرید کلسیم به ١٢٥ µg/ml، MIC کینولونها و فلوئوروکینولونها، دو برابر افزایش نشان داد که نشان دهنده کاهش فعالیت داروها می باشد. با رساندن این مقدار کلرید کلسیم به ٢٥٠ µg/ml، باز هم، کاهش فعالیت داروها ملاحظه شد و MIC کینولونها و فلوئوروکینولونها، نسبت به وقتی که افزودنی نبود، چهار برابر افزایش یافت.

کلرید سدیم: در بررسی اثر کلرید سدیم بر فعالیت ضد میکربی کینولونها، مشخص شد که کلرید سدیم در غلظتهای مورد آزمایش، تاثیری بر فعالیت داروها ندارد. MIC تمام سویه ها، برای تمام کینولونها و فلوئوروکینولونهای مورد آزمایش، از ٢٥ µg/ml تا ٢٥٠ µg/ml کلرید سدیم، تفاوتی نکرد.

یون Mn^{+2} : یون Mn^{+2} بر فعالیت ضد میکربی فلوئوروکینولونها، علیه باکتریهای کلی فرم مورد آزمایش، تاثیر گذاشت. به این ترتیب که، افزودن سولفات منگنز به مقدار ١٢٥ µg/ml، در مورد اشریشیاکلی و کلبسیلا نومونی ای و انتروباکتر آئروجنز، باعث افزایش دو برابری MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین و در نتیجه کاهش فعالیت آنها گردید. با اضافه شدن این مقدار به ٢٥٠ µg/ml، در مورد این سه باکتری، MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، نسبت به فقدان ماده افزودنی، چهار برابر افزایش نشان داد. یعنی فعالیت این فلوئوروکینولونها، چهار برابر کاهش یافت.

ولی در مورد باکتری سیتروباکتر فروندی، MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، از ٢٥ به ١٢٥ µg/ml سولفات منگنز، چهار برابر افزایش و از ٢٥ تا ٢٥٠ µg/ml، هشت برابر افزایش نشان داد. یعنی فعالیت کاهش یافت. مقدار ٢٥ µg/ml، تاثیر قابل ملاحظه ای روی فعالیت فلوئوروکینولونها نداشت.

در مورد نالیدیکسیک اسید، افزایش سولفات منگنز، تا ٢٥ و ١٢٥ µg/ml، در فعالیت ضد میکربی آن، علیه سویه های اشریشیاکلی و انتروباکتر آئروجنز، تاثیر قابل ملاحظه ای نگذاشت. ولی با افزایش آن تا ٢٥٠µg/ml، دو برابر افزایش MIC، و در نتیجه کاهش فعالیت را ملاحظه کردیم. در مورد سیتروباکتر فروندی، با افزایش ٢٥ µg/ml سولفات منگنز، تاثیر چندانی ملاحظه نشد. ولی با افزایش این مقدار به ١٢٥ و ٢٥٠ µg/ml، به ترتیب دو و چهار

Archive of SID

www.SID.ir

برابر افزایش در MIC و در نتیجه، کاهش فعالیت نالیدیکسیک اسید را ملاحظه گردید. در مورد کلبسیلا نومونی ای، تا غلظت ٢٥٠µg/ml، تاثیری در فعالیت آن مشاهده نشد.

یون Fe^{+2}: با بررسی اثر یون Fe^{+2} بر فعالیت ضد میکربی فلوئوروکینولونها و مقایسه با لوله شاهد، ملاحظه شد که این داروها، تحت تاثیر سولفات آهن قرار می گیرند. در مورد MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، در باکتری کلبسیلا نومونی ای، با افزورن µg/ml ٢٥ از سولفات آهن، دو برابر افزایش نشان داد. یعنی فعالیت دو برابر کاهش یافت. در µg/ml ١٢٥، نیز چهار برابر افزایش MIC را، نسبت به حالتی که افزودنی نداشتیم، ملاحظه کردیم. با افزایش مقدار افزودنی به µg/ml ٢٥٠، MIC، هشت برابر افزایش یافت و فعالیت فلوئوروکینولونها کاهش یافت. در مورد MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، در باکتریهای اشریشیاکلی، سیتروباکتر فروندی و انتروباکتر آئروجنز، با افزورن µg/ml ٢٥ از سولفات آهن، چهار برابر افزایش داشتیم، در µg/ml ١٢٥، هشت برابر و در ٢٥٠µg/ml، نسبت به وقتی که افزودنی نبود، شانزده برابر افزایش MIC و کاهش فعالیت نشان داد.

در مورد نالیدیکسیک اسید، با افزایش افزودنی تا µg/ml ١٢٥، در هیچ کدام از سویه ها تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. ولی در ٢٥٠µg/ml، نسبت به وقتی که افزودنی نبود، دو برابر افزایش در MIC و در نتیجه کاهش در فعالیت ملاحظه گردید.

یون Zn^{+2}: یون Zn^{+2} بر فعالیت ضد میکربی فلوئوروکینولونها، علیه باکتریهای کلی فرم مورد آزمایش، تا حدودی تاثیر گذاشت. به این ترتیب که، افزودن سولفات منگنز به مقدار µg/ml ٥٠، در مورد تمام سویه ها، تاثیر چندانی در MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین نداشت. ولی با افزایش آن تا µg/ml ١٠٠، MIC سیپروفلوکساسین، افلوکساسین و انروفلوکساسین، در تمام سویه ها به جز سیتروباکتر فروندی، دو برابر افزایش یافت و در نتیجه کاهش فعالیت آنها گردید. سیتروباکتر فروندی در حضور کلرید روی، رشدی از خود نشان نداد. در مورد نالیدیکسیک اسید، در هیچ کدام از سویه ها تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده نشد.

بحث

مطالعات نشان داده است که دما می تواند روی نتیجه فعالیت ضد میکربی کینولونها تاثیر بگذارد. بعنوان مثال، فعالیتهای باکتری کشی سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین، علیه اشریشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا، وقتی که دمای گرماگذاری از ^{o}c ٣٧ به ٣٠ ، ٢٥ و ^{o}c ٢٠ کاهش پیدا کرد، بطور موثری کاهش یافت.[٨] همچنین، فعالیتهای باکتری کشی سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین، علیه استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، با کاهش دمای گرماگذاری، بطور قابل ملاحظه ای کاهش یافت.[٧] در این پژوهش نیز، فعالیت کینولونها، علیه چهار کلی فرم مورد آزمایش، با کاهش دما، کاهش یافت.

در تحقیقات دیگر، مشاهده شده که pH اسیدی باعث کاهش فعالیت فلوئوروکینولونها و افزایش فعالیت کینولونهای بدون حلقه پیپرازینی، می شود. pH قلیایی، باعث افزایش فعالیت فلوئوروکینولونها و کاهش فعالیت کینولونهای فاقد حلقه پیپرازینی، می شود. در این پژوهش نیز، نتایج مشابهی بدست آمد.[٥-٦]

Archive of SID

www.SID.ir

در مطالعه حاضر، ملاحظه شد که، یون کلسیم روی فعالیت کینولونها علیه باکتریهای کلی فرم مورد مطالعه، در روش میکرودایلوشن اثر گذاشت. به این ترتیب که با افزایش یون Ca^{+2}، تا ۲۵۰µg/ml، کاهش فعالیت داروها را ملاحظه گردید. در پژوهشی دیگر، ملاحظه شده است که فعالیت آنتی باکتریال in vitro، کینولون جدید NM-394 و سیپروفلوکساسین و افلوکساسین و انوکساسین، فقط به مقدار جزئی، توسط ۵ mM Ca^{+2}، تحت تاثیر قرار می گیرد.[۶] در بررسی دیگر، در حضور کلرید کلسیم و کلرید منیزیوم، MIC_s هجده کینولون برای باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی، افزایش یافت. کاهش فعالیت کینولونها، در حضور کاتیونهای دی والان، احتمالا" بعلت وجود ممانعت کننده ها است و شاید به علت لیپوپلی ساکارید یا لیپوتیکوئیک اسید پیوسته با یونهای منیزیوم، که به موجب آن باعث کمبود دسترسی داروها، برای ورود به باکتری می شود و یا اینکه، کاهش فعالیت ممکن است به دلیل یک اثر اساسی روی عمل متقابل بین کینولونها و هدفشان، DNA- ژیراز باشد.[۸]

در این پژوهش نشان داده شد که، یونهای Mn^{+2} و Fe^{+2} و Zn^{+2}، باعث کاهش فعالیت کینولونها و فلوئوروکینولونها می شود. در بررسی های دیگر، معلوم کردند که تمام کاتیونهای فلزی، با آنتی بیوتیکهای کینولونی، ممانعت کننده ها را تشکیل می دهند. همچنین مشخص شده است که، خصوصیات فیزیکوشیمیایی آنتی بیوتیکها، بدلیل ایجاد ممانعت کننده ها، بطور قابل ملاحظه ای، تفاوت می کند که به موجب آن، یک کاهش در فعالیت ضد میکربی را باعث می شود.[۲]

عوامل و فاکتورهای محیطی که در این پژوهش، آزمایش شده، بدون تردید در تاثیر آنتی بیوتیکها علیه باکتریها مهم است. خصوصا" کینولونها و فلوئوروکینولونها که با مصرف بی رویه و نامناسب، سودمندی بالینی این داروها خدشه دار شده است. همانطور که ذکر شد، مقاومت چند دارویی باکتریهای گرم مثبت، مشکلات جدی در جامعه پزشکی هستند. شاید بتوان با کم و زیاد کردن و تغییر این عوامل محیطی، مشکلات کارایی و مقاومت آنتی بیوتیکها را در آزمایشگاهها و صنایع دارویی و همچنین در in vivo برطرف نمود و یا با تغییر این شرایط و بهبود کارایی آنتی بیوتیکها، درمان سریعتر بیماریهای وابسته به کلی فرمها را باید مد نظر داشت.

References:

1- Arguedas, A. G., Akaniro, J. C., Stutman, H. R.and Marks, M. I., *Agents Chemother*, **34**(11), 2223 (1990).
2- Li, R. C., Lo, K. N.and Lam, J. S., *J. Chemother*, **11**(4), 243 (1999).
3- Parte, A. C.and Smith, J. T., *Microbios*, **79**(319), 87 (1994).
4- Parte, A. C.and Smith, J. T., *Microbios*, **80**(322), 31 (1994).
5- Masuda, N., Takahashi, Y., Otsuki, M., Ibuki, E., Miyoshi, H., and Nishino, T., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **40**, (5), 1201 (1996).
6- Neu, H. C.and Chin, N. Y., *Antimicrob. Agents. Chemother*, **38**, 2615 (1994).
7- Ozaki, M., Matsuda, M., Tomii, Y., Kimura, K., Kazuno, K., Kitano, M., Kise, M., Shibata, K., Otsuki, M.and Nishino, T., *Antimicrob Agents Chemother*, **35**(12), 2490 (1991).
8- Marshall, A. J.and Piddock, L. J., *J. Antimicrob Chemother*, **34**(4), 465 (1994).

Archive of SID

www.SID.ir