بسم الله الرحمن الرحیم

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

فصلنامه :
سال ۳، شماره های ۲ و ۳
تابستان و پائیز ۱۳۸۸

ISSN: 1735 - 8612

دارای رتبه علمی - پژوهشی از
کمسیون نشریات علوم پزشکی کشور

* مجوز انتشار از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی:
شماره: ۱۲۴/۲۰۵۰ مورخ: ۱۳۸۵/۴/۲۷

* استفاده از مطالب این نشریه با ذکر منبع بلامانع است

صاحب امتیاز :
انجمن علمی میکروب شناسی پزشکی ایران

مدیر مسئول :
دکتر غلامرضا ایراجیان

سردبیر :
دکتر مسعود شریفی

مدیر اجرایی :
دکتر رضا رنجبر

مدیر امورمالی :
دکتر محمد نیاکان

ویراستار :
دکتر آذردخت خسروی

شورای نویسندگان (به ترتیب حروف الفبا) :
دکتر نور امیر مظفری، دانشگاه علوم پزشکی ایران - دکتر غلامرضا ایراجیان، دانشگاه علوم پزشکی ایران
دکتر عبدالوهاب البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز - دکتر بهمن تبرائی، انستیتو پاستور ایران
دکتر رضا رنجبر، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله - دکتر محمد رهبر، آزمایشگاه مرجع سلامت
دکتر مسعود شریفی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین - دکتر مروت طاهری کلانی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
دکتر حمید عبدالهی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان - دکتر رمضانعلی عطائی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله
دکتر علی مهرابی توانا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله - دکتر محمد نیاکان، دانشگاه شاهد

داوران این شماره (به ترتیب حروف الفبا) :
دکتر احمد رضا اسماعیلی رستاقی ، دکتر علیشا اکیا
دکتر نور امیرمظفری ، دکتر کتایون برهان مجابی
دکتر لیلا چمنی تبریز ، دکتر آذر دخت خسروی
دکتر ناهید رحیمی فرد ، دکتر محمد رهبر
دکتر مرتضی ستاری ، دکتر حوریه سلیمان جاهی
دکتر مسعود شریفی ، دکتر مجتبی شهنازی
دکتر حشمت ا... طاهرخانی ، دکتر معرفت غفاری نوین
هما فروهش تهرانی ، دکتر محمد مهدی فیض آبادی
دکتر عزت ا... قائمی ، دکتر علی محرابی توانا
دکتر شهاب مدرس ، دکتر محبوبه نادری نسب
دکتر علیرضا ناطقیان، دکتر جلیل وند یوسفی

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران در SID, Iran Medex, IMEMR, index Copernicus و Magiran نمایه می‌گردد.

طراح و گرافیست : مینا آرین
نشانی : تهران، صندوق پستی ۷۱۵-۱۴۵۱۵
تلفکس : ۸۸۰۲۰۹۱۶
پست الکترونیک : jmicrobiology@gmail.com
آدرس سایت : www.ism.ir

طراحی جلد و چاپ :
گروه فیروز تجارت
شمارگان : ۱۰۰۰ نسخه
قیمت : ۲۰۰۰۰ ریال

فهرست مندرجات

باکتری شناسی

بررسی همبستگی نتایج روش Microscopic-observation drug susceptibility، رنگ‌آمیزی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن در بیماران مشکوک به سل ریوی ۱

زهره امین زاده، فاطمه فلاح، بنفشه منافیان، پروانه بقایی

تشخیص سریع مولکولی *لیستریامنوسیتوژنز* به روش PCR با استفاده از ژن *hlyA* ۹

علی نجفی، مهدی قربانعلی زادگان ، حمید رضا توکلی ، علی احمدی

مقایسه فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در زنان بارور و نابارور با استفاده از فناوری‌های ELISA و PCR ۱۵

مریم ساده ، محمد باقر خلیلی، حسین فلاح زاده

بررسی مقاومت چند دارویی در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جداشده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان در سال۱۳۸۷ ۲۱

احمد قاسمی، رضوان منیری ، سید غلامعباس موسوی

میکروب شناسی مواد غذائی

ارزیابی آزمایشگاهی تاثیرات مهاری مونولورین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت گاو ۲۷

حسین تاجیک ، سید مهدی رضوی روحانی ، فرنود شکوهی ثابت جلالی ، آرزو بیانی

میکروب شناسی دندانپزشکی

بررسی اثر ضدعفونی آلپروسید (AlproCid) در دندانپزشکی ۳۴

جمیله بیگم طاهری ، نسرین رفیعیان ، سمیه عظیمی ، شادی محبی ، معصومه نوید نیا

عفونت های بیمارستانی

شیوع کلنیزاسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه مراکز آموزشی درمانی قزوین- ۱۳۸۴ ۴۰

مسعود شریفی، مینا آصف زاده ، امیر جوادی ، آزاده کارگر

بررسی فراوانی و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت بیمارستانی بخش مراقبت ویژه بیمارستان بعثت تهران در سال ۱۳۸۶ ۴۷

مژگان محمدی مهر ، محمد مهدی فیض آبادی ، عذراء بهادری ، محسن متشکر آرانی ، مریم خسروی

مقایسه دو روش اسکراب با بتادین و مالش جراحی در کاهش بار میکروبی پوست دست تیم جراحی ۵۵

اعظم قربانی ، زهرا سلطانی خیمه سری ، اعظم ملا پور ، مهین شفیع خانی

ویروس شناسی

بررسی شیوع عفونت فعال سیتومگالو ویروس در دریافت کنندگان پیوند کلیه با روش‌های PCR و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم ۶۱

شهاب فلاحی ، حوریه سلیمان جاهی، ابراهیم کلانتر ، عذرا کنارکوهی ، امل ساکی

غنی سازی و جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک علیه ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک ۶۶

مهرانگیز خواجه کرم الدین ، بی بی صدیقه فضلی بزاز ، مرضیه ابراهیمی ، کیارش قزوینی ، منور افضل آقایی ، محبوبه نادری نسب ، زهرا مشکات ، سعید عامل جامه دار

تک یاخته شناسی

سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در زنان باردار پذیرش شده در بخش زایمان مرکز آموزشی درمانی کوثر قزوین-۱۳۸۶ ۷۳

عباسعلی اسکندریان

واژه گزینی در میکروب شناسی

۸۰

فراخوان

شرایط تهیه و ارسال مقاله

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران هر سه ماه یکبار تازه ترین مطالب و نوآوری های علمی و پژوهشی اعم از علوم پایه ، بالینی، نقد علمی و گزارش موارد جالب و نادر علوم پزشکی را چاپ و منتشر میکند . پذیرش و چاپ مقالات رسیده به دفتر مجله بستگی به نظر هیأت تحریریه و قضاوت دانشمندان و متخصصین دانشگاهی داخل و خارج از کشور دارد . مسوولیت کامل منابع و مطالب مندرج در مقالات از دیدگاه علمی، اخلاقی و حقوقی بر عهده نویسندگان آنهاست . هیأت تحریریه مجله در پذیرش یا رد و ویرایش مقالات آزاد است . نقل مطالب « مجله میکروب شناسی پزشکی ایران» با ذکر مأخذ مانعی ندارد .

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران از پذیرش مقالاتی که قبلاً در نشریات فارسی زبان دیگری چاپ شده یا تحت بررسی باشند ، معذور است . نویسندگان مقالات باید در نامه خود به سر دبیر مجله به این نکته اشاره کنند که مقاله به صورت همزمان برای مجله دیگری ارسال نشده و در مجله دیگری قبلاً به چاپ نرسیده است . رعایت اخلاق در تحقیقات بالینی یا حیوانی کاملاً الزامی بوده و توجه به محرمانه بودن اطلاعات بیماران و ملحوظ نمودن شرایط تحقیق بر روی حیوانات ضروری است .

از نویسندگان مقالات خواهشمند است جهت تهیه و ارسال مقالات به موارد ذیل توجه فرمایند :

بند ۱) مقاله باید بر یک روی کاغذ با قطع ۲۹ *۲۱ سانتیمتر (A4) و رعایت فاصله ۳ سانتیمتر از طرفین و فاصله سطر های متن دوبل باشند و با استفاده از نرم افزار رایانه ای Word 2000 تهیه و در چهار نسخه که در یکی از آنها مشخصات کامل نویسنده یا نویسندگان درج شده باشد و سه نسخه دیگر فاقد مشخصات نویسندگان باشد همراه با دیسکت رایانه ای به دفتر مجله میکروب شناسی ایران فرستاده شود . (ارسال مقاله بصورت فایل word از طریق **email:jmicrobiology@gmail.com** نیز قابل قبول می باشد)

اصل مقاله (فارسی)	*ABSTRACT (English)*
عنوان مقاله : یاقوت ١٦ (بولد)	**Title : Times New Roman 14 (Bold)**
نام نویسندگان : یاقوت ١٢	**Author: Times New Roman 10 (Bold)**
چکیده : یاقوت ١٤ (بولد)	
عنوان چکیده : یاقوت ١١ (بولد)	**Address: Times New Roman 10 (Bold)**
متن چکیده : یاقوت ١١	Text: Times New Roman 11
متن مقاله : لوتوس ١١	
عناوین متن مقاله : یاقوت ١٤ (بولد)	

بند ۲) نام و نام خانوادگی ، رتبه علمی ، نشانی کامل پستی، آدرس الکترونیکی ، شماره تلفن نویسنده یا نویسندگان مقاله و مؤلف رابط ، عنوان و تاریخ ارسال مقاله در صفحه اول قید شود .

بند ۳) در صورتی که تعداد نویسندگان بیش از یک نفر باشد ، باید قید شود که مقاله با همکاری همه مؤلفین تهیه ، خوانده و تأیید شده است .

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران از مقالات پژوهشی گروهی استقبال میکند .

بند ٤) مقالات باید شامل **عنوان، چکیده، مقدمه، مواد و و روش ها، یافته ها، بحث، نتیجه گیری، تقدیر و تشکر (در صورت لزوم) و فهرست مراجع** (کتابنامه) باشد .

چکیده به فارسی و انگلیسی حداکثر تا ۲۵۰ کلمه و به صورت چکیده های سازمان یافته فارسی(شامل چهار بخش: **زمینه و اهداف، روش بررسی، یافته ها، نتیجه گیری)** و انگلیسی **(Background and objectives, Material and Methods, Results, Conclusion)** و ۳ الی ۵ کلمه کلیدی (**کلید واژه ها**) از واژه های فهرست MeSH در اندکس مدیکوس باشد . گزارشهای موردی شامل **چکیده** غیر سازمان یافته حداکثر تا ۱۰۰ کلمه (به فارسی و انگلیسی) ، **کلید واژه ها ، مقدمه ، گزارش مورد و بحث تفصیلی و فهرست مراجع** خواهد بود .

بند ۵) مراجع باید به ترتیب استفاده در متن مقاله یا جداول و نمودارها شماره گذاری (درون پرانتز) و با همان شماره در فهرست مراجع قید شوند . در تهیه فهرست مراجع باید موارد زیر **بر اساس معاهدات داخلی و بین المللی به دقت مورد توجه قرار گیرند .**

۱-۵) اگر مرجع مجله است به ترتیب باید نام خانوادگی نویسنده یا نویسندگان ، حرف یا حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان (و در صورتی که نویسندگان بیش از ٦ نفر باشند از نفر ششم به بعد عبارت ***et al.*** و در صورت استفاده از مرجع فارسی ، عبارت و همکاران) ، عنوان کامل مقاله ، نام اختصاری مجله (Italic) ، سال انتشار ، شماره مجله (Volume)**(Bold)** و شماره یا شماره های مجله (Numbers) در داخل پرانتز و شماره صفحات ابتدا و انتهای مقاله نوشته شود .

مثال انگلیسی :

Clarke SR, Brummell KJ, Horsburgh MJ, McDowell PW, Mohamad SA, Stapleton MR, *et al*. Identification of *in vivo*-expressed antigens of *Staphylococcus aureus* and their use in vaccinations for protection against nasal carriage. *J Infect Dis* 2006; **193**(8)**:**1098-108.

مثال فارسی :

نوری م ، افراسیابی راد ع ، زهرایی م ، پزشکیان م ، محبوب س ، بغداد چی الف و همکاران . تأثیر رژیم غذایی کم کالری ، کم کلسترول با فیبر بالا و ورزش هوازی بر میزان پلاسمایی ویتامینهای E و C در بیماران مبتلا به انسداد عروقی ،*مجله پزشکی علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز* ۱۳۷۹ ، سال ۳٤ ، شماره **٤٦** ، صص ٥٥ تا ٦٢ .

۲-۵) سازمان به عنوان مؤلف **;** مثال :

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidlines. *Med J Aust* 1996: **164**: 282-4

۳-۵) چنانچه نام هیچ مؤلفی ذکر نشود ، گروه مؤلفین مد نظر است **;** مثال :

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

۵-۵) مجله همراه با ضمیمه تکمیلی :

Shen HM, Zhang QF. Risk Assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. environ Health perspect 1994; 102 Suppl: 275-82.

٦-۵) اگر مرجع کتاب است ، نام خانوادگی نویسنده یا نویسندگان کتاب ، حرف یا حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان ، عنوان کامل کتاب (*Italic*) شماره چاپ ، محل انتشار و نام ناشر ، سال انتشار و شماره صفحات مورد استفاده .

مثال فارسی :

امتیازی گ، کریمی م. *مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک* – چاپ چهارم، اصفهان ، انتشارات مانی، ۱۳۸۲ ، صص ، ۲۱۵ تا ۲۱۹.

۷-۵) چنانچه مرجع بخشی از کتاب باشد ، نام خانوادگی و حرف یا حروف اول نویسنده یا نویسندگان بخش مورد استفاده ، عنوان بخش ، نام خانوادگی و حرف یا حروف اول نام مؤلف یا مؤلفین کتاب ، عنوان کامل کتاب (Italic) ، شماره چاپ ، محل و نام ناشر ، سال انتشار و شماره صفحات بخش مورد استفاده .

مثال انگلیسی :

Kastner DL. Intermittent and Periodic Arthritic Syndromes. In: Koopman W J, ed. *Arthritis and Allied Conditions*: *A Textbook of Rheumatology*. 13th ed. Baltimore; Williams & Wilkins. 1997; PP: 1279-1306.

مثال فارسی :

بهرامی ف ، نوحی ع . کنترل کیفیت آزمایش لیپیدهای سرم. در کتاب : *تضمین کیفیت آزمایشگاهی* ، مؤلفین: محمدی ح و جلیلی ح . چاپ دوم، تهران ، مرکز نشر دانشگاهی ، ۱۳۷۵، صص ٥٠ تا ٦١ .

۸-۵)رفرانس الکترونیک (مقاله) :

Moynagh J.The evaluations of tests for the diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bovines. European Commisson, htttp://europa.eu.int/comm/food/fs/bse/bse12_en.html(Accessed May 2005).

۹-۵)رفرانس الکترونیک (سازمان به عنوان مؤلف) :

Food and Drug Administration. Revised preventive measures for blood products, 2001. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/01/briefing/3817b1.htm (Accessed May 2002).

بند ٦) تعداد اشکال و جداول نباید جمعاً از چهار مورد تجاوز کند و باید در صفحات جداگانه در آخر مقاله آورده شود. از اشکال (منحنی ها ، نمودارها، تصاویر میکروسکپی ، رادیوگرافی و ...) عکس برقی سیاه و سفید در اندازه(۷۳ *۱۲۷) میلی متر و حداکثر (۲٥٤*۲۰۳) میلی متر تهیه و اصل آن ارسال گردد.

بند ۷) بدون در نظر گرفتن صفحه اول و اشکال و جداول و نمودارها ، تعداد کل صفحات مقاله نباید از ٦ صفحه تجاوز کند .

بند ۸) مجله میکروب شناسی پزشکی ایران از بازگرداندن مقالات تأیید نشده توسط هیئت تحریریه به نویسندگان آنها معذور است . در صورت درخواست کتبی نویسنده رابط ، فقط عکسها و تصاویر اصلی باز گردانده می شود .

بند ۹) مقالات رسیده در صورت تائید داوران در اولویت چاپ قرار می گیرد و پس از چاپ مقاله، سه نسخه از شماره مجله به نویسنده رابط ارسال خواهد شد.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۸ - ۱

بررسی همبستگی نتایج روش Microscopic-observation drug susceptibility، رنگ‌آمیزی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن در بیماران مشکوک به سل ریوی

زهره امین زاده[۱*]، فاطمه فلاح[۲]، بنفشه منافیان[۳]، پروانه بقایی[۴]

۱) گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲) گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، بیمارستان کودکان مفید
۳) گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴) مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریه، بیمارستان مسیح دانشوری
نویسنده رابط: زهره امین زاده، تهران، خیابان کارگر جنوبی، خیابان کمالی، بیمارستان لقمان حکیم
تلفن : ۵۵۴۱۱۷۱۷ zohrehaminzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۱/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۱/۲۵

چکیده:

زمینه و اهداف: رنگ‌آمیزی زیل نلسون نمونه خلط، روش ابتدایی تشخیص بیماری سل ریوی است. تشخیص بیماری با کشت تایید می‌شود. در برخی مطالعات، رشد سریع‌تر میکروارگانیسم و حساسیت و ویژگی بالای محیط کشت مایع، نشان داده شده است . هدف از این مطالعه تعیین همبستگی نتیجه روش Microscopic-observation drug susceptibility (MODS) با روش‌های استاندارد در مبتلایان به سل ریوی بود.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی به روش مشاهده‌ای– مصاحبه‌ای بود. بررسی بر روی ۱۰۰ بیمار مشکوک به سل ریوی بستری در بیمارستان مسیح دانشوری انجام شد. از هر بیمار یک نمونه خلط صبحگاهی جهت رنگ آمیزی زیل نلسون، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS جمع آوری شد. مقاومت *مایکوباکتریوم توبرکولوزیس* جدا شده به روش MODS تعیین گردید.

یافته ها: رنگ آمیزی زیل نلسون در ۴۰ نفر (۴۰٪)، کشت در محیط لون اشتاین جانسن در ۳۰ نفر (۳۰٪) و روش MODS در ۴۷ نفر (۴۷٪) مثبت شد. بین نتایج روش MODS و کشت رابطه معنی‌دار و همبستگی بین آن‌ها مستقیم ومعنی‌دار بود($r=+0.39$, $P<0.0001$). رابطه بین وجود پلورزی با نتیجه روش MODS معنی‌دار و همبستگی بین آن دو معکوس و معنی‌دار بود($r=-0.23$, $P<0.05$). مقاومت چند دارویی (Multidrug resistance:MDR) ۵۵٪ بود. میزان مثبت شدن روش‌های تشخیصی فوق در موارد MDR کمتر بود. همبستگی ابتلا به سل مقاوم و نتیجه روش MODS معنی‌دار، مستقیم و قوی بود. ($r=+0.96$, $P<0.0001$)

نتیجه گیری : با افزایشMDR ، تسریع در شناخت وضعیت مقاومت حائز اهمیت است. این امر با روشMODS ممکن می‌باشد. ولی با توجه به شیوع کمتر مثبت شدن این روش در بیماران MDR ،بایستی کشت استاندارد نیز در بیماران مشکوک به سل ریوی انجام شود.

کلید واژه‌ها: سل، MODS ، زیل نلسون ، لون اشتاین جانسن ، مقاومت

مقدمه:

بیماری سل به عنوان علت مهم مرگ ومیر و ناتوانی در دنیا شناخته شده است. سازمان جهانی بهداشت تخمین می‌زند که یک سوم جمعیت دنیا به مایکوباکتریوم توبرکولوزیس آلوده بوده و سالانه بیشتر از ۸ میلیون مورد جدید از سل فعال رخ می‌دهد(۳-۱). مدت کوتاهی پس از شروع درمان بیماری سل، سل مقاوم به درمان با مقاومت به استرپتومایسین توسط pyke در سال ۱۹۴۷ گزارش شد(۴) ودر سال ۱۹۴۸ جامعه تحقیقات پزشکی انگلستان گزارشی از مرگ و میر به‌دنبال درمان با استرپتومایسین را در بیماران مبتلا به سل ریوی ارائه نمود(۵). سل با مقاومت چند دارویی (MDR) Multidrug resistance که با مقاومت به حداقل دو داروی ایزونیازید و ریفامپین مشخص می‌شود(۶) در اوایل ۱۹۹۰ به صورت اپیدمی‌هایی در چند ایالت آمریکا گزارش گردید(۷). امروزه سل مقاوم به دارو به عنوان یک مشکل جهانی در آمده است(۸). مشاهده باسیل اسید فاست از طریق رنگ آمیزی زیل نلسون با میکروسکوپ، روش ابتدایی در تشخیص سل در سراسر دنیاست. ولی این روش تشخیصی قادر به تعیین مقاومت دارویی نیست، حساسیت آن هم زیاد نمی‌باشد(۶). لذا، لازم است تشخیص بیماری سل با کشت تایید شود(۹). کشت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به روش سنتی در محیط لون اشتاین جانسن انجام می‌شود. رشد باکتری به طور متوسط ۳ هفته طول می‌کشد که علاوه برآن جهت تعیین وضعیت حساسیت به دارو به ۳ تا ۴ هفته دیگر هم نیاز دارد(۱۰).

کنترل موفق بیماری سل نیازمند تشخیص به موقع و درمان موثر این بیماری است. مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در محیط مایع سریع‌تر از محیط جامد رشد می‌کند(۱۱). مطالعات مختلفی حساسیت و ویژگی بالای روش microscopic –observation drug susceptibility (MODS) در تشخیص و نیز امکان تشخیص سریع‌تر بیماری را گزارش کرده‌اند. همچنین این مطالعات شناخت مقاومت میکروبی سل در کوتاهترین زمان ممکن راتایید می‌نمایند(۱۷-۱۲). اما، در مطالعات مذکور همبستگی نتیجه کشت به روش MODS با روش‌های استاندارد بررسی نشده است.در مطالعه حاضر نتیجه کشت به روش MODS با دو روش رنگ آمیزی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن بر روی نمونه خلط بیماران مشکوک به سل ریوی مقایسه شد. همبستگی نتیجه روش MODS با روش‌های استاندارد سنتی نیز محاسبه گردید.

مواد و روش‌ها:

روش تحقیق توصیفی و تکنیک انجام آن مشاهده‌ای- مصاحبه‌ای بود. نمونه‌گیری به صورت متوالی انجام شد. بر اساس امکانات تیم تحقیق در مدت پنج ماه ۱۰۰ بیمار مشکوک به سل ریوی بستری در بیمارستان مسیح دانشوری که برای ورود به طرح اعلام آمادگی نموده بودند، انتخاب شدند. بعد از کسب شرح حال از بیماران، در صورتی که طبق معیارهای بالینی و براساس قضاوت متخصص بیماری‌های عفونی مشکوک به ابتلا به سل ریوی بودند، رادیوگرافی قفسه سینه درخواست گردید. در صورتی که بر اساس نظر رادیولوژیست تغییرات رادیوگرافی بیمار هم توجیه‌کننده بیماری سل ریوی بود، بیمار به عنوان مشکوک به سل ریوی تلقی شده و وارد مطالعه می‌شد. کلیه بیماران این مطالعه موارد جدید ابتلابه سل بودند.

از بیماران یک نمونه خلط به آزمایشگاه ارسال و طبق روش استاندارد (۱۰) با استفاده از سدیم هیدروکسید N استیل L سیستئین آلودگی‌زدایی گردید. بخشی از هر نمونه برای رنگ آمیزی زیل نلسون ، بخشی برای تلقیح در محیط کشت لون اشتاین جانسن ، و قسمتی هم برای بررسی با روش MODS استفاده می‌شد. برای کشت در محیط لون اشتاین(Gold standard method) ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه آماده شده تلقیح می‌شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. سپس دوبار در هفته از روز هفتم تا شصتم به منظور مشاهده رشد کلنی‌ها کلیه نمونه‌ها بررسی می‌شدند. در روش MODS (۱۸) به پلیت‌های ۲۴ خانه کشت بانت، محیط مایع میدل بروک 7H9، (broth base; Becton Dickinson: 5.9gr/L) ، OADC) Catalase , Dextrose ، Oxalic acid , Albumin), ، nalidixic acid و amphotricin B اضافه

می‌شد. ۷۲۰ میکرولیتر از نمونه آماده شده به هر خانه اضافه می‌گردید. برای هر نمونه ۱۲ خانه منظور شده و کنترل‌های منفی و مثبت نیز لحاظ می‌شدند. بعد از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد ، روزانه همه نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری معکوس (invert) بررسی می‌شدند. نمونه‌های مثبت با مشاهده تشکیل cord که مشخصه رشد باسیل سل است، شناسایی می‌شدند. با افزودن آنتی بیوتیک‌های ایزونیازید، ریفامپین ، اتامبوتول و پیرازنیامید به ترتیب با غلظت‌های µg/ml ۰/۲ ، ۲µg/ml، ۲/۵&۷/۵µg/ml و ۶µg/ml ، به خانه‌های پلیت به‌طور همزمان مقاومت داروئی هم بررسی می‌شد.مقاومت به حداقل ۲داروی ایزونیازید، ریفامپین به عنوان سل با مقاومت چند دارویی(MDR) محسوب می‌گردید(۶).

با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS (version 11.5 , Inc. USA) و آزمون‌های آماری (X^2 , Spearman) داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند. $P<0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

مشخصات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ نشان داده شده است. ۴۸ لبمار (۴۸٪) بیمار در گروه سنی ۲۰ تا ۶۰ سال قرار داشتند، ۹ نفر (۹٪) کمتر از ۲۰ سال و ۴۳ نفر (۴۳٪) بیش از ۶۰ سال داشتند. دامنه شنی بیماران ۱۵ تا ۸۷ سال و میانگین آن ۲۱/۸۳ ± ۵۲/۹ سال بود.

نتایج آزمایشگاهی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک، علایم بالینی و رادیولوژی در بیماران مشکوک به سل ریوی

مشخصات و علائم بیماران	تعداد	درصد
جنس : مرد	۴۸	۴۸
زن	۵۲	۵۲
علایم بالینی:		
سرفه	۹۶	۹۶
خلط	۸۹	۸۹
هموپتزی	۲۵	۲۵
کاهش وزن	۸۵	۸۵
تب	۷۵	۷۵
تعریق	۷۴	۷۴
تظاهرات رادیوگرافی قفسه سینه:		
درگیری قله ریه	۸۸	۸۸
در گیری لوب میانی و تحتانی	۷۹	۷۹
درگیری دو طرفه پارانشیم	۶۴	۶۴
کاویتی	۵۵	۵۵
نمای ارزنی	۷	۷
لنفادنوپاتی ناف ریه	۴	۴

جدول ۲: نتایج آزمایشگاهی دربیماران مشکوک به سل ریوی

نتایج مثبت	تعداد	درصد
رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون	۴۰	۴۰
کشت لوین‌اشتاین	۳۰	۳۰
کشت روش MODS	۴۷	۴۷
مقاومت به:		
ایزونیازید	۶۲	۶۲
اتامبوتول	۶۱	۶۱
ریفامپین	۶۰	۶۰
پیرازینامید	۵۵	۵۵
مقاومت چند دارویی (MDR)	۵۵	۵۵
مثبت شدن توام رنگ آمیزی و روش MODS	۳۳	۳۳
مثبت شدن توام رنگ آمیزی وکشت در محیط لون اشتاین حانسن	۲۳	۲۳
مثبت شدن توام کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS	۲۶	۲۶
نتایج مثبت توام سه روش رنگ آمیزی زیل نلسون و کشت MODS و کشت محیط لون اشتاین	۱۹	۱۹

بین نتیجه روش MODS با رنگ آمیزی زیل نلسون نمونه خلط رابطه معنی دار آماری وجود داشت (P<0.0001). به این صورت که از ۵۳ نمونه کشت منفی MODS ، ۴۶ نمونه اسمیر خلط منفی و فقط ۷ مورد اسمیر خلط مثبت داشتند و همبستگی بین نتیجه MODS و نتیجه رنگ‌آمیزی زیل نلسون مستقیم و معنی‌دار (r=+0.581 , P<0.00001) بود.

بین نتیجه روش MODS با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن از نمونه خلط بیماران رابطه معنی دار وجودداشت (P<0.0001) بدین ترتیب که از ۵۳ نمونه کشت منفی MODS ، ۴۹ نمونه نتیجه منفی در محیط کشت محیط لون اشتاین جانسن داشتند. همبستگی بین نیتجه MODS ونتیجه محیط لون اشتاین جانسن مستقیم و معنی دار (r=+0.52 P<0.0001) بود.

رابطه آماری معنی داری بین نتیجه روش MODS با نتیجه انجام دو روش تشخیصی زیل نلسون وکشت در محیط لون اشتاین جانسن توام با هم وجود داشت. (P<0.0001) بدین صورت که از ۵۳ بیمار با نتیجه منفی کشت MODS ، فقط در چهار نمونه نتیجه توام دو روش تشخیصی فوق مثبت بود. همبستگی ضعیفی بین نتیجه روش MODS با نیتجه انجام دو روش تشخیصی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن توام به صورت مستقیم و معنی دار (r=+0.39 , P<0.0001) وجود داشت.

رابطه اماری معنی‌داری بین شکایت سرفه با نتیجه روش MODS نمونه خلط بیماران مشاهده گردید (P<0.05) بدین ترتیب که از ۴۷ بیمار با کشت مثبتMODS ، ۴۳ بیمار (۹۱/۵٪) از سرفه شکایت می‌کردند. همبستگی بین نتیجه MODS و شکایت سرفه به صورت معکوس و معنی دار (r= -0.28 P<0.05) بود.

رابطه معنی‌دار آماری بین شکایت سرفه با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون خلط بیماران وجود نداشت. (P>0.05) از ۴۰ بیمار با رنگ آمیزی مثبت زیل نلسون ۳۷ بیمار(۹۲/۵٪) از سرفه نیز شکایت داشتند.

رابطه آماری بین وجود پلورزی با نتیجه روش MODS معنی دار بود(P<0.005). بدین گونه که ۶ بیمار از ۴۷ بیمار با کشت منفی MODS، پلورزی داشتند. همبستگی بین نتیجه روشMODS با وجود پلورزی به صورت معکوس و معنی‌دار (r= -0.24 , P<0.002) بود. بررسی مقاومت دارویی در روشMODS نشان داد که در ۵۵٪ موارد مقاومت توام مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به ایزونیازید و ریفامپین(MDR) وجود داشته است. در ۵۳٪ موارد میاروارگانیسم جدا شده از بیماران علاوه بر مقاومت به ایزونیازید و ریفامپین به دو داروی اتامبوتول و پیرازنیامید هم مقاوم بود.

شیوع مثبت شدن روش‌های تشخیصی رنگ‌آمیزی زیل نلسون خلط، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS در بیماران با مایکوباکتریوم حساس به دارو (Non-MDR) به ترتیب در۶۹٪ ، ۵۵/۵٪ و ۱۰۰٪ موارد بود. در حالیکه شیوع مثبت شدن روش‌های تشخیصی فوق در بیماران با مایکوباکتریوم MDR به ترتیب ۱۶،۵٪، ۹٪، ۳/۵٪ بوده است. رابطه آماری معنی‌داری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون خلط وجود داشت(P<0.0001). از ۵۵ بیمار مبتلا به MDR ، ۹ بیمار رنگ آمیزی زیل نلسون مثبت داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون مستقیم و معنی دار بود (r=+0.53 P<0.0001).

رابطه آماری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن معنی دار بود(P<0.0001). بدین ترتیب که از ۵۵ بیمار مبتلا به MDR ، ۵۰ بیمار کشت منفی و ۵ بیمار کشت مثبت در محیط لون اشتاین جانس داشتند. همبستگی بین ابتلاء به سل MDR با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن مستقیم و معنی دار بوده است (r=+0.52 P<0.0001)

رابطه آماری معنی داری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه روش MODS وجود داشت (P<0.001). از ۵۵ بیمارمبتلا به سل MDR در دو بیمار روش MODS مثبت بود. همه ۴۵ بیمار مبتلا به سل Non-MDR کشت خلط MODS مثبت داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR و نتیجه روش MODS قوی، مستقیم و معنی دار بود(r=+0.96 P<0.0001)

همچنین به لحاظ آماری رابطه بین ابتلا به سل MDR باوجود پلورزی در بیماران معنی دار بود (P<0.05). ۶ بیمار از ۵۵ بیمار مبتلا به سل MDR، پلورزی داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR باپلورزی معکوس، ضعیف و معنی دار بود (r=-0.23 P<0.05)

بحث:

در مطالعه حاضر میزان روش MODS مثبت ۱/۵ برابر کشت در محیط لون اشتاین جانسن است، که مشابه نتایج Oberhelman (۱۶) است.Oberhelman تحقیقی در کودکان ۱۲ ساله و کوچکتر باعلایم سل ریوی انجام داد. او نمونه ترشحات معده، مدفوع و آسپیراسیون ترشحات نازوفارنکس را بررسی کرد. در ۸۶/۸٪ کشت MODS مثبت و در ۵۳/۵٪ کشت در محیط لون اشتاین جانسن مثبت بود. MODS مثبت ۱/۵ برابر محیط لون اشتاین جانسن مثبت بوده است. این میزان با نتایج مطالعات Moore (۱۳)، Caviedes(۱۷) و Arias(۱۸) که میزان مثبت شدن دو روش کشت فوق تقریبا برابر بوده متفاوت است. مطالعه Moore (۱۳) بر روی ۵۷۷۱ نمونه و مطالعهArias (۱۸) در چند مرکز در کشورهای با شیوع بالای سل و مطالعه Caviedes (۱۷) بر روی ۱۷۲نمونه در پرو انجام گرفته است. با توجه به نکات فوق مطالعه حاضر نشان می‌دهد که MODS می‌تواند به عنوان یک روش تشخیصی در کشور ما استفاده شود.

در این مطالعه بین نتیجه روش MODS با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون و همچنین بانتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن رابطه معنی دار آماری و همبستگی قابل قبول مستقیم و معنی دار وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد ۳ درصد بیماران مورد مطالعه فقط با انجام رنگ آمیزی زیل نلسون بر روی نمونه خلط شناسایی شدند. سازمان جهانی بهداشت انجام آزمایش میکروسکپی خلط با رنگ آمیزی اسید فاست را در بیماران علامت دار جهت تشخیص سل ریوی در سه نوبت (نوبت اول در روز مراجعه بیمار، نوبت دوم نمونه خلط روز بعد overnight و نمونه سوم در صبح روز دوم مراجعه) توصیه می‌نماید(۱۹، ۲۰)

بین شکایت سرفه با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون نمونه خلط رابطه معنی‌دار آماری وجود نداشت . اما، این رابطه

با روش MODS وجود داشت. روش رنگ آمیزی اسید فاست می‌تواند بیمارانیرا که از نظر اپیدمیولوژی در انتقال عفونت به اطرافیان نقش دارند شناسایی نماید. این رنگ آمیزی ویژگی بسیار بالایی دارد، ولی وجود مشکلاتی نظیر نیاز به تجهیزات، پرسنل آموزش دیده ونیز حداقل ۱۵ دقیقه زمان جهت هر لام قبل از گزارش پاسخ منفی ازمحدودیت‌های آن می‌باشد (۲۱، ۲۲). ولی روش مثبت MODS در مطالعه Menqatto(۲۳) که در کمتر از ۱۰ روز گزارش شد از امتیازات این روش است. مطالعه حاضر نشان می‌دهد شیوع مثبت شدن رنگ آمیزی زیل نلسون ، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS در بیماران مبتلا به سل Non-MDR بیش از نتایج در بیماران مبتلا به سل MDR است. به عبارت دیگردر بیماران مبتلا به سل MDR احتمال مثبت شدن کشت در محیط لون اشتاین جانسن ۲/۵ برابر روش MODS است . پس، انجام کشت در محیط لون اشتاین جانسن همراه با MODS ضروری به نظر می‌رسد. در بیماران مبتلا به سل Non-MDR احتمال مثبت شدن روش MODS دو برابر کشت در محیط لون اشتاین جانشن می‌باشد. با توجه به اینکه مدت زمانی که صرف بررسی روشMODS می‌شود بسیار کوتاه‌تر از روش کشت در محیط لون اشتاین جانسن می‌باشد (۱۸،۱۳، ۲۴،۲۳) به نظر می‌رسد با انجام روش MODS می‌توانیم در زمان کوتاه‌تری به تایید تشخیص سل دست یابیم. اگر چه احتمال مثبت شدن آن در بیماران MDR کمتر است.

در این مطالعه ۵۵ درصد به ایزونیازید و ریفامپین (MDR)، ۵۳ درصد به دو داروی اتامبوتول و پیرازینامید مقاوم بودند. بررسی وضعیت مقاومت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس از نوع MDR با استفاده از روش MODS در مطالعات Moore(۱۳) ، park (۱۵)، Arise (۱۸) به عنوان تست دقیق‌تر و سریع‌تر از روش مرجع و نیز با حساسیت خوب بیش از ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ نشان داده شده است. در هر صورت بعضی مطالعات نظیر Moore(۱۳) و Caviedes(۱۷) یک تشخیص بیش از حد بیماری از نوع MDR(0verdignosed) و بعضی مطالعات نظیر Shiferaw(۲۴) تشخیص کمتر بیماری سل از نوع MDR (Underdignesedc) را مطرح می‌نمایند. با همه تناقضات موجود می‌توان تسریع در تشخیص بیماری سل با روش کشت MODS (۱۴ ، ۱۷) و تعیین وضعیت مقاومت دارویی در مدت کوتاه (۲۴) و نیز نمای اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در محیط کشت مایع(۲۵) را از محاسن این روش تشخیصی به حساب آورد.

مطالعه حاضر نشان داد که رابطه آماری معنی‌دار و همبستگی ضعیف، معکوس و معنی‌داری بین نتیجه روش MODS با پلورزی وجود دارد، و بیماران مبتلا به سل MDR کمتر دچار عارضه پلورزی شده بودند. توجیه این یافته نیاز به تحقیقات بالینی بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری:

امروزه با افزایش سل MDR به عنوان یک خطر جهانی (۸)، تسریع در شناخت وضعیت مقاومت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس جدا شده بسیار حائز اهمیت می‌باشد. ولی به دلیل آنکه روش‌های تعیین مقاومت استاندارد درمحیط‌های جامد در بسیاری از مناطق آندمیک بیماری سل به حداقل زمان ۳ تا ۵ هفته‌ای نیاز دارند(۲۶)، به نظر می‌رسد روش MODS راهی سریع در تشخیص بیماری و تعیین وضعیت مقاومت آن باشد. اما، به دلیل احتمال مثبت شدن کمتر این روش تشخیصی در بیماران مبتلا به سل MDR نسبت به بیماران مبتلا به سل Non-MDR ، لازم است کشت استاندارد در محیط لون اشتاین جانسن در بیماران مشکوک به سل ریوی حتما در کنار روش‌های کشت مایع انجام شود.

فهرست مراجع:

1.Raviglione MC, snider DE, kochi A. Global epidemiology of tuberculosis morbidity and mortality of a world wide epidemic. *JAMA* 1995; **273**:220-6

2.Dye C, Scheele S, Dolin P, , Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis : estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *JAMA* 1999;**282**: 677-89.

3.World Health organization. World health report 1999: making a difference. Geneva : *world health organization*, 1999.

4.Pyle MM. Relative numbers of resistant tubercle bacilli in sputum of patients before and during treatment of streptomycin. *Proc staff Meetings Mayo Clinic* 1947;**22**: 465-473.

5.Medical research council. Streptomycin treatment of pulmonary tuberculosis. *Br Med J* 1948;**2**: 769-82.

6.Nachea JB, Chaisson RE. Tuberculosis drug resistance: A global threat *Clin Infec Dis* 2003; **36** (supp 1):S24-30.

7.Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn Jo, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug resistance tuberculosis in New york city. *N Engle J Med* 1993; **328**:521-6.

8.Schluger NW. The impact of drug resistance on the global tuberculosis epidemic. *Int J tuber lung dis* 2000; **4**:571-5.

9.Dunlap NE, Bass J, Fujiwara P, Hopewell P, Horsburgh CR , Salfinoer M, *etal*.. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J respire crit care Med* 2000; **161(4)**:1376-95.

10.Kent BD, Kubica GP. A guide for the level III laboratory. Public health mycobacteriol 1985; 36-187.

11.Cheng Af, Li MS, Chan cy, Lyon D, wise R, lee JC. Evaluation of three culture media and their combinations for the isolation of *mycobacterium tuberculosis* from pleural aspirates of patients with tuberculous pleurisy. *J trop Med Hyg* 1994 ; **97**:249-253.

12.Moore DA, Evans C. Gilman RH. Microscopic – observation drug susceptibility assay for the diagnosis of TB. *N Engle J Med* 2006;**355** :1539-50

13.Moore DA, Mendoza D, Gliman Rh. Microscopic observation drug susceptibility assay, a rapid, reliable diagnostic test for multidrug resistant tuberculosis suitable for use in resource-poor settings. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(10):4432-7.

14.Moore DA, Caviedes L, Cornel J. Infrequent MODS TB culture cross-contamination in a high burden resource-poor setting. *Diagn Microbial Infec Dis* 2006; **56**(1):35-43.

15.Park WG, Bishai ER, Chaissan TE, Dorman SE. Performance of the microscopic observation drug susceptibility assay in drug susceptiblity testing for *Mycobactetrium tuberculosis*. *J Clin Microbial* 2002;**40**(12):4750-2

16.Oberhelman RA, Soto-castellares G, Carvieds L. Improved recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from children using the microscopic observation drug susceptiblity method. *Pediatrics* 2006;**118**(1):100-6

17.Caviedes L, Lee Ts, Gilman RH, Sheen P, Spellman E, Lee EH , *etal*. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* broth cultures. *J Clinic Micobiol* 2000;**38**(3),1203-1208

18.Arias M, Mello F.C.Q , Pavoin A, Marsico AG, Alvarado-Ga'lvez c, Rosales S. Clinical evaluation of the micrpscopic – observation drug susceptibility assay for detection of tuberculosis.*CID* 2007;**44**:674-680.

19.Enarson DA, Reider HL, Arnadottir T, Trebucq A. Tuberculosis guide for low income countries. 4th ed; *IUATLD*, 1996.PP:120-156

20-APL Consensus Expert Committee. API TB Consensus Guidelines 2006; Management of pulmonary tuberculosis, extra-pulmonary tuberculosis and tuberculosis in special situations. *J Assoc physicians India* 2006;**54**:210-34.

21.Narain R, Subba-Roa MS, Chandrasekhar P. Microscopy positive and microscopy negative cases of pulmonary *tuberculosis*. *Am Rev Respir Dis* 1971; **103**:761-773.

22.Rouillon A,Perdizer S, Parrot R. Transmission of *tubercle bacilli*: the effect of chemotherapy. *Tubercle* 1976;57:275-299.

23.Mengatto L, Chiani Y, Imaz MS. Evaluation of rapid alternative methods for drug susceptibility testing in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mem Inst Oswoldo cruz* 2006**;101**(5):535-42.
24.Shiferaw G, Woldeamenuel Y, Gebeyehu M, Girmachew F, Demessie D, Lemma E. Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Cclin Microb* 2007;**45**(4):1093-1097.
25.Morris AJ, Reller LB. Relability of cord formation in BACTEC media for presumpative identification of *Mycobacteria*. *J Clin Microb* 1993; **31**:2533-2534.
26.Matthew S, Paramasivan CN, Rehman F, Balambal R, Rajaram K, Prabhakar R. A direct rifampicin sensitivity test for tubercle bacilli. *Indian J Med Res* 1995;**102**:99-103.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۱۴- ۹

تشخیص سریع مولکولی *لیستریامنوسیتوژنز* به روش PCR با استفاده از ژن *hlyA*

علی نجفی[۱]، مهدی قربانعلی زادگان[۱] ، حمید رضا توکلی[۲*]، علی احمدی[۱]

۱) مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج).
۲)گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج).
نویسنده رابط: گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج).
همراه:۰۹۱۲۲۳۹۳۳۱۹ h.tavakoli1344@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۱/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله :۸۸/۱۲/۱۴

چکیده:

زمینه و اهداف: در حال حاضر روش استاندارد برای تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* کشت می‌باشد. به علت این که در خوراک دام از آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود و این باکتری داخل سلولی می‌باشد حساسیت کشت به شدت کاهش می‌یابد. به‌علاوه، تشخیص با این روش بیشتر از ۳۶ ساعت طول می‌کشد. لذا، دست‌یابی به آزمونی که بتواند در هر شرایطی وجود *لیستریا مونوسیتوژنز* را در نمونه بالینی نشان دهد، ارزشمند می‌باشد. هدف این مطالعه تشخیص سریع مولکولی *لیستریا مونوسیتوژنز* به روش PCR با استفاده از ژن *hlyA* بود.

روش بررسی: ژن *hlyA* به عنوان ژن اختصاصی برای شناسایی *لیستریا مونوسیتوژنز* انتخاب گردید. به منظور بهینه سازی آزمایش از سویه استاندارد *لیستریا مونوسیتوژنز* PTCC: 1163 استفاده شد. برای بررسی اختصاصیت از باکتری‌های *سالمونلا تیفی* PTCC :1609 ، *لیستریا مونوسیتوژنز* PTCC: 1163 و *اشریشیاکلی* ATCC: 35218، استفاده شد. برای استخراج DNA از روش فنل – کلروفرم استفاده شد و محصول bp ۲۱۰ پس از الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ در دمای اتاق با رنگ اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و مورد شناسایی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که سویه استاندارد محصول مورد نظر را تولید می‌نماید. در حقیقت، جفت پرایمر انتخاب شده محصولی در اندازه bP 210 تولید می‌کند. آزمایش اختصاصیت نشان داد که روش حاضر با هیچ یک از باکتری‌های غیرهدف واکنش نشان نمی‌دهد. بررسی حساسیت نشان داد که حد نهایی تشخیص DNA *لیستریا مونوسیتوژنز* در این روش ۵۰۰fg می‌باشد.

نتیجه گیری : نتایج بهینه سازی نشان داد که روش PCR به‌کار رفته در این مطالعه از سرعت، حساسیت و اختصاصیت لازم برخوردار است و نتیجهٔ نهایی در کمتر از سه ساعت بدست می‌آید. به کارگیری این روش در آزمایشگاه‌ها تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* را امکان پذیر می‌نماید.

کلید واژه ها: *لیستریامونوسیتوژنز* ، PCR ، ژن *hlyA*

مقدمه:

لیستریوز بیماری مشترک انسان و حیوان است که عامل آن *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌باشد. علت نامگذاری این باکتری ازدیاد تعداد مونوسیت‌ها درحیوانات آلوده آزمایشگاهی بوده است. لیستریا باسیل‌های گرم مثبت کوتاه، بدون کپسول، بدون اسپور، کاتالاز و اکسیداز مثبت هستند(۱). *لیستریا مونوسیتوژنز* دربسیاری ازمحیط‌های کشت مانند مولرهینتون آگار و آگارخوندار به خوبی رشد می‌کند و قادر به ایجاد همولیز بتا درآگارخوندار است. لذا، ممکن است با استربتوکوک‌های بتا همولیتیک اشتباه گردد. این باکتری قادر به رشد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد است (Cold enrichment). علاوه بر خصوصیات ذکر شده *لیستریا مونوسیتوژنز* ، گلوکز، رامنوز، هیپورات، متیل رد و وژه پروسکوئر مثبت است. ولی H2S ، احیای نیترات ، مانیتول ، ریبوز ، نشاسته ، زایلوز ، ذوب ژلاتین ،اندول و اوره آز آن منفی است(۲).

در حال حاضر روش استاندارد برای تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز*، کشت می‌باشد. به علت این که در خوراک دام ازآنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود، و این باکتری درون سلولی می‌باشد، حساسیت کشت به شدت کاهش می‌یابد. به علاوه، تشخیص با این روش بیشتر از ۳۶ ساعت طول می‌کشد. لذا، دست‌یابی به آزمونی که بتواند در هر شرایطی وجود *لیستریا مونوسیتوژنز* را در نمونه بالینی نشان دهد، ارزشمند می‌باشد. از مهم‌ترین این آزمون‌ها، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) را می‌توان نام برد(۳). زیرا، تحت تأثیر درمان آنتی‌بیوتیکی، نحوه انتقال نمونه که سبب مرگ باکتری می‌شود قرار نمی‌گیرد، و حساسیت آن بیش از ۹۰ درصد گزارش شده‌است (۵،۴). از این‌رو، مراکز مختلف تحقیقاتی و درمانی مبادرت به طراحی، ارزیابی و کاربرد واکنش PCR برای تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* نموده‌اند. به‌طوری با معرفی روش‌های پیشرفته قادر به تشخیص همزمان و سریع چند عامل می‌باشند(۶).

از سوی دیگر احتمال بروز اپیدمی‌های لیستروز در جمعیت‌های مختلف و پراکندگی فراوان آن در فراورده‌های گوناگون غذائی (۷)هم مطرح است. لذا، در سال‌های اخیر نظر به ضرورت تشخیص سریع این بیماری و استفاده از فنآوری‌های ژنی و ظهور PCR، امیدهایی در تشخیص سریع *لیستریا مونوسیتوژنز* به وجود آمد(۶ ،۸).

شواهد موجود مؤید آن است که استفاده از PCR توانسته است با دقت بیش از۹۰٪ وجود *لیستریا مونوسیتوژنز* را نشان دهد(۸). از این رو، هدف از این مطالعه، طراحی روش PCR برای تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* ابود. به طوری که به وسیله آن بتوان این باکتری را سریع‌تر شناسایی نمود.

مواد و روش‌ها:

سالمونلا تیفی PTCC: 1609 ، *لیستریا مونوسیتوژنز* PTCC: 1163 و اشریشیا کلیATCC: 35218، از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و محیط‌های کشت‌های LB broth و LB agar از شرکت Merck تهیه گردیدند.

روش تعیین مقدار DNA بر اساس میزان حساسیت رنگ اتیدیوم بروماید: توانایی روش الکتروفورز، در رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید، در تعیین DNA در بهترین شرایط یک نانوگرم می‌باشد. لذا، نمونه خالص شده از محیط کشت به صورت رقت سریالی ۱/۲ تا ۱/۸۰رقیق گردید و ضعیف‌ترین باند انتخاب شد(۹) .

روش تخمین مقدار DNA بر اساس تعداد باکتری (CFU): از آنجایی که هر باکتری دارای یک کروموزوم است و در صورتی که کشت داده شود، هر باکتری قادر به تولید یک کلنی می‌باشد. از سوسپانسیون باکتری رقت تهیه گردید و بر اساس روش Misra& Miles میزان باکتری در واحد حجم بر اساس CFU تخمین زده شد(۹).

پرایمر: پس از بررسی منابعی که از PCR برای تشخیص *لیستریامونوسیتوژ* استفاده شده بود، تمام ژن‌ها و پرایمرهای استفاده شده ، مورد بررسی قرار گرفتند. پرایمرهای مربوط به ژن *hlyA* , انتخاب و بررسی شدند. بر اساس میزان حساسیت و اختصاصیت پرایمرها و نتایج آنالیز آنها با نرم افزارملکولی BLAST پرایمرمطلوبی که مشخصات آن در جدول ۱ ذکر شده است برای تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* انتخاب گردید(۸). بررسی نرم افزار مولکولی این ژن و پرایمرهای ارایه شده نشان داد که سکانس انتخاب شده از ژن *hlyA* مناسب ترین توالی برای شناسایی *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌باشد.

جدول ۱: سکانس پرایمر انتخاب شده به منظور تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز*

Primers	Sequences
Forward	5′-CGCAACAAACTGAAGCAAAGG-3′
Reverse	5′-TTGGCGGCACATTTGTCAC-3′(210bp)

استخراج ژنوم: برای استخراج ژنوم از روش فنل‌کلروفرم استفاده شد. به‌این ترتیب که برای پیاده کردن (set up) آزمایش PCR ابتدا چند کلنی از باکتری‌های استاندارد بـه ۱ میلـی لیتـر سـرم فیزیولوژی اضافه شد و سانتریفوژ گردید (۵۰۰۰ دور به‌مـدت ۵ دقیقه). به روسـوب حاصـل ۵۰۰ میکرولیتـر بـافر Salt Tris EDTA افزوده شد و پس از ۱۰ دقیقه مخلـوط نمـودن آن ۱۸۰ میکرولیتر SDS دو درصد به‌آن اضافه گردیـد. پـس از آن ۳۷۵ میکرولیتر استات سدیم به‌آن افزوده شد و ۱۰ بار به شدت تکـان داده شد. سپس در ۴ درجه‌سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و به محلول رویـی ۷۵۰ میکرولیتـر ایزوپروپـانول اضـافه گردیـد. پـس از نگهداری به مدت ۲۰ دقیقه در دمای منهای ۲۰ درجه سـانتریفوژ شد (۱۵۰۰۰ دور به‌مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گـراد). به روسوب حاصل ۳۷۵ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده شد و به‌خـوبی مخلـوط گردیـد. بـه‌مـدت ۱۰ دقیقـه بـا دور ۱۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. به روسوب حاصل ۲۵ میکرولیتر بافر TE اضـافه شد و جهت انجام PCR استفاده گردید.

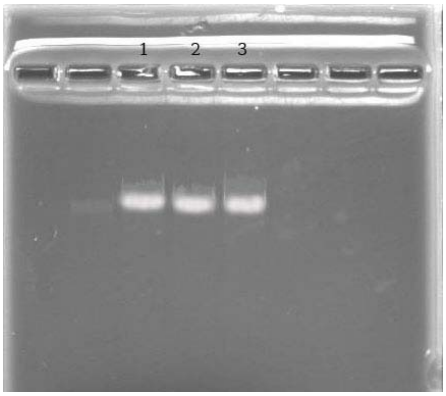
بهینه سازی مواد لازم برای واکنش **PCR** : برای رسیدن به این هدف چند بار فرآیند PCR با ژنوم سویه‌های استاندارد انجام شد و در هر مرحله یکی از غلظت‌های مواد اولیه (پرایمرها ،MgCl2، dNTP و آنزیم Taq پلی مراز) استفاده شد. در نهایت مناسب‌ترین مقادیر از مواد لازم برای انجام PCR انتخاب گردیدند. دمای اتصال پرایمرها، پروفایل‌های حرارتی و زمان در واکنش تغییر داده شد تا بهترین شرایط PCR فراهم گردد. جهت بهینه سازی دمای اتصال پرایمرها (Annealing) از درجه حرارت‌های ۵۶ ، ۵۷ ، ۵۸ و ۵۹ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

تائید محصول: جهت تائید نهائی محصول بدست آمده، برای تعیین توالی، به شرکت سینا ژن ارسال گردید.

یافته‌ها:

نتایج حاصل از استخراج ژنوم در شکل ۱ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از آزمایش دماها، زمان‌ها و غلظت‌های مختلف مواد مصرفی برای دستیابی به بهترین نتیجهٔ PCR در ناحیهٔ ۲۱۰ bp در جدول ۲ نشان ارائه شده است.



شکل ۱: نتایج حاصل از استخراج ژنوم

۱- ژنوم *سالمونلا تیفی*، ۲- *ژنوم لیستریامونوسیتوژنز* و ۳- ژنوم *اشرشیا کلی*

جدول ۲: شرایط نهائی شده مطلوب برای دستیابی به بهترین نتیجهٔ PCR

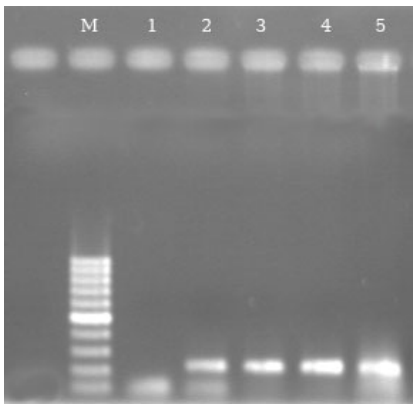
Amplification Condition	
Reaction mixture	
Primer concentration	10 pM
MgCl2 concentration	2.5 mM
dNTP concentration	0.2 mM
taq polymerase	2.5 U
Amplification program	
Dnaturation	94°C for 180 S
Annealing	58°C for 60 S
Extention	72°C for 60 S
Cycle number	30

pM= picomole, *mM* = milimole, U = unit.

دمای اتصال پرایمرها (**Annealing**): درجه حرارت مراحل مختلف در واکنش PCR تغییر داده شد تا بهترین دمای اتصال برای پرایمر مشخص گردد. باتوجه به نتایج بدست آمده دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای Annealing انتخاب گردید.

تعیین اختصاصیت **PCR**: برای تعیین اختصاصیت PCR، ژنوم تمام باکتری‌های مورد آزمایش استخراج شد، آزمایش PCR انجام شد و محصولات آن در ژل آگارز یک درصد و حرارت اتاق الکتروفورز شدند. هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمایش ، غیر از *لیستریامونوسیتوژنز*، محصول اختصاصی bp ۲۱۰ را تولید نکردند.

تعیین میزان حساسیت: رقت‌هایی از $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$ از ژنوم سویه استاندارد تهیه گردید و از این رقت‌ها PCR انجام شد. نتایج PCR در شکل ۲ نشان داده شده است. به این ترتیب PCR طراحی شده در این مطالعه قادر به شناسایی ۵۰۰fg از ژنوم *لیستریامونوسیتوژنز* بود.



شکل ۲: الکتروفورز محصولات PCR از رقت‌های نختلف سویه *لیستریا منوسیتوژنز*

M- Ladder ۱- کنترل منفی ۲- رقت $۱۰^{-۱}$ ، ۳- رقت $۱۰^{-۲}$ ، ۴- رقت $۱۰^{-۴}$ ۵- رقت $۱۰^{-۸}$

تائید محصول: برای تائید نهائی، محصول بدست آمده برای تعیین توالی به شرکت سینا ژن ارسال گردید، و توالی زیر بدست آمد:

TTGGCGGCACATTTGTCACTGCATCTCCGT
GGTATACTAATACATTGTTTTTATTATAAT
CCAATCCTTGTATATACTTATCGATTTCAT
CCGCGTGTTTCTTTTCGATTGGCGTCTTAG
GACTTGCAGGCGGAGATGCTGGTGGTGCC
ATGGATGAAATTGAATTTTCTTTATTGAAT
GCAGATGCATCCTTTGCTTCAGTTTGTTGC
G

بحث:

هدف اصلی در این تحقیق راه اندازی روش PCR برای تشخیص *لیستریامونوسیتوژنز* بود. زیرا، این روش نسبت به روش‌های موجود نظیر کشت از سرعت و دقت بیشتری برخوردار است. روش استاندارد طلایی برای تشخیص قطعی *لیستریامونوسیتوژنز*، کشت می‌باشد. اما، این روش تحت تأثیر درمان آنتی‌بیوتیکی (که در خوراک دام استفاده می‌شود)، نحوه انتقال نمونه (که سبب مرگ باکتری می‌شود) و درون سلولی بودن باکتری قرار می‌گیرد. به‌علاوه، این روش حداقل ۳۶ ساعت طول می‌کشد. از این‌رو، این تحقیق طراحی و انجام گردید و چنانچه نتایج آن نشان داد، قادر به شناسایی *لیستریامونوسیتوژنز* در مدت ۳ ساعت می‌باشد. در سال‌های اخیر مزایای روش‌های مبتنی بر PCR برای تشخیص سریع عوامل مختلف عفونت‌های میکروبی از جمله لیستریامونوسیتوژنز مورد توجه قرار گرفته است (۱).

لذا، با طراحی پرایمرهای مختلف اقدام به بسط روش PCR برای شناسایی *لیستریامونوسیتوژنز* شد(۳). بررسی نرم افزار مولکولی پرایمر ژن *hlyA* معرفی شده در این تحقیق نسبت به پرایمرهای ارایه شده در دیگر مقالات (۵) از اختصاصیت بیشتری برخوردار است. لذا این پرایمر در تحقیق حاضر انتخاب گردید. در تحقیقات انجام شده قبل از سال ۲۰۰۱ میلادی به‌دلیل عدم شناسایی کامل ژنوم *لیستریامونوسیتوژنز* از ژن *hlyA* کمتر استفاده شده است(۸). هر چند از سال ۲۰۰۱ میلادی تا کنون برای این ژن پرایمرهایی معرفی گردیده است اما پروتکل ارایه شده برای PCR با این پرایمرها بیشتر برای دستگاه‌های جدید مانند Real – Time PCR می‌باشد(۷). همچنین، برای افزایش حساسیت آزمایش از پروب استفاده نموده‌اند(۵)که به‌دلیل عدم وجود گسترده این دستگاه‌ها در کشور ما، انجام این روش‌ها میسر نیستند. در این تحقیق برای افزایش حساسیت و اختصاصیت آزمایش از پروب استفاده نشد بلکه با تغییر غلظت مواد مصرفی در واکنش و نیز تغییر دماها و سیکل‌های واکنش توانستیم سویه استاندارد *لیستریامونوسیتوژنز* را شناسایی نماییم. نتایج آزمایشات مختلف با ژنوم باکتری‌های دیگر، غیر از *لیستریامونوسیتوژنز* ، نشان داد که این پرایمر با هیچ یک از آنها واکنش نشان نمی‌دهد. در نهایت با این تحقیق توان شناسایی *لیستریامونوسیتوژنز* با استفاده از دستگاه‌های موجود و با رنگ آمیزی اتیدیم بروماید در ژل آگارز و بدون نیاز به پروب با حساسیت و اختصاصیت قابل قبول حاصل گردید.

نتیجه‌گیری:

روش PCR به‌کار رفته در این مطالعه از سرعت، حساسیت و اختصاصیت لازم برخوردار است. زیرا پرایمرهای مصرفی با هیچ یک از ارگانیسم‌های دیگر واکنش نشان نمی‌دهد. نتیجهٔ نهایی این روش در کمتر از سه ساعت حاصل می‌شود. بکارگیری آن در آزمایشگاه‌ها، تشخیص *لیستریا مونوسیتوژنز* را امکان‌پذیر می‌نماید.

تقدیر و تشکر:

مطالعه حاظر حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی است که با حمایت مالی مرکز تحقیقات بهداشت نظامی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج) به انجام رسیده است. بدینوسیله از تمامی همکاران در دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج) ـ مرکز تحقیقات بهداشت که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، صمیمانه تشکر می‌نماییم.

فهرست مراجع:

1. Inatsu Y, Bari ML, Kawasaki S, Isshiki K. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* in Kimchi. *J Food Prot*. 2004 ; **67**(7):1497-500.
2. Murray PA, Baron JA, Jorgensen JH. *Mannual of Clinical Microbiology*.8th ed, Washington DC, ASM Press, 2003;PP:95-100
3. Carola Burtscher , Stefan Wuertz. Evaluation of the Use of PCR and Reverse Transcriptase PCR for Detection of Pathogenic Bacteria in Biosolids from Anaerobic Digestors and Aerobic Composters. *Appl Environ Microbiol.* 2003; **96**(8): 4618–4627.
4. Shearer AE, Strapp CM, Joerger RD. Evaluation of a polymerase chain reaction-based system for detection of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* O157:H7, Listeria spp., and *Listeria monocytogenes* on fresh fruits and vegetables. *J Food Prot*. 2001 ; **64**(6):788-95.
5. Maria Consuelo Vanegas , Elizabeth V squez , Aida Juliana Martinez, Adriana M. Rueda. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw whole milk for human consumption in Colombia by real-time PCR. *Food Control* .2009; **20** :430–432.
6. Keith A. Lampel L, Palmer A. Orlandi I, AND Leroy K. Improved Template Preparation for PCR-Based Assays for Detection of Food-Borne Bacterial Pathogens. *Appl Environ Microbiol*.2000**; 66**(10): 4539–4542.
7. حمید رضا توکلی، مهدی قربانعلی زادگان، علی نجفی، افشین آخوند زاده بستی، رامین خاکسار. بررسی آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی به *لیستریا مونوسایتوژنز* و گونه‌های سالمونلا در ایران. فصل نامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری ۱۳۸۷، سال سیزدهم: شماره ۴۲ صص ۶۱ تا ۶۷ .
8. Park YS, Lee SR, Kim YG. Detection of *Escherichia coli* O157:H7, Salmonella spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). *J Microbiol*. 2006 Feb; **44**(1):92-7.
9. Sambrook J. & Russell David W: Molecular cloning (a laboratory manual). 4th ed, Newyork, Gold Spring , 2001; p p: 1- 11.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۲۰- ۱۵

مقایسه فراوانی *هلیکوباکتر پیلوری* در زنان بارور و نابارور با استفاده از فناوری‌های ELISA و PCR

مریم ساده[۱*]، محمد باقر خلیلی[۱]، حسین فلاح زاده[۲]

۱) مرکز تحقیقات درمانی ناباروری یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۲) گروه آمار و اپیدمیولوژی ،دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی
نویسنده رابط: مریم ساده، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
همراه:۰۹۱۳۲۵۲۷۶۷۹ sadeh_m20@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۶/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۲/۱۱

چکیده:

زمینه و اهداف: هرچند *هلیکوباکتر پیلوری* عامل گاستریت می باشد، اما با توجه به خصوصیات آن به‌نظر می رسد که بتواند در دستگاه تناسلی کلونیزه و خطر ناباروری را افزایش دهد. هدف از این مطالعه مقایسه فراوانی *هلیکوباکتر پیلوری* در زنان بارور و نابارور به روش‌های ELISA و PCR بود. تا بتوان به ارتباط بین *هلیکوباکتر پیلوری* با نازایی در زنان پرداخت.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی ۲۵۰ زن شامل ۱۳۱ (۵۲/۴٪) نابارور (مورد) و ۱۱۹(۴۷/۶٪) بارور (شاهد) مراجعه کننده به مرکز تحقیقات درمانی ناباروری یزد بررسی شدند. پس از جمع‌آوری نمونه خون آزمایش الیزا انجام شد و میزان IgG و IgM در افراد مشخص گردید. همزمان دو سوآب از واژن افراد جهت انجام آزمون PCR تهیه گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های T- test و مجذور کای استفاده شد.

یافته ها: از ۲۵۰ نفر تیتر آنتی بادی در ۱۵۸ نفر (۶۳/۲٪) شامل ۷۸ نفر گروه مورد (۶۵/۵۴٪) و ۸۰ نفر (۶۱/۱٪) گروه شاهد، مثبت بود(P=0.463). IgM در کلیه نمونه‌ها منفی بود. نتایج نشان داد که در ۳ نفر (۱۰۰٪) از افرادی که علت نازائی آنها Ovarian Factor بود، در ۲۶ نفر (۷۰/۲٪)با علت Polycystic Ovarian ، در ۱۸ نفر (۵۲/۵٪)با علت Tubal Factor و در ۲۱ نفر (50٪)با علت نازایی نامشخص تیتر آنتی‌بادی مثبت بود. بیشترین موارد مثبت تیتر آنتی بادی در گروه‌های سنی ۳۹-۳۰ سال بود (گروه‌های شاهدو مورد به ترتیب ۶۱/۲٪ و ۶۳/۶٪)، که معنی دار نبود(P >0.05).

نتیجه گیری : هر چند میانگین تیتر IgG در زنان نابارور بیشتر است اما معنی دار نیست. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با نازایی ارتباط نداشته باشد. اما، موارد مثبت تیتر آنتی‌بادی در صورت Polycystic Ovarian بیشتر است. آیا ممکن است که باکتری مزبور در ایجاد آن نقش داشته باشد؟

کلید واژه ها: نازایی ، *هلیکوباکتر پیلوری*، زنان ، ELISA ، PCR

مقدمه:

تحقیقات فراوان توانستند نقش چندین گونه باکتریایی در ایجاد نازایی زنان را به اثبات برسانند(۴-۱). امروزه مشخص شده که باکتری‌هایی همچون *کلامیدیاتراکوماتیس*، *نایسریاگونوره*، *اشریشیاکلی* و احتمالا *اورآپلاسما اوره‌آلیتیکوم* از جمله مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی می‌باشند که مستقیم یا غیر مستقیم عامل معضل نازایی را موجب می‌شوند(۴،۳). اخیراً گزارشات معدودی اشاره نمودند که با توجه به خصوصیات *هلیکوباکتر پیلوری* مبنی بر خنثی سازی محیط اسیدی قادر است تا در واژن لانه گزینی نماید، و به مرور زمان التهابات بدون علائم را موجب شود(۵،۶). مطالعاتی که توسط Elsick و همکاران (۶) انجام پذیرفت نشان داد که انتقال باکتری از راه تناسلی- دهانی(Oral-genital) صورت می‌گیرد. نامبردگان و همچنین متخصصین دیگر(۸-۶) توانستند *هلیکو باکتر پیلوری* را همزمان از بزاق دهان و واژن با استفاده از تکنیک PCR ایزوله نمایند. هر چند محققان فوق سعی کردند التهاب دستگاه تناسلی توسط *هلیکوباکتر پیلوری* را به نازایی نسبت دهند، اما گروه دیگری اعلام می‌دارند که علت نازایی ممکن است نتیجه واکنش سیستم ایمنی یا همولوژی خطی بین آنتی‌ژن‌های پروتئینی *هلیکوباکتر پیلوری* و پروتئین توبولین انسان باشد. نتیجه آن همانا اختلال در سیستم تناسلی است و نهایتاً موجب نازایی می‌گردد (۹،۶،۵).

مطالعه دیگری در مرکز تحقیقات درمانی ناباروری (IVF) یزد صورت پذیرفت میزان آنتی‌بادی IgG ضد *هلیکوباکتر پیلوری* در زنان نابارور انجام شد. نتایج نشان داد که وجود آنتی‌بادی مزبور در زنان نازا بیشتر از زنان سالم است. این مقدار در زنانی که به‌علت فاکتور لوله‌ای (Tubal Factor) و فاکتور تخمدان (Ovarian Factor) نازا بودند به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است(۴).

در مطالعه حاضر سعی شد علاوه بر تعیین ارتباط حضور آنتی بادی ضد *هلیکوباکتر پیلوری* در زنان نازا وجود ژن‌های *هلیکوباکتر پیلوری* در واژن توسط تست PCR بررسی شود. تا در صورت وجود این باکتری در واژن اثبات ارتباط آن با نازایی ممکن گردد.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه توصیفی- مقطعی به صورت مورد- شاهدی انجام گرفت. با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و توان آزمون ۸۰٪ برای رسیدن به اختلاف معنی‌دار حداقل ۲۲٪ (با توجه به مطالعات مشابه قبلی) در تیتر آنتی بادی مثبت در گروه مورد نسبت به گروه شاهد، به تعداد ۱۱۵ نفر در گروه مورد و ۱۱۵ نفر در گروه شاهد نیاز داشتیم. در این مطالعه ۱۱۹ نفر مورد (نابارور) و۱۳۱ نفر شاهد (بارور) وارد مطالعه شدند.

معیارهای ورود در گروه شاهد (زنان بارور) داشتن حداقل یک فرزند و گروه مورد (زنان نابارور) تشخیص پزشک زنان مبنی بر نازایی آنان بود. به این ترتیب، گروه مورد شامل زنانی بود که به تشخیص پزشک متخصص زنان، نازایی آنها تائید شد و جهت درمان (IVF) به مرکز ناباروری وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد مراجعه کردند. گروه شاهد شامل زنانی بود که حداقل یک باروری را تجربه کرده بودند.

از هر یک از افراد جامعه مورد مطالعه ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون جمع‌آوری شد و سدم آن جدا گردید. قبل از فریز مقداری از آن جهت آزمایش ELISA جدا شد. (کیت Captia H. pylori IgG ELISA از شرکت Biotech به شماره کاتالوگ ۲۳۴۶۴۰۰)

همزمان جهت انجام آزمایش PCR از هر دو گروه مورد و شاهد یک نمونه توسط سوآب از اندوسرویکس برداشت شد. نمونه پس از انتقال به محیط ترانسپورت در ۲۰- درجه نگهداری شد. جهت انجام تست PCR از کیت ویژه *هلیکوباکتر پیلوری* شرکت پویا زیست تک استفاده شد. پرایمر مورد استفاده که ژن Cag A را تکثیر می‌نمود از شرکت درخواست وتهیه شد.

….5- CAC CAA CGC CTC CAA GAG TCC TGA -3

…. 5- TGT TGC CGT TTG GTC TCC AAT TTT -3

ابتدا ۱ میکرولیتر از مخلوط پرایمرها و ۵-۱۰ میکرولیتر از DNA از قبل استخراج شده را به یکی از لوله‌های PCR Premix اضافه گردید. سپس حجم محلول اضافه شده به هر لوله را با آب مقطر به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. به ازاء هر ۳ نمونه یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی منظور گردید و با ۵ میکرو لیتر روغن پوشانده شد.

میکروتیوپ‌ها در ترموسایکلر قرار داده شد و درجه آنها به‌قرار ذیل تنظیم شد:

1st Denaturation با ۱۸۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد با یک چرخه،Denaturation ۳۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد با ۴۰ چرخه، Annealing به‌مدت ۳۵ ثانیه با ۴۰ چرخه و بالاخره Final extension با دمای ۷۰ درجه به‌مدت ۱۸۰ ثانیه در یک چرخه انجام شد. در پایان محصولات بدست آمده در ژل آگاروز ۱٪ قرار داده شد و با باند bp ۲۹۴ در برابر DNA Ladder نتایج ثبت گردید.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: پس از جمع آوری اطلاعات و کد گذاری، آنها را وارد رایانه نمودیم. با استفاده از نرم افزار SPSS 15 ، آزمون آماری مجذور کای برای مقایسه داده‌های کیفی در دو گروه و آزمون T-test برای مقایسه داده‌های کمی استفاده گردید.

یافته‌ها:

جمع افراد مورد آزمایش برای تشخیص آنتی بادی ضد *هلیکوباکتر پیلوری* از سرم و آزمایش سوآب از واژن آنها توسط فناوری PCR (شکل۱) ۲۵۰ نفر بود. از این تعداد ۱۳۱ (۵۲/۴٪) نفر بارور (شاهد) و ۱۱۹(۴۷/۶٪) نفر نابارور(مورد) بودند.

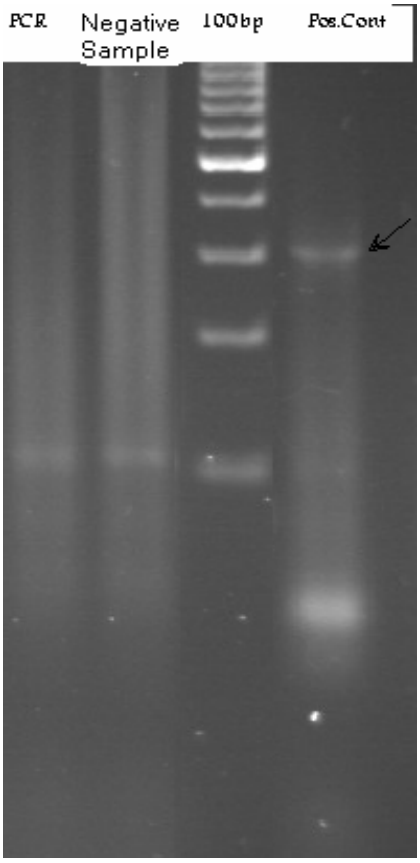
از هیچ نمونه‌ای DNA *هلیکوباکتر پیلوری* ایزوله نشد.

دربین افراد بارور ۸۰ نفر (۶۱/۱٪) دارای تیتر آنتی بادی مثبت و ۵۱ نفر (۳۸/۹٪) دارای تیتر منفی بودند. در صورتیکه ۷۸ (۶۵/۵۴٪) از افراد نابارور دارای تیتر مثبت و ۴۱ نفر (۳۴/۵٪) تیتر منفی داشتند. همانطور که جدول ۱ نمایش می‌دهد تفاوت با P=0.463 معنی‌دار نبوده است.

جدول ۲ توزیع فراوانی آنتی‌بادی *هلیکوباکتر پیلوری* به تفکیک گروه‌های سنی را نشان می‌دهد. البته، تفاوت معنی‌دار نبود (P=0.9).

بیشترین تیتر آنتی‌بادی در گروه‌های سنی زنان بارور هم در گروه سنی ۳۹-۳۰ مشاهده شد.

جدول ۳ توزیع فراوانی آنتی‌بادی *هلیکوباکتر پیلوری* به تفکیک علت نازایی را نشان می‌دهد. به‌نظر می‌رسد که تیتر آنتی بادی مثبت در بیماران با فاکتور PCO بیشتر است.



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR

جدول ۱: توزیع فراوانی آنتی بادی *هلیکو باکتر پیلوری* در زنان بارور و نابارور

گروه / نتیجه تست	بارور		نابارور	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مثبت	۸۰	۶۱/۱	۷۸	۶۵/۵
منفی	۵۱	۳۸/۹	۴۱	۳۴/۵
کل	۱۳۱	۱۰۰	۱۱۹	۱۰۰

جدول ۲: توزیع فراوانی تیتر مثبت آنتی بادی(IgG) *هلیکو باکتر پیلوری* به تفکیک گروه‌های سنی

گروه / گروه سنی	بارور		نابارور	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۲۰ >	۸ N=13	۶۱/۵	۲ N=2	۱۰۰
۲۰-۲۹	۳۹ N=60	۶۵	۳۴ N=60	۵۶/۷
۳۰-۳۹	۳۰ N=44	۶۸/۲	۴۲ N=66	۶۳/۶
۴۰ >	۱ N=2	۵۰	۲ N=3	۶۶/۷
نتیجه آزمون	P=0.575		P=0.93	

جدول ۳: توزیع فراوانی تیتر مثبت آنتی‌بادی *هلیکوباکتر پیلوری* به تفکیک علت نازایی

علت نازایی	Tubal Factor (۳۷)	Ovarian Factor (۳)	Poly Cystic Factor (۳۷)	Unknown (۴۲)
تعداد	۱۸	۳	۲۶	۲۱
درصد	۵۲/۵	۱۰۰	۷۰/۲	۵۰

بحث:

اخیرا گزارشات معدودی ارتباط عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با مشکل نازایی در هر دو جنس مرد و زن را بیان نموده‌اند(۴،۵و۷).

در بررسی حاضر از جمع ۲۵۰ زن ۱۵۸نفر (۶۳/۲٪) دارای تیتر مثبت آنتی بودند که خود نمایانگر میزان شیوع عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در بین زنان می‌باشد. در یک بررسی که در مرکز IVF با ۱۸۰ نفر زن انجام پذیرفت. میزان شیوع *هلیکوباکترپیلوری* که توسط آزمایش الیزا قرار گرفت ۶۵٪ بوده است(۴). یک سنجش عمومی توسط تردست و همکاران (۱۰) در بین مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه مرکزی یزد انجام پذیرفت. نتایج آن نشان داد که شیوع عفونت *هلیکوباکترپیلوری* ۵۹/۸٪ است که با نتایج حاصل از این بررسی و مطالعه قبلی همخوانی ندارد. نتایج حاصله از بررسی‌های انجام شده در بسیاری از شهرهای ایران نشان می‌دهد که میزان درصد تیتر آنتی‌بادی مثبت شبیه به یکدیگر بوده (۸ و۱۱). اما در مقایسه با کشورهای صنعتی بسیار بالاتر است. زیرادر مطالعه سرواپیدمیولوژی وسیعی که در آمریکا انجام پذیرفته درصد آلودگی به *هلیکوباکترپیلوری* را ۱۷/۳ ٪ گزارش نموده‌اند(۱۲).

در بررسی حاضر میزان تیتر آنتی بادی مثبت در زنان نابارور ۶۵/۵٪ و در گروه شاهد(بارور) ۶۱/۱٪ بوده است (P=0.463). در مطالعه مشابهی که توسط خلیلی و همکاران (۴) انجام پذیرفته میزان شیوع باکتری در زنان نابارور ۶۶/۷٪ و در گروه شاهد ۶۳/۳٪ گزارش شده است. هر چند ارتباط معنی دار نبوده اما درصد شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* در زنان نازا بیشتر بوده است. بنابراین هر دو مطالعه سرواپیدمیولوژی که در مرکز IVF یزد انجام پذیرفته شبیه به یکدیگر می‌باشد. اما، در مقایسه با نتایج Figura و همکاران (۵) مغایرت دارد. زیرا در بررسی ایشان نشان داده شد که ۴۹/۱ ٪ افراد نازا در مقابل ۳۳/۳٪ از افراد شاهد دارای تیتر آنتی بادی مثبت بر ضد *هلیکوباکتر پیلوری* بودند که این تفاوت معنی دار بوده است. هرچند کارشناس آمار تعداد نمونه را تائید نموده اما علت مغایرت با نتایج حاصله در یزد را با جبران در تعداد نمونه‌ها می‌توان توجیه نمود. زیرا Figura و همکاران (۵) از ۱۶۷ مورد و ۸۳۷ شاهد استفاده نموده‌اند که جمع آوری و انجام این تعداد نمونه در مرکز IVF یزد غیر ممکن می‌باشد.

بسیاری معتقدند که به‌دلیل وجه تشابه بین واژن و معده گونه فوق قادر به کلنیزه شدن در واژن نیز می‌باشد(۸-۶). اما این سئوال مطرح است که انتقال چگونه صورت می‌پزیرد؟ در یک مطالعه که توسط Guy D Eslik و همکاران (۶) صورت پذیرفت نشان داده شد که باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* از راه‌های مختلفی از جمله دهانی- تناسلی ممکن است به شریک جنسی منتقل شود. محققین فوق فرضیه خود را با ردیابی هلیکوباکتر از واژن زنان مورد مطالعه توسط انجام آزمایش PCR ثابت نمودند، که گونه موجود در واژن از دهان فرد به شریک جنسی وی منتقل شده است.

با توجه به تحقیقات گذشته، در بررسی حاضر سعی شد تا با الگوبرداری از پرایمر ویژه که توسط Kerr و همکاران(۱۳) طراحی شده بود نمونه سوآب از واژن تهیه و مورد آزمایش PCR قرار گیرد. کلیه نمونه‌های مورد آزمایش قرار گرفت اما از هیچ نمونه DNA هلیکوباکتر ایزوله نشد. نتیجه حاصل شده از این بررسی با مطالعه دیگران (۶ ،۱۲) مغایرت دارد. زیرا بسیاری از مطالعات لانه گزینی *هلیکوباکتر پیلوری* را در واژن زنان به اثبات رسانده‌اند. دلیل توجیح‌کننده را شاید بتوان در روابط غیر متداول جنسی در غرب یا ضعف روش Single PCR دانست.

همانطور که نتایج نشان می‌دهند گروه نازا بر اساس علت نازایی به ۴ دسته تقسیم شدند. میزان شیوع آنتی بادی در زنان با عامل PCO بیشتر مشاهده شد. هرچند تفاوت معنی‌دار نبود اما شاید عامل PCO به‌دلیل نامعلومی در گسترش عفونت هلیکوباکتر دخیل باشد. البته این موضوع به بررسی با تعداد نمونه بیشتر نیاز دارد ، تا حقیقت آن مسلم گردد.

نتیجه‌گیری:

از هیچ نمونه‌ای DNA *هلیکوباکتر پیلوری* جدا نشد. نیتر آنتی بادی در دو گروه شاهد و مورد تفاوت معنی دار ندارد. این تیتر در گروه بارور و در گروه سنی دهه ۳۰ قابل توجه است. به‌نظر می‌رسد که عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با نازایی ارتباط ندارد. اما، متاسفانه شیوع عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در سطح استان در بین زنان با توجه به مطالعات انجام شده بالا اشد. لذا، مسئولین امر باید تدابیری اتخاذ تا این معضل به حد مناسب خود باز گردد.

شواهد و قرائن نشان می‌دهد که *هلیکوباکتر پیلوری* در بزاق و همچنین در خون انسان یافت می شود. بنابراین، احتمال انتقال آن به واژن مسلم شده است. از آنجا که معدودی از محققین آن را عامل غیر مستقیم در ایجاد نازایی زنان معرفی کرده‌اند، لازم است بررسی حاضر ادامه یابد. در این صورت به‌جای Single PCR بهتر است از Nested PCR استفاده تا حضور یا عدم حضور DNA *هلیکوباکتر پیلوری* مشخص گردد.

تقدیر و تشکر:

از کلیه همکاران در مرکز IVF یزد به‌ویژه جناب آقای دکتر عبدلی مدیر مرکز و همچنین آقای حسین فضلی و خانم قیصری سپاسگزاری می‌شود.

فهرست مراجع:

1.Khalili MB , Sharifi- Yazdi MK. The effect of Bacterial infection on the quality of Human's spermatozoa. *Iranian J Public Health*. 2001; **30:** 119-122.

2.Toth A, Lesser ML. Asymptomatic bacterio-spermia in fertile and infertile men. *Fertile Strile* 1981; **36**:68- 910.

3. Khalili MA, Pourshafie MR, Saifi M , Khalili MB. Bacterial infection of the reproductive tract of infertile men in Iran. *Mid East Fertile Soc J*. 2000; **5**(2): 126-131.

۴ . خلیلی م ، شریفی یزدی م و ساده م. ارتباط عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با نازایی در زنان مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری یزد. *مجله دانشکده پزشکی تهران*. ۱۳۸۶،دوره ۶۵ ، شماره ۳، صص ۷۲تا ۷۴ .

5.Figura N. piombori P et al. H. pylori infection and infertility. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002; **14**(8): 663-9.

6.Guy DE Eslick. H. pylori infection transmitted sexually via oral genital contact; a hypothetical model. *Sex Transm Infect*. 2000. **76**: 489-492.

7.Singh V, Trikha B, Vaiphel K, Nain CK, Thennarsu K, Singh K. *H. pylori*: evidence for spouse- to – spouse transmission. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999; **14**: 519-22.

8.Ferguson DA, Li C, Patel NR. Isolation of *H. pylori* from saliva. *J Clin Microbiol*. 1993;**31**: 2802-4.

9.Figura N. piombori P, Gambera L, Renieri T, Ponzetto A,Giannace R *et al*. Presence of anti-*H. pylori* antibody in follicular liquid, sperm and vaginal mucus sample of infected patients with fertility disorders. European Helicobacter study group. strasbourg 2001;pp 9-12.

10.Chaudhury A, Rajasekhar D, Latheef SA, Subramanym G. Seroprevalence of Ig G to C. pneumonia and *H. pylori* among coronary heart disease patients and normal individuals in south Indian Population. *Indian J Pathol Microbiol*. 2004; **47**(3): 443-4.

۱۱. خلیلی م. میکروبیولوژی کلینیکی. چاپ اول، انتشارات سبحان، ۱۳۸۴ ، صص ۸۶ تا ۱۱۵.

12.Guillermo I. Perez-Perez, Steven S. Witkin, Michael D. Decker and Martin J. Blaser. Seroprevalence of *Helicobacter Pylori* infection in couples. *J Clin Microbiol*, 1991; **29**(3):642-644.

13. Kerr JR. AL-Khattaf A, Barson AJ, Burnie PJ. An association between sudden infant death syndrome and *H. pylori* infection. *Arch Dis child*. 2000; **83**: 429-434.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۲۶- ۲۱

بررسی مقاومت چند دارویی در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جداشده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان در سال۱۳۸۷

احمد قاسمی[۱]، رضوان منیری[۱*]، سید غلامعباس موسوی[۲]

۱) گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
۲) گروه آمار،دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
نویسنده رابط: رضوان منیری ، گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
تلفن: ۰۳۶۱-۵۵۵۰۰۲۱ moniri@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۶/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله :۸۸/۱۲/۵

چکیده:

زمینه و اهداف: در طی دهه اخیر ، انتروکوکوس مهم‌ترین پاتوژن بیمارستانی بوده ، و دومین عامل عفونت‌های ادراری می‌باشد. این افزایش شیوع همراه با وقوع سویه‌های مقاوم به چند دارو بوده است. هدف از این مطالعه تعیین مقاومت چند دارویی در *انتروکوکوس فکالیس* جداشده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان **بود.**

روش بررسی: این مطالعه به صورت توصیفی بر روی ۱۰۶ سویه‌ی *انتروکوکوس فکالیس* از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های کاشان در سال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت. تست حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن (محصول شرکت بکتون دیکینسون) و طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and laboratory standards institute) انجام شد. حداقل غلظت مهاری به ونکومایسین با روش E test (AB Biodisk, Solna) تعیین گردید.

یافته‌ها: مقاومت *انتروکوکوس فکالیس* به اریترومایسین در۵۶ سویه (۵۲/۸٪)، سیپروفلوکساسین ۴۳ سویه(۴۰/۶٪)، جنتامایسین۴۱ سویه(۳۸/۷ ٪)، لوفلوکساسین۳۶ سویه(۳۴ ٪)، پنی سیلین۳۱ سویه(۲۹/۲٪) ، نیتروفورانتوئین۲۰ سویه(۱۸/۸٪)، آمپی سیلین۱۲ سویه(۱۱/۳ ٪) ، ایمی پنم۱۱ سویه(۱۰/۴ ٪) و به ونکومایسین در ۶ سویه(۴/۷ ٪)مشاهده گردید. همه‌ی سویه‌ها به لاینزولید حساس بودند. فنوتیپ مقاوم به چند دارو (مقاومت به سه یا بیش از سه کلاس آنتی بیوتیکی) در۴۰ سویه(۳۷/۷ درصد) مشاهده شد.

نتیجه گیری : ظهور مقاومت به چند آنتی بیوتیک و میزان مقاومت بالا به ونکومایسین در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* شایان توجه است. زیرا انتخاب درمان مناسب جهت عفونت‌های ایجاد شده توسط انتروکوک کاهش می‌یابد.

کلید واژه ها: *انتروکوکوس فکالیس*، انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین، مقاومت به چند دارو

مقدمه:

انتروکوکوس به عنوان عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های اکتسابی از جامعه مطرح می‌باشد (۶-۱) . درمان انتخابی برای عفونت‌هایی نظیر باکتریمی و اندوکاردیت ناشی از انتروکوک ، ترکیبی از پنی سیلین یا یک گلیکوپپتید به همراه آمینوگلیکوزیدها می‌باشد(۷و۸). کارآیی چنین ترکیب دارویی با ظهور سویه‌های مقاوم به چند آنتی بیوتیک ، شامل مقاومت بالا به آمینوگلیکوزیدها ، مقاومت به پنی سیلین یا گلیکوپپتیدها مختل می‌گردد(۹). انتروکوکوس‌های مقاوم به چند دارو (MDR) که حساسیت خود را نسبت به ونکومایسین از دست داده از اروپا (۱۰) و امریکا (۱۱) گزارش شده است. وجود مقاومت ذاتی این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج و توانایی کسب مقاومت نسبت به تمامی آنتی بیوتیک‌ها یکی از دلایل بقای این ارگانیسم در محیط بیمارستان است. مقاومت دارویی، کلونیزه شدن باکتری را در دستگاه گوارش تسهیل می‌نماید. انتروکوکوس‌ها مسئول ۱۰ ٪ عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. عفونت‌های انتروکوکی به‌ویژه دربیماران دارای کاتتر درون عروقی و ادراری و بیمارانی که به مدت طولانی دربیمارستان بستری می‌باشند و یا آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف را دریافت کرده‌اند، شایع است. با توجه به عدم دسترسی به اطلاعات دقیق در منطقه و به منظور تعیین شیوع انتروکوکوس‌های مقاوم و تعیین مقاومت چند دارویی این مطالعه در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان درسال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه توصیفی بر روی سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* (*Enterococcus faecalis*) جمع آوری شده از نمونه‌های ادرار، کشت خون، لوله تراشه، زخم و مایع پلور بیماران بستری در بیمارستان‌های شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان درسال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت. کلیه‌ی نمونه‌ها در محیط انتقالی تریپتوکیس سوی براث (TSB) به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی کاشان منتقل شدند. سپس درمحیط آگار خون دار کشت داده شد و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت۲۴ ساعت انکوبه شدند. باکتری‌های رشد یافته با رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند. کوکوس‌های گرم مثبت کاتالاز منفی با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر تست هیدرولیز ال- پیرولیدونیل- بتا- نفتیل آمید (PYR)، رشد درمحیط تریپتوکیس سوی براث (TSB) حاوی ۶/۵ ٪ نمک، تست تحمل تلوریت ۰/۰۴ درصد و هیدرولیز بایل اسکولین تعیین هویت گردیدند . در مجموع ۱۰۶ سویه‌ی *E.faecalis* شناسایی شد. با استفاده از دیسک‌های ونکومایسین(30µg) ، پنی‌سیلین (10unit)،آمپی‌سیلین (10µg)، پیروفلوکساسین (5µg)، لووفلوکساسین (5µg)،اریترومایسین (15µg)، جنتامایسین (10µg)، ایمیپنم (10µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، نیتروفورانتوئین (50µg) و لاین زولید (30µg)تهیه شده از شرکت بکتون دیکینسون با روش دیسک دیفیوژن و طبق دستورالعمل CLSI فنوتیپ مقاومت تعیین گردید(۱۲). کدورت ۰/۵ مک فارلند برای تلقیح به محیط مولر هینتون استفاده شد. مقاومت به ونکومایسین با روش E-test تهیه شده از شرکت AB Biodisk, Solna کشور سوئد تعیین گردید. ظروف پتری بعداز ۲۴ ساعت نگهداری در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. بر اساس دستورالعمل CLSI حداقل غلظت مهاری بیشتر از ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر مقاوم ، حداقل غلظت مهاری۱۲-۶ میکروگرم در میلی لیتر حدواسط و حداقل غلظت مهاری کمتراز ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر حساس تفسیر گردید. سویه *E.faecalis* ATCC 29212 به عنوان کنترل طبق توصیه CLSI به منظور استاندارد سازی تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام و تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آماری مجذور کای و آزمون دقیق فیشر صورت گرفت. میزان قابل اهمیت استاندارد $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

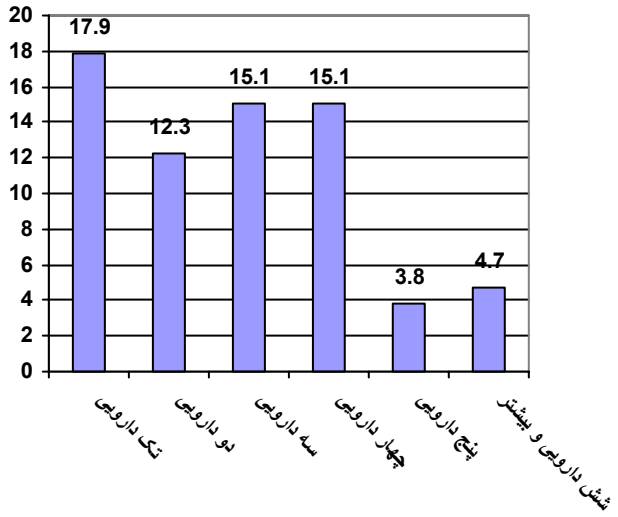
یافته‌ها:

از۱۰۶ سویه‌ی *انتروکوکوس فکالیس* ۵۴ سویه (۵۰/۹٪) از مردان و ۵۲ سویه (۴۹/۱ ٪) از زنان جدا شده بود. میانگین سنی بیماران۲۷ ±۳۷/۴ و از حداقل ۱ ماه تا حداکثر ۹۱ سال متغیر بود. میانگین روزهای بستری در بیمارستان از۴/۶± ۳/۷ واز حداقل ۱ تا ۲۴ روز متغیر بود. ۱۸ نفر (۱۷ ٪) دارای بیماری زمینه‌ای بودند. ۱۹ نفر از بیماران (۱۷/۹ ٪) آنتی بیوتیک مصرف نموده بودند. از ۱۰۶ سویه انتروکوک فکالیس، ۹۲ سویه (۸۶/۹ ٪) از ادرار، ۶ سویه (۵/۶ ٪) از کشت خون، ۴ سویه از زخم (۳/۸ ٪)، ۳ سویه (۲/۸ ٪) ازلوله تراشه، ۱ سویه (۰/۹ ٪) از مایع پلور جدا شده بود. ۴۵ سویه (۴۲/۵ ٪) از بخش اورژانس، ۱۵ سویه (۱۴/۲٪) از بخش اطفال، ۱۳ سویه (۱۲/۳ ٪)

از بخش عفونی، ۱۱ سویه (۱۰/۴ ٪) از بخش جراحی، ۹ سویه (۸/۴ ٪) از CCU، ۷ سویه (۶/۶ ٪) از بخش نوزادان و ۶ سویه (۵/۷ ٪) ازبخش داخلی جدا شده بود. میانگین حداقل غلظت مهاری به ونکومایسین به روش E test ۱/۱ ± ۲/۱۲ و از حداقل صفر تا حداکثر ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر، میانه و نمای آن ۲ بود. الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. نمودار ۱ درصد فراوانی مقاومت چند دارویی را به تفکیک کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی نشان می‌دهد. بین جنس، سن، بیماری زمینه‌ای ، بستری شدن بیش از یک هفته در بیمارستان و بروز مقاومت چند دارویی ارتباط معنی‌دار مشاهده نشد. مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک با مقاومت چند دارویی ارتباط معنی‌دار نشان داد ($P < 0/045$)(جدول ۲).

جدول ۱: توزیع فراوانی درصد حساسیت و مقاومت سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به تفکیک نوع آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک	مقاوم	حدواسط	حساس
اریترومایسین	۵۲/۸	۱۷/۹	۲۹/۳
سیپروفلوکساسین	۴۰/۶	۱۸/۸	۴۰/۶
لوفلوکساسین	۳۴	۲/۸	۶۳/۲
جنتامایسین	۳۸/۷	۷/۵	۵۳/۸
پنی سیلین	۲۹/۲	۰	۷۰/۸
آمپی سیلین	۱۱/۳	۰	۸۸/۷
نیتروفورانتوئین	۱۸/۸	۳/۸	۷۷/۴
ایمی پنم	۱۰/۴	۰/۹	۸۸/۷
ونکومایسین	۴/۷	۵/۷	۸۹/۶
لاین زولید	۰	۲/۸	۹۷/۲



نمودار ۱ : درصد فراوانی مقاومت چند دارویی به تفکیک کلاس‌های آنتی بیوتیکی

جدول ۲: توزیع فراوانی مقاومت چند دارویی سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به تفکیک متغیرهای مورد بررسی

خصوصیات بیماران	MDR		P value
	دارد تعداد (درصد)	ندارد تعداد (درصد)	
جنس			۰/۵۱
مرد	۲۲ (۴۰/۷)	۳۲ (۵۹/۳)	
زن	۱۸ (۳۴/۶)	۳۴ (۶۵/۴)	
سن			۰/۲
کمتر از ۴۰ سال	۲۲ (۴۴)	۲۸ (۵۶)	
مساوی یا بیش از ۴۰	۱۸ (۳۲/۱)	۳۸ (۶۷/۹)	
بیماری زمینه ای			۰/۵۱
دارد	۸ (۴۴/۵)	۱۰ (۵۵/۵)	
ندارد	۳۲ (۳۶/۴)	۵۶ (۶۳/۶)	
مصرف قبلی آنتی بیوتیک			۰/۰۴۵
دارد	۱۱ (۵۷/۹)	۸ (۴۲/۱)	
ندارد	۲۹ (۳۳/۳)	۵۸ (۶۶/۷)	
مدت زمان بستری در بیمارستان			۰/۱۹
کمتر از یک هفته	۲۷ (۳۴/۲)	۵۲ (۶۵/۸)	
مساوی یا بیش از یک هفته	۱۳ (۴۸/۱)	۱۴ (۵۱/۹)	
استفاده از کاتتر ادراری			۰/ ۲۴
دارد	۵ (۵۵/۵)	۴ (۴۴/۵)	
ندارد	۳۵ (۳۶)	۶۲ (۶۴)	

بحث:

یافته‌های این مطالعه نشان داد که بیشترین مقاومت سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به اریترومایسین ، سیپروفلوکساسین ، جنتامایسین ، لوفلوکساسین ، پنی‌سیلین ، نیتروفورانتوئین، آمپی‌سیلین، ایمی‌پنم، و ونکومایسین است. همه‌ی سویه‌ها به لاین‌زولید حساس هستند. ۳۷/۷ درصد از سویه به سه و یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم هستند که MDR محسوب می‌شوند. مقاومت چند دارویی فقط با متغیر مصرف قبلی آنتی بیوتیک ارتباط معنی‌دار نشان داد.

در مطالعه ما مقاومت به ونکومایسین ۴/۷ درصد بود که کمتر از مطالعه اشراقی و همکاران در تهران (۱۳) و بیشتر از مطالعه رمضانی و فیض آبادی و همکاران بوده است. (۱۵،۱۴). سیفی و همکاران نشان دادند که از ۶۳۸ سویه‌ی انتروکوکوس ۲۹ درصد از سویه‌های *E. faecalis* و ۷۲ درصد از سویه‌های *E. faecium* جدا شده از عفونت‌های ادراری در ایران مقاوم به چند دارو بودند(۱۶). مطالعه Zhanel و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۶-۲۰۰۵ در کانادا نشان داد که انتروکوکوس‌های مقاوم به ونکومایسین ۶/۷ درصد سویه‌های انتروکوکی (۱۱/۲۵۵) را تشکیل داده و ۸۸/۲ درصد سویه‌های VRE دارای ژنوتیپ vanA بودند(۱۷). Kuzucu و همکاران در ترکیه نشان دادند که از ۹۰ سویه انتروکوکوس ۴۱ درصد مقاومت بالا به جنتامایسن ، ۴۰ درصد مقاومت بالا به استرپتومایسین و ۵۵/۶

درصد به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند. هیچ گونه مقاومت به ونکومایسین با روش دیسک دیفیوژن مشاهده نگردید(۱۸). Yeh و همکاران نشان دادند که از ۴۵۳۸ بیمار ارجاع شده به ICU ، در روز پذیرش VRE را از ۸ درصد بیماران جدا نموده‌اند. ۱۰ درصد از بیمارانی که در روز پذیرش از نظر VRE منفی بودند در روزهای بعدی بستری در ICU، مثبت شدند (۱۹).

Loza و همکاران در اسپانیا نشان دادند که ۱۰۰ درصد سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به لاین زولید، ونکومایسین و آمپی‌سیلین حساس بودند و حساسیت به لوفلوکساسین در ۶۹ درصد سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* مشاهده شد(۲۰). در مطالعه ما سویه‌های انتروکوکوس همگی به لاین زولید حساس بودند که با مطالعه Loza و همکاران در اسپانیا مشابهت دارد(۲۰). ایمانی و همکاران در تهران نشان دادند که شیوع سویه انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین در بیمارستان‌های تهران ۱۲ درصد بوده است. این مقاومت در *انتروکوکوس فکالیس* ۶ درصد و در *انتروکوکوس فسیوم* ۲۲ درصد بوده است(۲۱). در مطالعه ما ۳۷/۷ درصد ازسویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به سه و یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی، مقاوم بوده و MDR محسوب شدند. سیفی و همکاران نشان دادند که ۲۹ درصد از سویه‌های *E. faecalis* از ۹ مرکز پزشکی در تهران مقاوم به چند دارو بودند (۱۶). میزان MDR در مطالعه ما بالاتر است و زنگ خطر مهمی در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از انتروکوکوس در بیمارستان ما می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

میزان مقاومت به ونکومایسین اهمیت توجه به شیوع VRE را در بیمارستان‌های کاشان جلب می‌نماید. از آن جایی که ۳۷/۷ درصد از ایزوله‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های بالینی مقاوم به چند دارو هستند اهمیت شناسایی سویه‌های مقاوم به چند دارو مشخص می‌گردد. VRE عامل مهم اپیدمی عفونت‌های بیمارستانی است و می‌تواند باعث افزایش ابتلا، مرگ و میر و هزینه‌ها گردد. بنابراین استفاده از روش‌هایی که قادر به شناسایی سویه‌های مقاوم و تشخیص گسترده آن‌ها باشند در طراحی راهکارهای پیشگیری کننده و کنترل انتشار سویه‌های مقاوم مهم می‌باشند.

فهرست مراجع:

1. Vandamme P, Vercauteren E, Lammens C, Pensart N, Ieven M, Pot B, *et al*. Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium. *J Clin Microbiol*. 1996 Oct;**34**(10):2572-6.
2. Silverman J, Thal LA, Perri MB, Bostic G, Zervos MJ. Epidemiologic evaluation of antimicrobial resistance in community-acquired enterococci. *J Clin Microbiol*. 1998 Mar;**36**(3):830-2.
3. van Den Braak N, van Belkum A, Kreft D, te Witt R, Verbrugh HA, Endtz HP. The prevalence and clonal expansion of high-level gentamicin-resistant enterococci isolated from blood cultures in a Dutch university hospital. *J Antimicrob Chemother*. 1999 Dec;**44** (6):795-8.
4. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Jacob LE, Mohanakrishnan S. Characterization of high-level aminoglycoside-resistant enterococci in Kuwait hospitals. *Microb Drug Resist*. 2004 Summer; **10**(2):139-45.
5. Fridkin SK, Lawton R, Edwards JR, Tenover FC, McGowan JE Jr, Gaynes RP. Monitoring antimicrobial use and resistance: comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis*. 2002 Jul; **8**(7):702-7.
6. Goossens H, Jabes D, Rossi R, Lammens C, Privitera G, Courvalin P. European survey of vancomycin-resistant enterococci in at-risk hospital wards and in vitro susceptibility testing of ramoplanin against these isolates. *J Antimicrob Chemother* 2003; **51** Suppl 3:iii5-12.
7. Landman D, Quale JM. Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options. *J Antimicrob Chemother* 1997; **40**: 161–70.
8. Graham JC, Gould FK. Role of aminoglycosides in the treatment of bacterial endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**: 437–44

9. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; **31**: 586–99.
10. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319:157-61.
11. Sahm DF, Kissinger J, Gilmore MS, Murray PR, Mulder R, Solliday J, *et al*. In vitro susceptibility studies of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*1989; 33: 1588-91.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 4_{th} ed. Approved standards. NCCLS document M7-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1990.
۱۳. اشراقی س، طالبی م، پور شفیع م و سالاری م.فراوانی و خصوصیات مولکولی کوکوس‌های گرم مثبت هوازی مقاوم به ونکومایسین جدا شده از نمونه‌های بالینی در شهر تهران. *مجله میکروب شناسی پزشکی ایران*، پاییز ۱۳۸۶، سال ۱، شماره ۳ صص، ۹ تا۱۵.
۱۴. رمضانی آ، محرز م ، اسدی س ، نازگوئی ف ، اسلامی ف. بررسی وضعیت عفونت بیمارستانی ناشی از انتروکوک در بعضی بیمارستان‌های تهران، *مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران*، ۱۳۸۱؛ دوره ۷، شماره ۱۹ صص ۱۱ تا ۱۵.
15. Feizabadi MM, Asadi S, Aliahmadi A, Parvin M, Parastan R, Shayegh M, Etemadi G. Drug resistant patterns of enterococci recovered from patients in Tehran during 2000-2003. *Int J Antimicrob Agents*. 2004; **24**(5):521-2.
16. Saifi M, Pourshafie MR, Eshraghian MR, Soltan Dallal MM. Anti-microbial resistance of enterococci isolated from urinary tract infections in iran. *Iran Biomed J*. 2008; **12**(3):185-90.
17. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Tailor F, *etal* . Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA), Hoban DJ Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; **52**(4):1430-7.
18. Kuzucu C, Cizmeci Z, Durmaz R, Durmaz B, Ozerol IH The prevalence of fecal colonization of enterococci, the resistance of the isolates to ampicillin, vancomycin, and high-level aminoglycosides, and the clonal relationship among isolates. *Microb Drug Resist*. 2005; **11**(2):159-64.
19. Yeh KM, Siu LK, Chang JC, Chang FY. Vancomycin-resistant enterococcus (VRE) carriage and infection in intensive care units. *Microb Drug Resist*. 2004; **10**(2):177-83.
20. Loza E, Morosini MI, Pascual A, Tubau F, Alcalá J, Liñares J, *etal*. SENTRY Surveillance Program, Spain (2002-2006). SENTRY Surveillance Program, Spain (2002-2006). Comparative in vitro activity of daptomycin against gram-positive microorganisms: SENTRY surveillance program, Spain (2002-2006) *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; **26**(8):489-94.
21. Emaneini M, Aligholi M, Aminshahi M. Characterization of glycopeptides, aminoglycosides and macrolide resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from hospitals in Tehran. *Pol J Microbiol*. 2008; **57**(2):173-8.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات۳۳- ۲۷

ارزیابی آزمایشگاهی تاثیرات مهاری مونولورین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت گاو

حسین تاجیک [۱*]، سید مهدی رضوی روحانی[۱] ، فرنود شکوهی ثابت جلالی[۲]، آرزو بیانی[۳]

۱) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه ارومیه
۲) گروه علوم بالینی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه ارومیه
۳) دامپزشک

نویسنده رابط : حسین تاجیک. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۱۷۷-۵۷۱۵۵
تلفن : ۰۴۴۱-۲۷۷۰۵۰۸ tajik_h@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۹/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۲/۱۵

چکیده:

زمینه و اهداف: مونولورین یکی از معروف‌ترین گلیسرول مونواسترهای اسید لوریک است که بر روی طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها تاثیرات قابل ملاحظه مهاری دارد. جهت تقویت و گسترش اثرات مهاری آن از مواد شلاته کننده نظیر EDTA و مواد اسید کننده استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه ارزیابی خاصیت مهاری مونولورین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و اثرات کاهش دهندگی مواد آلی موجود در گوشت بر خواص ضدباکتریایی آن بود.

روش بررسی: حداقل غلظت مهاری مونولورین به تنهایی و همراه با EDTA و اسید لاکتیک بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط نورینت براث بررسی گردید. در مرحله بعد خواص ضد میکروبی مونولورین به تنهایی و همراه با اسید لاکتیک در گوشت استریل و همچنین خواص ضد میکروبی آن همراه با EDTA در گوشت غیر استریل ارزیابی شد. یافته های بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرف (ANOVA) ارزیابی شدند.

یافته ها: یافته ها نشان داد حداقل غلظت کننده مونولورین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر بوده است. این میزان در اثر EDTA و اسید لاکتیک به‌طور معنی‌دار و به ترتیب به ۱۶ و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش یافته است ($p<0.05$). یافته‌های حاصل از شمارش میکروبی در نمونه‌های گوشت استریل و غیر استریل موید تاثیر معنی‌دار افزودن EDTA و اسید لاکتیک در افزایش قدرت ضد میکروبی مونولورین بود($p<0.05$).

نتیجه گیری : مونولورین می‌تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده و ممانعت کننده از فساد به گوشت گاو افزوده گردد. همچنین مواد آلی موجود در فرآورده‌های گوشتی می‌توانند خواص ضد میکروبی مونولورین را بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش دهند. در مقابل افزودن مواد شلاته کننده و اسید کننده به محیط‌های گوشتی می‌تواند به‌طور معنی دار سبب افزایش قدرت ضد میکروبی مونولورین بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در مواد غذائی گردد.

کلید واژه ها: مونولورین ، EDTA ، اسید لاکتیک ، استافیلوکوکوس ائروس ، گوشت

مقدمه:

گلیسرول مونولورات (Glycerol monolaurate)، در حقیقت ترکیب سورفکتانت طبیعی هستند که به‌طور طبیعی در شیر انسان و روغن نارگیل با غلظت‌های فراوان یافت می‌شود. FDA (Food and Drug Administration) استفاده از آن را برای مصارف خوراکی و آرایشی مجاز دانسته است(۱). مونولورین، در بین تمامی مشتقات اسیدهای چرب، یکی از قوی‌ترین خواص ضد میکروبی را دارا می‌باشد. مونولورین مانند هر منواستر اسید چرب ، یک ترکیب لیپوفیلیک باشد و تاثیرات مهاری آن نیز ناشی از تداخل آن با غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها است(۲). اگرچه که مکانیسم فعالیت ضد میکروبی اسیدهای چرب و مشتقات آنها هنوز به‌خوبی شناخته نشده است ولی اعتقاد بر آنست که این خواص عمدتا در اثر از هم گسیختگی دیواره سلولی و نفوذ پذیر نمودن سد دفاعی آن از سویی و از سوی دیگر مهار برخی اسیدهای آمینه است(۳). فعالیت مونولورین در همراه عواملی مانند افزایش درجه حرارت، انجماد، مواد اسیدی کننده، مواد شلاته کننده مانند EDTA، افزایش می‌یابد. نظر بر این است که عوامل مذکور میزان دسترسی مونولورین به غشاء سیتوپلاسمی را افزایش می‌دهند (۴). مونولورین سبب مهار تولید اگزوتوکسین (Exotoxin) باکتری‌های گرم مثبت نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *استرپتوکوک بتاهمولیتیک* (*Streptococci β-hemolytic*) و *باسیلوس آنتراسیس* (*Bacillus anthracis*) می‌شود(۳و۷-۵). مونولورین همچنین سبب مهار القاء مقاومت نسبت به ونکومایسین در *انتروکوکوس فکالیس* (*Enterococcus. faecalis*) می‌گردد. نشان داده شده است که مونولورین سبب تغییرات غشائی و فعال سازی سلول‌های دفاعی T می‌گردد. تمامی این فعالیت‌ها را مرتبط با درگیری مونولورین با سیستم‌های هدایت سیگنال وابسته به غشاء می‌دانند(۸، ۹). تحقیقات نشان داده‌اند که دودسیل گلیسرول (Dodecylglycerol) (متناظر اتری مونولورین) قادر است با فعال نمودن نوعی آنزیم پروتئولیتیک مسئول فعال نمودن اتولیزین (Autolysin) ، سبب خودتخریبی دیواره سلولی در *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*)، و سبب مهار بیوسنتز اسید گلیسرولیپید و لیپوتیکوئیک در استرپتوکوکوس موتانتس شود(۴).

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین عوامل بروز مسمومیت‌های غذائی با منشاء فرآورده‌های پروتئین حیوانی است. اخیرا گزارشات متعددی از بروز آلودگی‌های فرآورده‌های دامی به این باکتری در مراحل مختلف تولید، فرآوری و آماده سازی و مصرف وجود داشته است(۱۰، ۱۱). خوشبختانه، مونولورین به‌واسطه داشتن خواص مهاری بر ضد باکتری‌های گرم مثبت تاثیرات ممانعتی قابل انتظاری بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد. با این حال، ادعا شده که فعالیت ضد باکتریایی مونولورین و سایر مشتقات اسیدهای چرب می‌تواند تحت تاثیر مواد آلی (نظیر نشاسته ، پروتئین‌هایی نظیر آلبومین سرم ، لیپیدهایی نظیر فسفولیپیدها و کلسترول) موجود در فرآورده‌های غذائی پروتئینی قرار گیرند(۴).

هدف از انجام این مطالعه تعیین اثرات مهاری مونولورین بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط کشت ، گوشت استریل و غیر استریل گاو بود. تا از این طریق میزان تاثیر گذاری عوامل محیطی و به‌ویژه مواد آلی موجود در غذاهای پروتئینی بر قدرت ضد میکروبی مونولورین تعیین گردد.

مواد و روش‌ها:

مونولورین مورد استفاده در این پژوهش توسط پروفسور J.J.Kabara از شرکت مد- چم (Med-Chem Labs, Inc, Illinois) اهداء گردید. برای تهیه محلول مونولورین از الکل اتیلیک به عنوان حلال استفاده شد.

باکتری ارزیابی شده در این مطالعه، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، از کلکسیون میکروارگانیسم موسسه تحقیقاتی رازی ابتیاع گردید.

الف: بررسی اثر مونولورین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*:

برای اندازه‌گیری حداقل غلظت مهار کننده (MIC) مونولورین از روش استاندارد رقیق سازی لوله‌ای (Standard tube dilution) استفاده شد. به این صورت که رقت‌های دو برابر (Twofold) از مونولورین در محیط کشت مایع تهیه گردید (۱۲). در سری لوله‌های حاوی محیط نوترینت براث (Nutrient broth) (Oxoid, UK) (۵ لوله و در هر یک ۲ میلی‌لیتر محیط کشت)، مونولورین به میزان ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر اضافه شد. به هر لوله ۰/۱ میلی لیتر از کشت ۲۴ ساعته *استافیلوکوکوس اورئوس* اضافه گردیده (کدورت کشت میکروبی با روش کدورت سنجی مک فارلند (MacFarland) و برابر لوله ۰/۵ تنظیم گشت. غلظت نهایی پس از رقیق سازی

مجدد به $۸/۳ \times ۱۰^{۴}$ باکتری در هر میلی لیتر رسانیده شد. در ادامه مجموعه آنها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. کمترین غلظت مونولورین که باکتری در آن رشد ننمود(فاقد کدورت) به عنوان MIC مونولورین تلقی می‌گردید. به طور همزمان لوله شاهد بدون مونولورین نیز جهت مقایسه رشد باکتری با سایر لوله‌ها تهیه گردید(۱۲).

ب: بررسی اثر توام مونولورین و EDTA بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* مانند مرحله الف، ۵ لوله حاوی محیط NB، با همان غلظت‌های مونولورین و کشت ۲۴ ساعته *استافیلوکوکوس اورئوس* آماده شد. سپس مقادیر یکسانی از EDTA به غلظت ۴ میکروگرم / میلی لیتر به هریک از لوله‌ها افزوده شد و مطابق بند الف انکوبه گردید.

کمترین غلظت مونولورین که باکتری در آن رشد ننمود(فاقد کدورت) به عنوان MIC این ماده شیمیائی تلقی می‌گردید. به طور همزمان لوله شاهد بدون مونولورین و EDTA تهیه شد. برای قرائت نتایج مطابق بند الف عمل شد(۱۲).

بررسی اثر توام مونولورین و اسید لاکتیک بر روی استافیلوکوکوس اورئوس:

نظیر مراحل قبل، لوله‌های حاوی محیط NB و مونولورین آماده شد. سپس به هر لوله ۰/۲ میلی‌لیتر محلول اسید لاکتیک ۹۹ درصد(pH =۲) اضافه شد و به این ترتیب pH محیط به ۵ رساید. نهایتا مانند مراحل بفد از افزودن کشت *استافیلوکوکوس اورئوس* و انکوباسیون آن نتایج قرائت شد. همزمان لوله شاهد بدون مونولورین و اسید لاکتیک تهیه گردید(۱۲).

ج:اثر مونولورین روی گوشت استریل تلقیح شده با *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌منظورحذف آلوده کننده‌هایی غیر از باکتری مورد آزمون، نمونه گوشت چرخ شده بدون چربی پیش از شروع آزمایش در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. مونولورین به نسبت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در هر گرم گوشت) با گوشت مخلوط گردید. جهت سهولت کار ابتدا مونولورین با آرد با نسبت ۱ به ۹ مخلوط شد. از این ترکیب با در نظر گرفتن غلظت موثر مورد نظر مونولورین به گوشت اضافه گردید. سپس ۰/۱ میلی لیتر از از کشت ۲۴ ساعته باکتری (لوله شماره ۰/۵ مک فارلند) به ۱۰ گرم گوشت چرخ کرده استریل حاوی مونولورین اضافه شد. در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در فواصل روز های ۱ ، ۴ و ۷ تعداد باکتری در محیط آگار خوندار و با استفاده از روش کشت سطحی شمارش شد(۱۱). یک نمونه از گوشت استریل بدون مونولورین که با *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده بود به عنوان شاهد آزمایش گردید.

در ادامه برای بررسی تاثیر همراهی اسید لاکتیک و مونولورین بر باکتری مورد آزمون در محیط گوشت چرخ کرده استریل ، به ۱۰ گرم گوشت چرخ کرده استریل ۰/۱ میلی لیتر از کشت باکتری اضافه شد. سپس مونولورین (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در گرم گوشت) اضافه شد و در ادامه میزان pH مخلوط توسط اسید لاکتیک به مخلوط به ۵ کاهش می‌یافت.

د:اثر مونولورین روی گوشت چرخ کرده غیر استریل

بدین منظور مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در گرم گوشت) مونولورین به گوشت چرخ کرده غیر استریل اضافه شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تعدادکلی میکروبی در فواصل ۱، ۳، ۵ و ۷ روز در محیط آگار خوندار و با استفاده از روش کشت سطحی شمارش شد(۱۱).

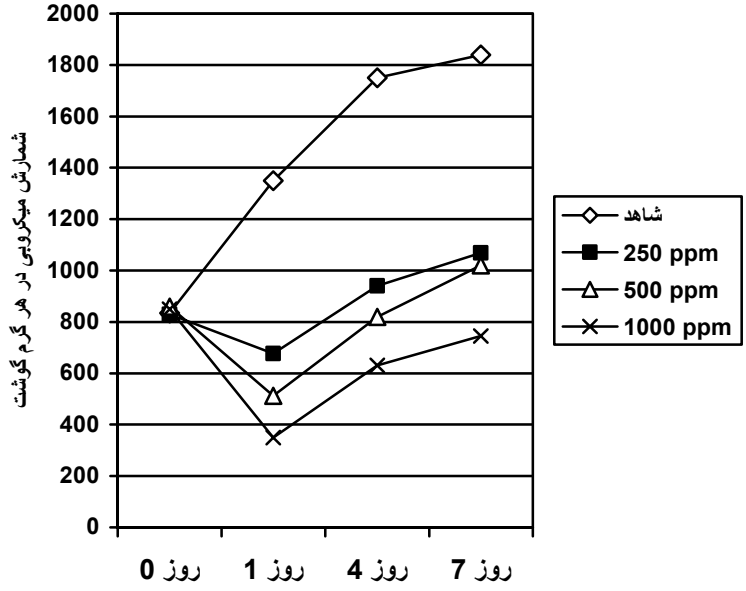
ر: اثر ضد میکروبی مونولورین به همراه EDTA روی گوشت چرخ کرده غیر استریل همانند بند د عمل شد . با این تفاوت که مونولورین و به همان میزان EDTA اضافه شدند. نمونه شاهد فاقد مونولورین و EDTA بود.

میانگی‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مقایسه شد. حداقل اختلاف معنی‌دار با $p<0.05$ مورد پذیرش بود .آزمون مذکور از طریق نرم افزار SPSS (Sigma Scans Pro 11.0, SPSS Science, Chicago, IL) انجام شد.

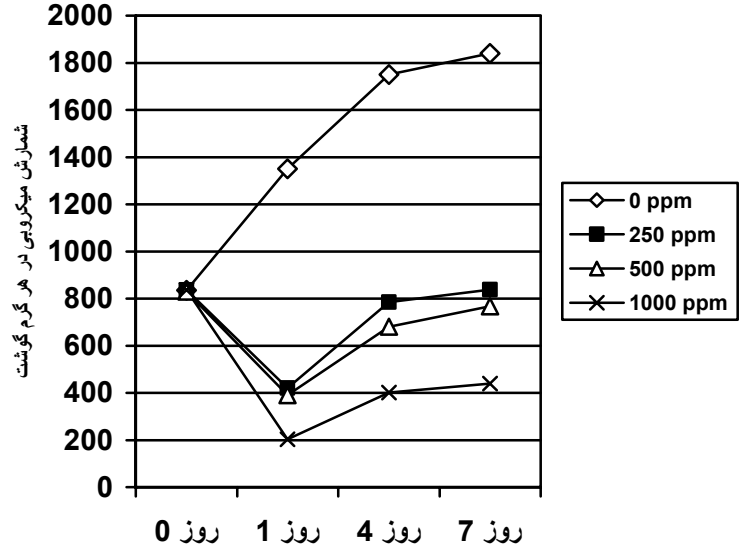
یافته‌ها:

میزان حداقل غلظت مهارکننده مونولورین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط کشت نوترینت براث (NB)، ۳۲ میکروگرم / میلی لیتر بود. حداقل غلظت مهارکننده مونولورین همراه با EDTA بر *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معنی دار کاهش یافت و به ۱۶ میکروگرم / میلی لیتر رسید($p<0.05$). حداقل غلظت مهارکننده مونولورین در محیط اسیدی شده با اسید لاکتیک بر روی باکتری آزمون در محیط کشت نوترینت براث (NB) کاهش یافت و به ۸ میکروگرم / میلی‌لیتر رسید($p<0.05$). نتایج بدست آمده از شمارش کلی میکروبی در گوشت استریل و غیر استریل نشان دهنده تاثیر

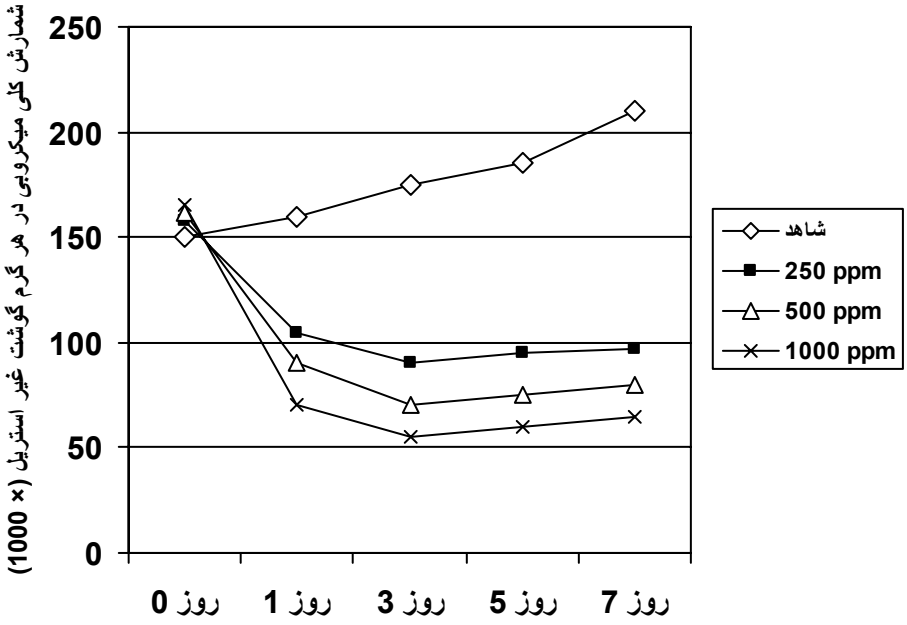
معنی‌دار همراهی اسید لاکتیک و EDTA با مونولورین (نمودارهای ۱،۲،۳،۴). در کاهش بار میکروبی محیط‌های مذکور بود($p<0.05$)



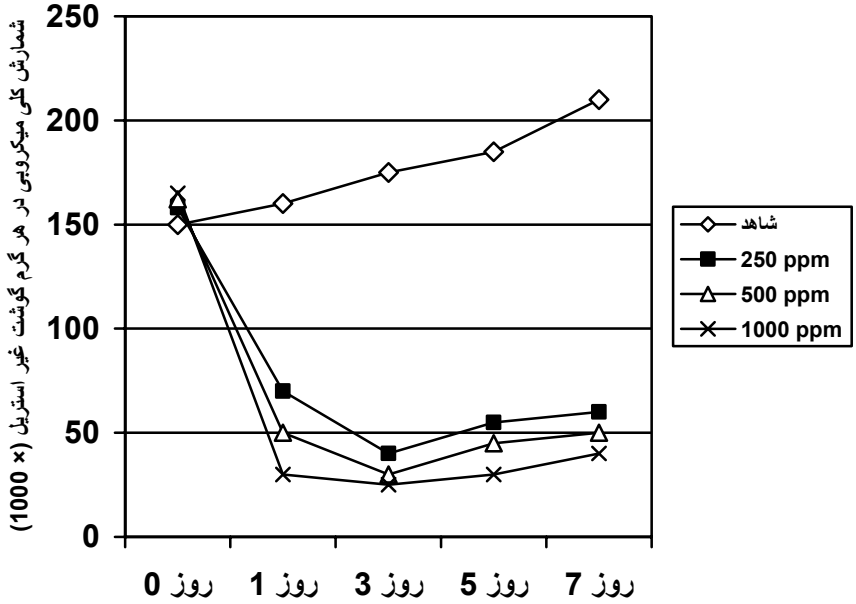
نمودار ۱ : شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر گرم گوشت استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین



نمودار ۲: شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر گرم گوشت استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین به همراه اسید لاکتیک



نمودار ۳: شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک گرم گوشت غیر استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین



نمودار ۴: شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک گرم گوشت غیر استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین همراه با EDTA

بحث:

نتایج نشان دهنده آنست که مونولورین دارای اثرات قابل توجه مهاری بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* است. البته تاثیر مثبت مونولورین بر روی باکتری‌های گرم مثبت، توسط تعدادی از محققین مورد تائید قرار گرفته است(۱۶،۱۵). بر مبنای نتایج حاصل از این مطالعه ، MIC مونولورین در برابر باکتری مورد آزمون معادل ۳۲ میکروگرم / میلی لیتر است. این یافته‌ها با گزارش رضوی روحانی و گریفیت (۱۹۹۴)مطابقت دارد(۱۴). طیف محدود تاثیرات ضد باکتریایی مونولورین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* را، مانند سایر باکتری‌های گرم مثبت، مرتبط با ساختمان دیواره سلولی آنها می‌دانند (۹). با اینحال نظر بر آنست که حضور عوامل شلاته کننده نظیر EDTA، به‌واسطه ترکیب با کاتیون پل‌های ارتباطی بین لایه لیپو پلی ساکاریدی و پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم منفی، سبب سست و ناپایدار شدن غشاء شده و از این طریق زمینه حساسیت آنها را نیز به تاثیرات مهاری مونولورین فراهم می‌آورند(۶).

نتایج این مطالعه در مورد حداقل غلظت مهار کننده مونولورین همراه EDTA نشان داد MIC مونولورین به نصف کاهش یافته است(۱۶ میکروگرم / میلی لیتر). یافته مذکور با گزارشات موجود دراین زمینه مطابقت دارد(۶). نتیجه دیگر این مطالعه تاثیر سینرژیست اسید لاکتیک بر خاصیتی ضد میکروبی مونولورین برعلیه *استافیلوکوکوس اورئوس* است. به گونه‌ای که سبب کاهش MIC مونولورین به حد ۸ میکروگرم / میلی لیتر می‌شود. این یافته مطابق با نظر برخی محققین است که تاثیر ضد میکروبی اسیدهای چرب را مربوط به مولکول غیر یونیزه آنها می‌دانند، که به صورت غیر یونیزه دارای بیشترین اثر ممانعت کنندگی می‌باشند. از این رو می‌توان انتظار داشت که با کاهش pH محیط ، باعث کاستن از درجه یونیزاسیون اسیدهای چرب شده و از این طریق تاثیر ضدمیکروبی آنها افزایش یابد (۱۷).

هدف دیگر از این مطالعه بررسی اثر مواد آلی موجود در گوشت بر تاثیر ضد میکروبی مونولورین بود. نتایج نشان دهنده آنست که کاربرد مونولورین به تنهایی سبب کاهش بار میکروبی در گوشت‌های استریل تلقیح شده با *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌گردد. این تاثیر به نحوی است که افزایش غلظت مونولورین سبب کاهش بیشتر شمارش میکروبی در گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد است. البته میزان مونولورین مورد نیاز برای کاهش بار میکروبی بسیار بیشتر از MIC مونولورین می‌باشد. این مطلب را می‌توان به تاثیر مواد آلی (نظیر نشاسته، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و کلسترول) موجود در گوشت نسبت داد، که سبب کاهش تاثیر ضد میکروبی مونولورین در محیط گوشت می‌شوند. این یافته با گزارشات دیگر موجود در این زمینه تطابق دارد(۱۸،۴). استفاده از اسید لاکتیک همراه با مونولورین سبب کاهش شمارش میکروبی در گوشت استریل نسبت به استفاده از مونولورین به تنهایی شد. البته کاهش شمارش میکروبی را می‌توان به کاهش یونیزاسیون اسیدهای چرب مانند مونولورین در محیط اسیدی نسبت داد. همانطور که پیشتر اشاره شد می‌تواند سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی آنان گردد(۱۷).

موضوع این مطالعه بررسی اثر ممانعت‌کنندگی مونولورین بر روی فلور طبیعی گوشت چرخ کرده و افزایش طول مدت نگهداری گوشت بود. بر اساس یافته‌های حاصله، شمارش کلی میکروبی با افزایش غلظت مونولورین کاهش می‌یابد و همچنین با گذشت زمان میزان بار میکروبی گوشت‌هایی که مونولورین به آنها اضافه می‌شود نسبت به گروه شاهد افزایش کمتری پیدا می‌کند. با عنایت به این که مونولورین تاثیری مهاری فوق العاده‌ای بر باکتری‌های گرم مثبت دارد و به دلیل وجود دیواره لیپوپلی ساکاریدی تاثیر ضعیفی بر باکتری‌های گرم منفی دارد(۱۸،۱۵)، کاهش شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های گوشت غیر استریل حاوی مونولورین را می‌توان عمدتا در اثر کاهش باکتری‌های گرم مثبت از کل جمعیت میکروبی قلمداد کرد.

تاثیر مهاری انتخابی مونولورین بر روی باکتری‌های گرم مثبت می‌تواند منجر به کاهش قدرت رقابت باکتری‌های گرم مثبت و منفی به نفع باکتری‌های گرم منفی گردد. امر می‌تواند، در اثر فعالیت باکتری‌های گرم منفی نظیر *پسودوموناس آئروژینوزا*، سبب فساد فرآورده‌های گوشتی نگهداری شده در سردخانه‌ها و یخچال‌ها گردد(۱۹). با افزودن یک ماده شلاته کننده مانند EDTA ، با نفوذ پذیر نمودن دیواره لیپو پلی ساکاریدی باکتری‌های گرم منفی نسبت به مونولورین ، آنها را به تاثیر ضد میکروبی مونولورین آسیب پذیرتر نمود. نتایج این مطالعه نشان داد شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های حاوی ترکیب مونولورین و EDTA نسبت به مونولورین به تنهایی کاهش بیشتر داشته. این کاهش بار میکروبی را می‌توان به افزایش تاثیر مونولورین روی باکتری‌ها باکتری‌های گرم منفی در حضور ماده شلاته کننده (EDTA) دانست.

نتیجه‌گیری:

مونولورین یک ماده طبیعی و مغذی با خواص ضد میکروبی و طیف محدود است، که خاصیت آن را می‌توان به کمک مواد اسیدی کننده و یا شلاته‌کننده تقویت نمود. در نهایت طیف ضد میکروبی آن افزایش می‌یابد. لذا، می‌توان از آن در قالب یک نگهدارنده قوی و ایمن مواد غذائی به‌ویژه در غذاهای گوشتی و همچنین یک غذا-دارو (Medicinal food) در رژیم‌های تغذیه-درمانی بهره‌های فراوان جست.

فهرست مراجع:

1.Kabara JJ. Food-grade chemicals for use in designing food preservatives. *J Food Prot*, 1981; **44:**633–647.

2.Ruzicka J, Velclová K, Janis R, Krejci J. Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic reaction of glycidol with fatty acids. *J Europe Food Res Tech,* 2003; **217**(4) :329-331.

3.Schlievert PM, Deringer JR, Kim MH, Projan SJ, Novick RP. Effect of glycerol monolaurate on bacterial growth and toxin production. *Antimicrob Agents Chemother,* 1992; **36:**626–31.

4.Dufour M, Manson JM, Bremer PJ, Dufour JP, Cook GM, Simmonds RS. Characterization of Monolaurin Resistance in *Enterococcus faecalis. Appl Environ Microbiol* 2007; **9**: 5507–5515.

5.Projan SJ, Brown-Skrobot S, Schlievert PM, Vandenesch F, Novick RP. Glycerol monolaurate inhibits the production of beta-lactamase, toxic shock toxin-1, and other staphylococcal exoproteins by interfering with signal transduction. *J Bacterial* 1994; **176:**4204–9.

6.Pechous R, Ledala N, Wilkinson BJ, Jayaswal RK. Regulation of the expression of cell wall stress stimulon member gene msrA1 in methicillin-susceptible or -resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48:**3057–63.

7.Vetter S, Tripp TJ, Schlievert PM. Glycerol monolaurate inhibits virulence factor production in *Bacillus anthracis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49:**1302–05.

8.Witcher K J, Novick RP, Schlievert PM. Modulation of immune cell proliferation by glycerol monolaurate. *Clin Diagn Lab Immunol,* 1996; **3**:10–13.

9.Ruzin A, Novick RP. Glycerol monolaurate inhibits induction of vancomycin resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol,* 1998; **1**: 182–185.

10.Eidson M, Sewell CM, Graves G, Olson R. Beef jerky gasteroentritis outbreaks. *J Environ Health,* 2000, **62**:32-34.

11.De Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wit B, Huijsdens XW, De neeling AJ, Bosch T, *et al*. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol*, 2008, **134**: 52-56.

12.Baron EJO, Peterson LR, Finegold SM. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. Toronto, Mosbey, 1994, pp:168-176.

13.Harrigan WF, Mac Cance ME. Laboratory methods in food and dairy microbiology. London, Academic press, 1976; pp: 157-158.

14.Razavi Rohani SM, and Griffiths MW. The effect of mono and polyglycerol laurate on spoilage and pathogenic bacteria associated with foods. *J Food Safety,* 1994; **14**: 131-151.

15.Kabara JJ, Orth DS. Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs principles and practice. NewYork, Marcel Dekker, 1997; pp: 119-134.

16.Peterson ML, Schlievert PM. Glycerol Monolaurate Inhibits the Effects of Gram Positive Select Agents on Eukaryotic Cells. *Biochem*, 2006; **45**(7): 2387–2397.

17.Verhaegh EGA, Marshall DL, Oh DH. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish fillets. *Int J Food Microbiol,* 1999; **29**, (2-3):403-410.

18.Kabara JJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in a model agar-meat system by monolaurin: A research note. *J Food Safety,* 2007; **6** (3):197 – 201.

19.Mbandi E, Brywig M, Shelef LA. Antilisterial effects of free fatty acids and monolaurin in beef emulsions and hot dogs. *Food Microbiol,* 2004; **21**(6): 815-818.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۳۹- ۳۴

بررسی اثر ضدعفونی آلپروسید (AlproCid) در دندانپزشکی

جمیله بیگم طاهری[۱*]، نسرین رفیعیان [۱]، سمیه عظیمی[۱]، شادی محبی [۲]، معصومه نوید نیا [۳]

۱)گروه بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲)گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳) مرکز تحقیقات عفونی اطفال ، بیمارستان کودکان مفید ، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی
نویسنده رابط: معصومه نوید نیا، مرکز تحقیقات عفونی اطفال ، بیمارستان کودکان مفید ، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی
دورنگار: ۰۲۱-۲۲۲۲۶۹۴۱ m.navidinia@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۹/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۱/۱۰

چکیده:

زمینه و اهداف: آلپروسید (AlproCid) فرآورده ضدعفونی کننده جدید با فرمولاسیون آلکیل آمین نوع سوم و آمونیوم چهار ظرفیتی است، که به دلیل اثر بخشی بالا مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه تعیین اثر ضدعفونی وسایل و سطوح آلپروسید در دندانپزشکی بود.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی ۳۰ نمونه از سطوح دندانپزشکی قبل و بعد از اثر دهی آلپروسید جمع آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده توسط سوآب استریل مرطوب به آب مقطر، بر روی محیط‌های کشت بلاد آگار و شکلات آگار کشت داده شدند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج بررسی گردید. پس از تعیین هویت باکتری‌ها، تعداد کلونی‌های میکروبی پس از مواجهه با آلپروسید شمارش شدند. دیسک‌های آغشته به محلول آلپروسید استفاده شد و هاله عدم رشد اندازه گیری شد.برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماري SPSS نگارش ۱۴ و آزمون مجذور کای استفاده شد. حد معنادار بودن $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: پس از ضدعفونی با AlproCid کاهش معناداری در میزان آلودگی‌های میکروبی محیط و ابزار کار دندانپزشکی از نظر تعداد کل کشت‌های مثبت (از 86.7٪ به ۰٪) و آلودگی چند میکروبی (از 42.6٪ به ۰٪) مشاهده شد. نتایج شمارش کلونی در مورد کلیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه کمتر از $۱۰^{۵}$ در هر میلی لیتر را نشان داد. در کلیه نمونه‌ها هاله عدم رشد به قطر حداقل ۱۰ میلی‌متر بود. نتایج مطالعه in-vitro در مورد اثربخشی AlproCid بر سویه‌های مقاوم آزمایشگاهي نشان دهنده میزان پایین کلونی میکروارگانیسم‌های استاندارد(شامل *اشریشیاکلی*، کلبسیلا، پروتئوس، انتروکوک مقاوم به ونکومایسین، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین) پس از مواجهه با AlproCid بود. این امر حاکي از اثر باکتریسیدال این محصول بر سویه‌های استاندارد مورد آزمایش است.

نتیجه گیری : AlproCid فرآورده ایده‌ال برای ضدعفونی کردن سطوح کاری در محیط دندانپزشکی است. زیرا علیرغم توان ضد عفونی بسیار بالا، به‌دلیل عدم خاصیت خورندگی و عدم ایجاد بقایا، می‌توان به راحتی و به سرعت برای ضد عفونی کلیه سطوح بکاربرد.

کلید واژه ها: ضدعفونی، باکتری، آلودگی، آلپروسید، ابزار دندانپزشکی

مقدمه:

انتقال آلودگی‌ها و عفونت از مشکلات عمده محیط‌های دندانپزشکی است، بنابراین، یکی از نیازهای کنترل عفونت، ضد عفونی نمودن سطوح ، ابزار non-critical و semi-critical در فواصل بین مراجعه بیماران می‌باشد (۱-۵)

هر روزه تلاش‌هایی در جهت ابداع مواد و روش‌های جدید ضدعفونی (Disinfection) و استریلیزاسیون ، به عمل می‌آید. با این وجود نیاز به مطالعات جدید در این زمینه همچنان احساس می‌شود(۱۰-۵).

مواد ضد عفونی‌کننده بر اساس قدرت اثر به ۳ نوع Low level, intermediate level و high level تقسیم می‌شوند(۶و۷).

AlproCid از جدیدترین مواد ضدعفونی‌کننده با ترکیب اصلی آمین‌های چهار ظرفیتی و عاری از آلدئید و فنل می‌باشد. این فرآورده به صورت افشانه برای تمیز کردن و ضدعفونی سریع سطوح و اشیاء مختلف کاربرد دارد. طبق نظر شرکت سازنده، این فرآورده اثر بسیار سریع و مطمئن دارد. به دلیل کشش سطحی پایین، قدرت نفوذ به تمامی درزها و شکاف‌ها را دارد و در دمای اتاق به سرعت تبخیر می‌شود(۱۱،۱). AlproCid به عنوان یک ماده ضد عفونی‌کننده با توان بالا (High level Disinfectant یا HLD) مورد تایید وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی است. ترکیب AlproCid فقط به منظور استفاده جهت ضدعفونی کردن سطوح پزشکی و دندانپزشکی فرموله شده است. در مورد سطوح و برخی از ابزار Semi-critical و Non-critical در دندانپزشکی توصیه شده است که قابل اتوکلاو نیستند و یا در اتوکلاو فرسایش می‌یابند. شرکت سازنده اعلام می‌نماید AlproCid سمیت بسیار پایینی برای انسان و محیط دارد و نیاز به آبکشی بعدی ندارد. این محصول قادر است باکتری‌های مقاوم و ویروس‌ها را در زمان کوتاه از بین ببرد.(۵)

به دلیل استفاده وسیع از این فرآورده در کشور و شرایط متفاوت بهداشتی و بومی انجام مطالعه حاضر برای تایید کارایی بالینی آن در ضد عفونی سطوح آلوده محیط‌های کار دندانپزشکی ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه به روش توصیفی بود و جامعه آماری میکروارگانیسم‌های جدا شده از ۳۰ نمونه جمع‌آوری شده از ابزار دندانپزشکی قبل و بعد از ضدعفونی کردن بود.

نمونه‌ها از بخش‌های جراحی، پری‌اودنتولوژی، اندودنتیک و ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شهید بهشتی جمع‌آوری شد.

مراحل آزمایشگاهی و کشت در آزمایشگاه مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید انجام شد.

نمونه با سوآب استریل مرطوب به آب مقطر از سطوح جمع آوری شد. سپس محلول Alprocid از فاصله حدود ۳۰ سانتی‌متر روی سطوح و وسائل که قرار بود عفونت زدایی شوند، اسپری شد. پس از گذشت حدود ۱ دقیقه با یک دستمال مرطوب و تمیز اشیاء و سطوح ضدعفونی شده تمیز شد. سپس مجدداً نمونه برداری شد. نمونه‌ها سریعاً به آزمایشگاه مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید ارسال شدند. بررسی‌های آزمایشگاهی شامل رنگ‌آمیزی، کشت، تست‌های بیوشیمیایی بود. در مرحله بعد اثر ضد عفونی محلول AlproCid با سویه‌های آزمایشگاهی (شامل *اشریشیاکلی*، کلبسیلا، پروتئوس،- انتروکوک مقاوم به ونکومایسین، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین) بررسی شد .

کشت سویه‌های استاندارد روی محیط بلاد آگار و شکلات آگار انجام شد) و به هردو ظرف پنری یک شماره اختصاص یافت . سپس ظروف پنری به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند(۱± ۳۶ درجه سانتی‌گراد). سپس نتایج خوانده شدند.

ظروف پنری که رشد باکتری بر روی آنها صورت گرفته بود به عنوان ظروف پنری مثبت (دارای رشد) و ظروف پنری که هیچ کلونی باکتریایی بر روی انها دیده نمی‌شد به عنوان ظروف پنری منفی (عدم رشد) در نظر گرفته شد. از کلونی رشد یافته در ظروف پنری مثبت لام تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی و مشاهده لام‌ها باکتری‌های استافیلوکوک و استرپتوکوک شناسائی شد.

در مرحله بعد برای بررسی هاله عدم رشد از دیسک‌های بلانک استفاده شد. ابتدا در داخل یک ظرف پنری استریل تعداد ۱۸ عدد دیسک بلانک قرار داده شد. محلول آلپروسید بر روی آنهااسپری شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت ظروف پنری در محیط

در بسته قرار داده شد تا دیسک‌ها ماده ضد عفونی کننده را کاملا به خود جذب کنند.

جهت بررسی مجموعه فوق در داخل انکوباتور قرار داده شدو بعد از گذشت ۲۴ ساعت جهت بررسی نتایج به آزمایشگاه فرستاده شد. زمانی که قطر هاله‌ی اطراف دیسک‌ها بیش از ۱۰ میلی‌متر بود ماده مورد نظر بر روی آن باکتری موثر تلقی می‌گردید (۶).

تجزیه و تحلیل داده‌ها در محیط نرم افزار آماری SPSS نگارش ۱۴ انجام شد و از آزمون غیر پارامتریک Chi-Square استفاده شد. حد معنادار بودن اختلاف $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

میکروارگانیسم‌های جدا شده عمدتا عبارت بودند از سویه‌های *Staphylococcus aureus*، Neisseria.، Bacillus، *Eschericia coli* (جدول۱). در 42.8 درصد ظروف پتری ۲ میکروارگانیسم یا بیشتر ودر ۴۶/۴ درصد کشت تک میکروبی بود.

نتایج قبل و بعد از ضدعفونی با AlproCid نشان داد که این محلول قادر است میزان آلودگی ابزار دندانپزشکی را به‌طور معنی‌دار کاهش دهد (P value <0.0001).

جدول ۱:میکروارگانیسم‌های جدا شده از ۳۰ نمونه از ابزار دندانپزشکی قبل از ضد عفونی کردن با محلول آلپروسید

میکروارگانیسم	تعداد
Streptococcus spp.	۲
Coagulase-Negative *Staphylococcus*	۱
Staphylococcus aureus	۱۱
Neisseria meningitidis	۴
Bacillus spp.	۱۶
Micrococci	۲
Corynebacteriae spp.	۳
Eschericia coli	۴

در بررسی هاله عدم رشد که از دیسک‌های آغشته به محلول آلپروسید استفاده شد، اثربخشی AlproCid در محیط کشت بر روی میکروارگانیسم‌های جدا شده از محیط (نمونه‌های سطوح وابزار) تایید گردید(جدول ۲).

جدول ۲: باکتری‌های جدا شده از سطوح وابزار جهت بررسی هاله عدم رشد

باکتری	تعداد نمونه
Streptococcus	۳نمونه
Staphylococcus	۲ نمونه
Neisseria	۴ نمونه
Eschericia coli	۲ نمونه
Corynebacteriae	۳ نمونه
Acinetobacter	۱نمونه
Bacillus	۳ نمونه

چنانچه در جدول ۳ نشان داده شده است نتیجه شمارش تعداد کلونی‌ها در مورد کلیه باکتری های مورد استفاده در این مطالعه، عددی کمتر از 10^5 در هر میلی لیتر را نشان داد.

جدول ۳:شمارش کلونی CFU بعد از کاربرد محلول آلپروسید

MIRCOORGANISM	CFU/ml
VRE	No growth
MRSA	No growth
E.coli	$<10^4$
Klebsiella	No growth
Proteus	<10
ESBL E.coli	$<10^2$
ESBL Klebsiella	No growth
VRE = Vancomycin-Resistant Enterococcus; MRSA= Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, E.coli, *Eschericia coli* ESBL, Extended-spectrum β-lactamase	

بحث:

مطالعه حاضر نشان داد که محلول AlproCid به‌عنوان یک High Level Disinfectant در از بین بردن میکروارگانیسم‌های شایع محیط کار دندانپزشکی موثر است. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، ضدعفونی کردن سطوح دندانپزشکی با AlproCid پس از استفاده،می‌تواند میزان آلودگی را از ۸۶درصد به صفر کاهش دهد.

محلول آلپروسید بر اساس نسل جدیدی از آمین‌های ۴ ظرفیتی و آلکیل آمین نوع سوم در پایه الکلی فرموله شده‌است. این محلول با اعمال اثر سینرژی قدرت بسیار بالایی برای ضد عفونی از خود نشان می‌دهد (۷،۴،۱۲و۱۳) . مطابق مطالعات انجام شده AlproCid قادر به از بین بردن تمام ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، ارگانیسم‌های تک یاخته و نیز بیوفیلم است. از دیگر مزایاي آن می توان به سازگاری با محیط زیست و سهولت استفاده (افشانه آماده مصرف) اشاره کرد. همچنین تحریک‌کنندگی خفیف پوست و رایحه غیر آزارنده این محلول را می‌توان از ویژگی‌های مثبت AlproCid به شمار آورد(۱۴و۱۵).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که AlproCid می‌تواند میکروارگانیسم‌های محیط کار دندانپزشکی را از بین ببرد. این مساله از آن جهت حائز اهمیت است که نزدیک به ۷۵ درصد از آلودگی‌های مشاهده شده در این مطالعه را پاتوژن‌های به شدت مسری تشکیل می‌دادند. از این رو با توجه به زنجیرهٔ عفونت در محیط‌های بیمارستانی، ضدعفونی ابزار در فاصله بین مراجعه بیماران می‌تواند در پیشگیری از انتقال بیماری‌ها بسیار موثر باشد. با توجه به نتایج، ترکیبات موثری همچون AlproCid می‌تواند با قطع راه‌های انتقال در کنترل بیماری‌ها و عفونت‌های بیمارستانی موثر باشد.

در سال ۱۹۸۹، Christiensen و همکارانش فعالیت ضد میکروبی ۳۹ محصول ضد عفونی‌کننده‌ی سطوح در ۶ گروه الکل‌ها، کلرین‌ها، گلوتارآلدئید رقیق شده، یدوفورها، فنل‌ها و ترکیبات چهارظرفیتی آمونیوم را در دو حالت حضور و عدم حضور مواد ارگانیک مورد مقایسه قرار دادند(۱۶). برای بررسی ویژگی توبرکلوسیدال و همچنین وضعیت تاثیر این مواد بر عفونت‌های بیمارستانی از میکروارگانیسم‌های پسودومونا آئروژینوزا، سالمونلا کلراسوئیس، استافیلوکوکوس اورئوس، مایکوباکتریوم بوویس، بر اساس معیارهای EPA (Environmental Protection Agency) استفاده شد. پلی ویروس تیپ I هم به دلیل پایداری در مقابل اغلب ضد عفونی کننده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. ماده ارگانیک مورد استفاده در این مطالعه خون انسانی بود. نتایج این مطالعه نشان داد که کلیه

مواد ضد عفونی کننده فوق الذکر می‌توانند بر عوامل عفونت‌های بیمارستانی اثر باکتریوسید داشته باشند. ولی گلوتارآلدئید رقیق شده و ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم بر مایکوباکتریوم و گلوتارآلدئید رقیق شده ، متیل‌ها، الکل‌ها و ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم نسل قدیمی بر پلی ویروس‌ها بی اثر می‌باشند.

در مطالعه حاضر اثرات باکتریسیدیال قوی از AlproCid مشاهده شد. نکته قابل توجه در این مطالعه، اثر این محلول بر سویه‌های ویژه‌ای همچون *Bacillus subtilis* است که می‌تواند با گذشت زمان در محیط با تولید اسپور باعث آلودگی‌های پایدار شود (۱۷و۱۸). با توجه به توان بالای این ماده در نابود کردن باکتری‌های مقاوم گرم مثبت و گرم منفی، اثر ویروس‌کشی AlproCid نیز مورد انتظار است.

اثر ویژه AlproCid بر میکروارگانیسم‌های شایع حفره دهان به‌خصوص سویه‌های پاتوژن مانند Klebsiella (۱۶) نشانگر کارآیی این فرآورده در محیط‌های درمانی دندانپزشکی می‌باشد. در سال ۱۹۹۰ ، مطالعه‌ای توسط Best و همکارانش در مورد تاثیر برخی مواد ضد عفونی‌کننده بر مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در خلط، به عنوان ماده ارگانیک انجام شد. در آن ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم، کلرهگزیدین گلوکونات و یدوفور در تمام آزمایش‌ها فاقد اثرات مناسب بودند(۱۹). در سال ۲۰۰۳ در مطالعه‌ای که توسط Mazzola و همکارانش در مورد زمان کاهش دسیمال محلول‌های ضد عفونی کننده‌ی شایع در بیمارستان‌ها انجام شد، نشان داده شد که برای ضد عفونی intermediate level ابزارها، سدیم دی کلرو ایزوسیانورات (NaDCC) به‌دلیل pH پایدار و خورندگی پایین بر اشیاء فلزی، مناسب است.اما برای موارد critical مخلوط پایدار شده Minncare شامل پراستیک اسید ۰/۳۵-۰/۲ درصد و پراکسید هیدرژن ۶-۴ درصد توصیه می‌شود(۱۴).

نتیجه‌گیری:

در مطالعه حاضر اثر باکتریسیدال AlproCid بر سویه‌های آزمایشگاهی مشاهده شد. AlproCid به‌عنوان ماده ضد عفونی‌کننده با اثر بخشی بالا و موثر جهت استفاده در محیط دندانپزشکی مناسب می‌باشد.زیرا، علی رغم خاصیت ضد عفونی‌کنندگی بالا ، به‌دلیل عدم خاصیت خورندگی و عدم ایجاد بقایا، می‌توان سطوح رابا استفاده از افشانه AlproCid، به راحتی و به سرعت ضد عفونی کرد.

تقدیرو تشکر:

با تشکر از کلیه پرسنل مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید.

فهرست مراجع:

1. Weist K, Pollege K, Schulz I, Ruden H,Gastmeier P. How many nasocomial infections are associated with cross transmission? A prospective cohort study in a surgical intensive care unit. *Infect Cont and Hosp Epidem*.2002 March; **23**(3) : 127-132
2. Marc J M. Bonten: infection in the intensive care unit: Prevention strategies current opinion in infectious disease. *Cur Opin Infect Dis*. 2002, **15**: 401-405.
3. Reuter S, Sigge A, Wiedeck H, Trautmann M: analysis of transmission pathways of pseudomonas aeruginosa between patient and tap water. *Crit Care Med*. 2002 Oct;**30**(10):2222-8.
4. C.Glen Mayhall. Hospital epidemiology and infection control. Third Ed., Lippincott Willams and wilkins, 2004; PP: 1002-1050.
5. Soymour SB, Cremieux A, Fleurette G. Disinfection, Sterilization and preservation. 5th ed. Philadelphia: lippincott Williams and Wilkings;2001;PP: 1009-877 and 27-91
6. CDC Guide line for infection control in dental health care setting. 2003, 14; 52; 1-16.
7. Cozad Ann, Jones Rhonda D. Disinfections and prevention of infection disease American. *Amer J Infect Cont*, 2006. **34**(1): 243-254.
8. Dettenkofer, Markus. Dose disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rate? A systemic review. *Amer J Infect Cont* April 2004. **32**(2): 84-89.
9. Richards M, Thursky K, Buising K: epidemiology , prevalence, and sites of infection in intensitve care units seminars in respiratory and critical care medicine. *Semin Respir Crit Care Med*. 2003 Feb;**24**(1):3-22

10. Villegas, Maria Virgina, Hartstein Alan I. Acinobacter outbreak, 1977-2000. *Am J Infect Control* 1982;**10**:43-48. 22.
11. Mark A, marinella-CP Chenoweth C.The Stethoscope: A potential source of nasocomial infection. *Arch Int Med*.1997- April ;157(7):786-790
12. Chaidez C, Lopez J, Castro-del Campo N: Quaternary ammonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water. *J Water Health*. 2007 Jun;**5**(2):329-33.
13. Springthorpe, S., Disinfection of surfaces and equipment. *J Can Dent Assoc*, 2000. **66**(10): 558-60
14. Mazzola PG, Penna TCU, Martins AMS. Determination of chemical agenst used in hospitals for disinfection purposes. *BMC Infect Dis*. 2003. **3**: 24-33.
15. Baron, SH. Fiengold. Bailey and Scott's. Diagnostic Microbiology 8th edition. Mosby 2000; PP:120-135.
16. Christiensen R.P. Antimicrobial activity of environmental surface disinfections in the absence and presence of bioburden. *JADA* 1989 Oct, **119**: 493-504
17. Spaulding, E.H., Chemical disinfection in the operating room. *Mil Med*, 1958. **123**(6): 437-43
18. Sattar SA, Raphael RA, Lochnan H, Springthorpe VS. Rotavirus inactivation by chemical disinfectants and antiseptics used in hospitals. *Can J Microbiol*, 1983. **29**(10):. 1464-9.
19. Best M, Sattar SA , Springthorpe VS,Kenned ME . Efficacies of selected disinfectant against *Mycobacterium tuberculosis* clinical microbiology. J Clin Microbiol.1990 Oct;**28**:2234-9

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۴۶-۴۰

شیوع کلنیزاسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه مراکز آموزشی درمانی قزوین- ۱۳۸۴

مسعود شریفی[۱*] ، مینا آصف زاده[۲] ، امیر جوادی[۳]، آزاده کارگر[۴]

۱) گروه میکرب شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۲) بخش بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۳) گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۴) پزشک عمومی
نویسنده رابط: مسعود شریفی، گروه میکرب شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
همراه: ۰۹۱۲۳۸۱۹۰۵۴ dr_m_sharifi2002@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله :۸۸/۱۰/۹ تاریخ پذیرش مقاله :۸۸/۱۱/۱۹

چکیده:

زمینه و اهداف: Methicillin resistant *Staphylococcus.aureus* (MRSA) ، مشکل عمده بخش‌های ICU است. نظر به اهمیت جهانی این سویه لازم بود تا جایگاه آن در بخش‌های ICU تبیین شود. این مطالعه با هدف تعیین شیوع کلونیزاسیون بیماران بستری در بخش‌های ICU دانشگاهی قزوین با *استافیلو کوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین انجام پذیرفت.

روش بررسی: از کلیه بیماران بستری در بخش‌های ICU چهار مرکز آموزشی درمانی (شهید رجائی،بوعلی سینا، کوثر و قدس) قزوین ، در مدت ۶ ماه هنگام پذیرش و ترخیص، به روش سرشماری نمونه سواب بینی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در محیط‌های اختصاصی کشت و انکوبه شدند. در صورت جدا شدن *S.aureus* برای تعیین مقاومت به متی‌سیلین از روش Oxacillin Screening Plate طبق دستورالعمل (CLSI) *Clinical and laboratory standards institute* استفاده شد. سایر اطلاعات (سن ، جنس، سابقه بستری، بیماری زمینه‌ای، علت بستری، مدت بستری، مصرف آنتی بیوتیک و سرانجام بیمار) توسط پرسش نامه، مصاحبه با بیمار و مراجعه به پرئنده بیمار جمع آوری شد. اطلاعات با نرم افزار SPSS پردازش و داده‌ها با آزمون‌های مجذور کای و تست دقیق فیشر تحلیل شد.

یافته‌ها: محدوده سنی ۲۶۵ بیمار مورد بررسی از یک روز تا ۸۸ سال بود. بیشترین علت بستری در ۳۷ نفر (۲۷/۵٪) مالتیپل تروما ، شایع ترین بیماری زمینه‌ای در ۱۱ نفر (۱۱/۸٪) دیابت، بیشترین مدت بستری مربوط به ۱۰۴ نفر (۵۲/۸٪) تا ۴ روز بود. بیشترین آنتی‌بیوتیک تجویز شده سفتریاکسون برای ۵۲ نفر (۱۹/۶٪) و بیشترین وسیله حمایتی تعبیه شده کاتتر ادراری برای ۲۱۸ نفر (۸۲/۳٪) بود. ۲۱۰نفر (۷۹/۲٪) بهبود یافتند. به هنگام پذیرش، ۵۲ نفر (۱۹/۶٪) با سویه Methicillin sensitive *S. aureus* (MSSA) و ۳۲ نفر (۱۲/۴٪) حامل سویه MRSA شناخته شدند و کشت ۱۷۴ نفر (۶۵/۷٪) منفی بود. از میان ۱۷۴ نفر اخیر به هنگام ترخیص ، ۱۱ نفر (۶/۳٪) با سویه MSSA و ۴۰ نفر (۲۳٪) با سویه MRSA کلونیزه شدند. فقط بین کلونیزاسیون MRSA و متغیر اقامت در بخش ICU رابطه معنی ار($P<0.05$) یافت شد.

نتیجه گیری: وجود حاملین حکایت از حضور سویهMRSA در خارج از بخش ICU دارد. در پی بستری در بخش ICU دانشگاهی، کلونیزاسیون در مقایسه با حاملین همین سویه ۱/۹ برابر افزایش می‌یابد. بخش‌های ICU دانشگاهی به این سویه آلوده‌اند و از آن طریق در جامعه منتشر می‌شود. کلونیزاسیون با اقامت در بخش ICU رابطه دارد.

کلمات کلیدی: *S.aureus* ، MRSA ، کلنیزاسیون، حامل ، ICU

مقدمه:

مراقبت‌های ویژه شامل کلیه مراقبت‌های حساس وابسته به حیات بیمار است.به عبارت دقیق‌تر مراقبت یژه عبارت است از: مراقبت از بیماران مبتلا به بیماری‌های حاد و مخاطره آمیز حیات (۱). تخت‌های بخش مراقببت‌های ویژه(ICU) را بیمارانی اشغال می‌کنند که دامنه وسیعی از ناراحتی‌های بالینی دارند، و به نوعی از اختلال عملکرد یا نقص یک یا چند ارگان، به ویژه سیستم‌های تنفسی و قلبی – عروقی، مبتلا می‌باشند (۲). این بخش‌ها مخزن باکتری‌های ویرولان و اغلب فوق‌العاده مقاوم هستند که از طریق دست پرسنل و یا وسایل به سهولت بین بیماران انتشار می‌یابند. از سوی دیگر مصرف بی‌رویه عوامل ضدمیکروبی مآلا به کلونیزه‌شدن با ارگانیسم‌های مقاوم منجر می‌گردد. از بین ارگانیسم‌ها،گونه‌های بی‌هوازی اختیاری گرم منفی و استافیلوکک‌ها، شایع‌ترین عوامل این دسته از عفونت‌ها هستند(۳).

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) پاتوژن بسیار مهم عفونت‌های بیمارستانی است. شیوع آن، به ویژه در بیمارانی که در معرض خطر زیاد قرار دارند، مانند بیماران بستری در بخش‌های ICU ، رو به افزایش است (۴). توانائی سازش *S. aureus* با آنتی بیوتیک‌ها، در سال ۱۹۶۰ منجر به ظهور سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (methicilin resistant *S. aureus*: MRSA) شد(۵). از آن زمان اکثر کشورها این سویه را از بیماران بستری در بیمارستان جدا نموده، صرف هزینه‌های بالا جهت مقابله با آن و نیز اقامت طولانی مدت بیماران در بیمارستان را به دلیل عفونت با آن گزارش کرده‌اند. سویه MRSA اکتسابی از بیمارستان معمولا به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم است و درمان آن با اکثر گروه‌های آنتی‌بیوتیکی موفقیت آمیز نیست(۶).

طی یک مطالعه در امریکا (۱۹۹۹) ، شیوع کلنیزاسیون با سویه MRSA در بیماران بستری در ICU ، ۳۵/۲٪ بود که به طور معنی دار بیشتر از بیماران بستری در بخش‌های غیر ICU (۳۱/۹٪) بود (۷). ۲۰ تا ۶۰٪ بیماران بستری در بخش‌های ICU و ۳ تا ۱۵٪ بیماران بستری در سایر بخش‌های بیمارستان که با سویه MRSA کلونیزه می‌شوند، به عفونت با این سویه مبتلا می‌گردند(۶). درسال ۱۹۹۹ بیشتر از ۵۰٪ بیماران بستری در بخش‌های ICU دچار عفونت با سویه MRSA می‌شدند. این میزان در سال ۲۰۰۵ به ۶۰٪ رسید (۸). شیوع MRSA به مقدار زیادی در بین کشورهای مختلف و حتی از یک بیمارستان به بیمارستان دیگر در یک کشور فرق می‌کند(۱).

تاکنون هیچ مطالعه‌ای درباره وضعیت سویه MRSA در بخش‌هایICU در قزوین انجام نشده است. لذا، اهمیت جهانی این سویه ما را ترغیب نمود تا برای تبیین جایگاه آن مطالعه حاضر را با هدف تعیین شیوع کلونیزاسیون با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در بیماران بستری در بخش‌های ICU بیمارستان‌های دانشگاهی قزوین انجام دهیم.

مواد و روش ها :

جامعه مورد مطالعه این بررسی توصیفی-تحلیلی، کلیه بیمارانی بود که در فاصله ماه‌های مرداد تا دی سال ۱۳۸۴در بخش‌های ICUمراکز آموزشی درمانی شهیدرجایی (مرکز جراحی)، بوعلی سینا (مرکز بیماری‌های داخلی)، کوثر (مرکز بیماری‌های زنان) و قدس (مرکز بیماری‌های کودکان) شهر قزوین پذیرش شدند. به هنگام پذیرش و ترخیص بیماران، نمونه سواب بینی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها بعد از تلقیح در محیط‌های آگار خوندار و مانیتول سالت آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا ۴۸ ساعت انکوبه شدند. برای تعیین هویت ارگانیسم‌های جدا شده رنگ آمیزی گرم ، کاتالاز، کوآگولاز روی لام، کوآگولاز لوله‌ای و DNase انجام شد (۹). بر اساس نتایج آزمایش‌ها ارگانیسم تعیین هویت می‌شد. برای تعیین مقاومت به متی‌سیلین از روش oxacillin Screening plate ، مطابق با دستورالعمل Clinical and laboratory standards institute (CLSI) (۱۰) استفاده شد. در این روش به محیط Mueller – Hinton agar، ۴ %NaCl و 6μg/ml آنتی‌بیوتیک oxacillin (محصول کارخانه سیگما، آلمان) اضافه شد. رشد استافیلوکک بر روی این محیط بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مؤید وجود مقاومت به متی‌سیلین تلقی می‌شود.

از سویه‌های ذیل به ترتیب به عنوان سویه‌های شاهد مقاوم و حساس به متی سیلین استفاده شد: *S.aureus* ATCC ۳۳۵۹۱ و*S.aureus* ATCC ۲۵۹۲۳.

سایر اطلاعات شامل اطلاعات دموگرافیک (سن، جنس، شغل، محل سکونت)و اطلاعات اختصاصی (سابقه بستری، علت بستری کنونی، مدت بستری، بیماری زمینه‌ای، اقدامات حمایتی، آنتی بیوتیک‌های تجویز شده و سرانجام بیمار) توسط پرسش‌نامه، و نیز با مصاحبه و مراجعه به پرونده بیماران جمع‌آوری می‌شدند.

پس از جمع آوری اطلاعات و پردازش آنها با نرم افزار SPSS برای تحلیل داده‌های کیفی از آزمون‌های مجذور کای و تست دقیق فیشر استفاده شد.

یافته ها :

محدوده سنی ۲۶۵ بیمار مورد بررسی از یک روز تا ۸۸ سال بود. ۱۷۰ نفر (۶۴/۲٪) مرد و ۹۵ نفر (۳۵/۸٪) زن بودند. بیشترین علت بستری در ۷۳ نفر (۲۷/۶٪) مالتیپل تروما، شایع‌ترین بیماری زمینه‌ای در ۱۱ نفر (۱۱/۸٪) دیابت، بیشترین مدت بستری مربوط به ۱۰۴ نفر (۵۲/۸٪) تا ۴ روز بود. بیشترین آنتی بیوتیک تجویز شده سفتریاکسون برای ۵۲ نفر(۱۹/۶٪) و بیشترین وسیله حمایتی کاتتر ادراری برای ۲۱۸ نفر (۸۲/۳٪) تعبیه شده بود. ۲۱۰نفر (۷۹/۲٪) بهبود یافتند (جدول ۱).

جدول ۱: کلونیزاسیون بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (ICU) مراکز آموزشی درمانی با سویه MRSA، به تفکیک متغیرهای مورد بررسی

متغیر		تعداد (درصد)
جنس	مذکر	۱۷۰ (۶۴/۲)
	مونث	۹۵ (۳۵/ ۸)
سن	تا یک سال	۲۲ (۸/۳)
	۱-۲۰	۳۸ (۱۴/۳)
	۲۱-۵۰	۹۸ (۳۷)
	۵۱-۸۸	۱۰۷ (۴۰/۴)
سابقه بستری	دارد	۹ (۳/۴)
	ندارد	۲۵۶ (۹۶/۶۲)
علت بستری	مالتیپل‌تروما	۷۳ (۲۷/۶)
	مسمومیت	۱۳ (۴/۹)
	سایر	۱۷۹ (۶۷/۵)
بیماری زمینه‌ای	دارد	۹۳ (۳۵/۱)
	ندارد	۱۷۲ (۶۴/۹)
مدت بستری	تا ۴روز	۱۴۰ (۸۲/۸)
	۵-۱۰ روز	۷۷(۲۹)
	بیش از ۱۱	۴۸ (۱۸/۲)
مصرف آنتی بیوتیک در مدت بستری	دارد	۲۲۵ (۸۴/۹)
	ندارد	۴۰ (۱۵/۱)
سرانجام بیمار	بهبودی	۲۱۰ (۴۰/۵)
	مرگ	۴۶ (۱۷/۴)
	انتقال	۸ (۳)
	عارضه	۱ (۰/۴)

به هنگام پذیرش، ۵۲ نفر (۱۹/۶٪) با سویه Methicillin sensitive *S..aureus* (MSSA) و ۳۲ نفر (۱۲/۴٪) حامل سویه MRSA شناخته شدند و کشت ۱۷۴ نفر (۶۵/۷٪) منفی بود. از میان ۱۷۴ نفر اخیر به هنگام ترخیص، ۱۱ نفر (۶/۳٪) با سویه MSSA و ۴۰ نفر (۲۳٪) با سویه MRSA کلونیزه شدند (جدول ۲). در ICU جراحی ۱۷ بیمار (۴۲/۵٪)، در ICU داخلی ۱۳ (۳۲/۵٪)، و دربخش‌های ICU زنان و کودکان هر کدام ۵ بیمار (۱۲/۵٪) با سویه MRSA کلنیزه شده‌اند. بین کلونیزاسیون MRSA و متغیرهای مورد بررسی فقط با متغیر مدت اقامت در بخش ICU رابطه معنی دار($P<0.05$) یافت شد.

جدول ۲: توزیع فراوانی حاملین (بدو پذیرش) و افراد کلنیزه شده (هنگام ترخیص) با سویه‌های *S.aureus*، در بخش‌های ICU مراکز آموزشی درمانی

سویه	حاملین	کلنیزاسیون
MSSA	(%۱۹/۶) ۵۲	(%۶/۳) ۱۱
MRSA	(%۱۲) ۳۲	(%۲۳) ۴۰
منفی	(%۶۵/۸) ۱۷۴	(%۵۱/۱) ۸۹
بدون نمونه	(%۲/۶) ۷	(%۱۹/۵) ۳۴
جمع	(%۱۰۰) ۲۶۵	(%۱۰۰) ۱۷۴

بحث:

از ۲۶۵ نفر ، در بدو پذیرش و هنگام ترخیص از بخش‌های ICU در ۴ مرکز آموزشی درمانی نمونه سواب بینی جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که هنگام پذیرش ۱۹/۶ درصد حامل سویه MSSA هستند. این میزان برای سویه MRSA به ۱۲/۴ درصد می‌رسد. در مطالعه مشابه در دو بخش ICU بزرگسال بیمارستان آموزشی دانشگاه علوم پزشکی سانتاکاسا (Santa Casa) برزیل به مدت ۳ ماه، تعداد حاملین سویه MRSA، ۴۶ درصد گزارش شده است (۱۱). حاملین سویه MRSA در مطالعه ۲ ساله (۹۴-۱۹۹۲) ۸۷۵ نفر دربخش ICU بیمارستان آموزشی مریلند امریکا ۱۹/۴ درصد بوده است(۱۲). این میزان در بیمارستان آموزشی پکن (۲۰۰۳) ۱۲/۱ درصد است (۱۳). از بین مطالعات فوق‌الذکر گزارش بیمارستان آموزشی پکن با نتایج مطالعه ما برابری می‌کند. نتایج در مطالعات کشورهای مختلف ، نظیر استرالیا در۲۰۰۱-۲۰۰۰ (۱۴) و اسکاتلند در ۲۰۰۳ (۱۵) هم به ترتیب۶/۸ درصد و ۳ درصد ، بسیار متفاوت است. البته مطالعات روند رو به افزایش این میزان را نشان می‌دهد (۱۶).

در مطالعه حاضر ۲۹/۳ درصد افرادی که در بدو پذیرش فاقد سویه‌های *S.aureus* (MSSA و یا MRSA) بودند، هنگام ترخیص با این سویه‌ها کلنیزه شده‌اند. (۳ /۶درصد با سویه MSSA و ۲۳ درصد با سویهMRSA). مطالعه در دو بخش ICU بزرگسال در برزیل کلنیزاسیون با سویهMRSA را هنگام ترخیص ۵۲ درصد گزارش می‌کند (۱۱). این میزان در بلژیک (۱۷)،فرانسه(۱۸)،آمریکا(۱۹)و ترکیه(۲۰) به ترتیب ۳۰/۱درصد، ۴۵ درصد ، ۴۳/۸ درصد و ۳۰/۹ درصد است. این میزان ضمن آنکه بیشتر از نتایج ما است ، حاکی از تفاوت در کشورهای مختلف و دلالت بر وجود مشکل جهانی دارد.

میزان کلنیزاسیون در بخش‌های ICU مراکز جراحی (۴۲/۵درصد)، داخلی (۳۲/۵ درصد)، زنان (۱۲/۵درصد) و کودکان و نوزادان (۱۲/۵درصد) متفاوت بود. اما، بین

کلنیزاسیون با سویهMRSA و نوع بخش ICU رابطه معنی دار یافت نشد. مطالعه ۶ ماهه در ترکیه (۲۰۰۲) این میزان را در ICU جراحی ۴۵/۱ درصد و در ICU داخلی ۳۳/۹ درصد گزارش می‌کند (۴). مطالعه در تایوان (۲۰۰۴) نیز این میزان را برای ICU نوزادان ۴۱/۳درصد نشان می‌دهد (۲۱). نتایج مطالعه ترکیه در دو بخش ICU جراحی و داخلی(۴) به نتایج ما نزدیک است.

بیشترین افراد کلنیزه شده با سویهMRSA از نظر جنس و سن به ترتیب مذکر و گروه سنی ۲۱ تا ۳۰ سال بود. البته با این دو متغیر هم رابطه معنی‌دار یافت نشد. مطالعات مشابه در برزیل (۲۲) و پاکستان (۲۳) هم رابطه بین کنیزاسیون و جنس را نشان نمی‌دهند. اما، سن بالای ۶۰ سال به عنوان عامل خطر در اکتساب سویه MRSA در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (۱۱،۲۰، ۲۳) .

با آنکه مالتیپل تروما در افراد کلنیزه شده بیشترین علت بستری بود، اما در این مورد هم رابطه معنی‌دار یافت نشد. مطالعه در برزیل (۲۲) مشابه یافته ما است در حالیکه در بلژیک مالتیپل تروما عامل خطر اکتساب سویه MRSA شناخته شده است (۱۷). درباره بیماری‌های زمینه‌ای هم با آنکه دیابت شایع بود اما همانند مطالعه در پاکستان (۲۳) رابطه معنی‌دار مشاهده نشد. درحالیکه در مطالعات مختلف در برزیل(۱۱) و آمریکا(۲۴) برای اکتساب سویه MRSA بیماری زمینه‌ای به عنوان عامل خطر شناخته شده است.

در مطالعه حاضر مدت اقامت در بخش ICU عامل خطر در اکتساب سویهMRSA شناخته شد. مطالعات دیگر هم در استرالیا (۱۴)، آمریکا (۲۴)، ۱۷ کشور غرب اروپا (۲۵) ، ترکیه (۲۶)، انگلستان (۲۷) هم این رابطه را نشان می‌دهند که با نتایج مطالعه حاضر همسو است.

سرانجام در این مطالعه ۸۲/۵ درصد افراد کلنیزه شده بهبود یافته و ۱۵درصد فوت نموده‌اند . مطالعات مختلف نشان می‌دهد که درصد قابل توجهی از افراد کلنیزه شده فوت کرده‌اند. لذا، کلنیزاسیون با سویهMRSA عامل افزایش مرگ و میر در بخش ICU شناخته شده است. به طوریکه این میزان در برزیل (۱۱) و آمریکا(۲۴) به ترتیب ۵۶ درصد و۵۰ درصد است. مطالعه در کشورهای غرب اروپا نشان می‌دهد که مرگ و میر در بیماران بستری در ICU و کلنیزه شده با سویه MRSA، ۳ برابر بیشتر از سایر بیماران است (۲۵).

نتیجه گیری :

وجود حاملین سویهMRSA در بدو پذیرش حکایت از حضور این ارگانیسم در خارج از بخش ICU دارد. در پی بستری شدن در بخش‌های ICU بیمارستان‌های دانشگاهی ، کلونیزاسیون در مقایسه با حاملین همین سویه به ۱/۹ برابر افزایش می‌یابد. به بیانی، این سویه از طریق بخش‌های ICU در سطح جامعه انتشار پیدا می‌کند. کلونیزاسیون فقط با متغیر مدت اقامت در بخشICU رابطه معنی‌دار نشان داد. علت عدم وجود رابطه معنی‌دار با سایر متغیرها ، در مقایسه با مطالعات دیگر، می‌تواند تعداد کم افراد کلنیزه شده باشد.

وجود حاملین و بروز کلنیزاسیون ما را به پیروی از دستورالعمل‌های جهانی هدایت می‌کند. اصول کنترل عفونت‌های بیمارستانی باید سامان دهی شود. چون مهم‌ترین عامل انتقال MRSA در مراکز درمانی دست پرسنل شناخته شده است، آموزش بهداشت دست برای تمام پرسنل به ویژه در بخش ICU یک ضرورت محسوب می‌شود (۲۸، ۲۹). سرانجام اگر در کنار اقدامات فوق‌الذکر تجویز منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها هم ساماندهی شود، شاید بتوان از افزایش میزان کلنیزاسیون MRSA هم در بیمارستان‌ها جلوگیری نمود، و آن را دست کم در همین حد نگهداشت.

تقدیر و تشکر:

این مطالعه ماحصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی قزوین است. سویه MRSA اهدائی آقای دکتر محمد رهبر از آزمایشگاه مرجع سلامت است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، از آقای دکتر محمد رهبر و از کلیه همکاران محترم در بخش‌هایICU مراکز آموزشی درمانی شهید رجایی، بوعلی سینا، کوثر و قدس که با همکاری بی‌شائبه امکان انجام مطالعه حاضر را میسر نمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید.

فهرست مراجع:

1. Singer MT, Guart J. ABC of intensive care. BMJ 1999;**319**: 306-8.

۲. نیکردان مفرد ح، ملاحت شیری. مراقبت‌های ویژه در ICU. چاپ پنجم، تهران، انتشارات نور دانس، ۱۳۸۰، ص۲

3.Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone , Philadelphia 3th ed, 1990;pp:2576-7.

4.Savas L, Duran N.Prevalence of MRSA in ICU in a university hospital. *Europ J Gener Med* 2005;2; 20-6.

5.Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*; 2008;**8**:747-63.

6.Muller M, Prenra A, Gubina M. Epidemiological typing of MRSA isolates from surgical wards and other sites of patients in the medical center Ljubljana. *Acta Dermatoven APA* 2004;**13:**24-30

7.Fridkin SK**,** Steward CD, Edwards JR, Pryor ER, McGowan JE Jr, Archibald LK, *etal*. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals:project ICARE phase 2. *Clin Infect Dis* 1999;**29**:245-52

8.Combes A, Luyt CE, Fagon JY, Wollf M, Trouillet JL, Gibert C, *etal*. Impact of methicillin resistance outcome of Staphylococcus aureus ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit care Med* 2004; **140**:789-92.

9.Sharifi M. *Application, Interpretation and principles of Biochemical Tests in Medical Microbiology.* Tabriz ;Ahrar Company. 2000; PP: 257-503.

10.Clinical and Laboratory Standards Institute. Antimicrobial susceptibility testing Standards M2-A9 and M7-A7. 2006.

11.Korn GP, Martino MD , Mimica IM, Mimica LJ, Chiavone PA, Musolino LR. High frequency of Colonization and absence of identifiable risk factors for MRSA in ICU in Brazil. *Brazil J Infect Dis* 2001 ;**5**: 47-9.

12.Hwwari A, Hendrix E, Hebden J, Edelman R, Martin M, Campbell W, *etal*. Phenoytpic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. *J Clin Microbiol* 1998;**36**:414-420.

13.Hop L. Carriage of MRSA cftazidime resistant gram negative bacilli and vancomycin resistant enterococci before and after ICU admission. *Crit Care Med J* 2003;**31**:1175-89.

14.Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselingh S, Spelman D .Acquisition of MRSA in a large intensive care unit. *Infect Control Hops Epidemiol*2003;**24**:372-6.

15.Porter R., Subramani K., Thomas A.N., Chadwick P. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* on admission to intensive care: incidence and prognostic significance. *Intensive Care Med* 2003;**29**:655-8.

16.Jacobes RF, Beavers. Arkansas children's hospital outpatient *S.aureus* isolates. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2004;9:82-8.

17.Vincent JL, Bilari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, *etal*.The prevalence of nosocomial infections in intensive care unit in Europe: Results of EPIC study. EPIC international Advisory Committee. *JAMA* 1995;**274**:639-44.

18.Girou E, Pujade G, Legraned P, Cizeau F, Brun-Buisson C. Selective screening of carrier for control of MRSA in high risk hospital areas with a high level of endemic MRSA. *Clin Infect Dis* 1998;**27**:543-50.

19. Ridenour GA, Worg ES, Call MA, Clino MW. Duration of colonization with MRSA among patients in the ICU: Important for intervention . *Infect Control Hospit Epidemiol*2006;**27**:271-8.

20.Meric M, Wilke A, Caglayan C, Toker K. ICU-acquired infections incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. *Jpan J Infect Dis* 2005;**58**:297-302.

21.Chering Huang Y, Hong Chov Y. MRSA colonization and it's association with infection among infants hospitalized in neonatal intensive care units. *Pediatr J* 2005;**118**:469-74.

22.Silvana M M, Cavalcanti E R, Marinalda A, Montenegro VF, Menezes D, Medeiros Â C R. Prevalence of *S.aureus* introduced into ICUs of a university hoppital . *Brazil J Infect Dis* 2005;**9**:41-86.

23.Khurram IM, Khan SA, Khawaja AA, Khan R, Khorkh SA, Khan TA, *eta*l. Risk factors for clinical infection in patients colonized with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Pak Med Assoc*2004;**54**:408-12.

24.Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA. MRSA in the ICU. *Post Graduate Med J* 2002;**78**:385-92.

25.Iblings MM, Bruining HA. MRSA acquisition and ris factor of death in patients in the ICU. *Eur J Surg* 1998;**164**:411-8.

26.Oztoprak N, Cevik MA, Akinci E, Korkmaz M, Erbay A, Eren SS, *etal*. .Risk factors for ICU-acquired MRSA infections. *Am J Infect Control* 2006;**34**:1-5.
27.Thompson MB. MRSA in a general ICU. *J R Soc Med* 2004**;97**:521-6.
28.Sharifi M, Ghorbani A, Soltani Khaymehsary Z, Shafikhani M, Molapour A, Alipour Haydari M. Effectiveness of Hand hygiene education on the removal of hospital pathogenic organisms from the health care worker's hands. 17th Iranian congress on infectious disease and tropical medicine. 20-24 Dec. 2008; PP: 83.
29. Sharifi M, Ghorbani A, Soltani Khaymehsary Z, Shafikhani M, Molapour A, Alipour Haydari M, etal. Percentage change of hand's microbial contamination among health care worker's hands in Takestan hospital. 17th Iranian congress on infectious disease and tropical medicine. 20-24 Dec. 2008; PP: 157.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۵۴-۴۷

بررسی فراوانی و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت بیمارستانی بخش مراقبت ویژه بیمارستان بعثت تهران در سال ۱۳۸۶

مژگان محمدی مهر[۱*]، محمد مهدی فیض آبادی[۲]، عذراء بهادری[۳]، محسن متشکر آرانی[۴]، مریم خسروی[۵]

۱)گروه علوم آزمایشگاهی ، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش
۲)گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳)کارشناس بیوتکنولوژی
۴) مشاور آمار ، دانشگاه علوم پزشکی ارتش
۵)آزمایشگاه بیمارستان بعثت
نویسنده رابط: مژگان محمدی مهر، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی ارتش
همراه:۰۹۱۲۲۵۹۳۳۲۶ mojganmehr20@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۸/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۱/۱۵

چکیده:

زمینه و اهداف: عفونت‌های بیمارستانی با افزایش طول مدت بستری و هزینه‌های درمان و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مسئول عفونت همراه است. این عفونت‌ها از معضلات عمده بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه بیمارستان‌ها می‌باشند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت‌های بیمارستانی در بخش مراقبت ویژه بیمارستان بعثت تهران صورت گرفت.

روش بررسی: مطالعه به روش مقطعی- توصیفی به مدت یک سال از ابتدای اردیبهشت ۱۳۸۶ تا پایان اردیبهشت ۱۳۸۷ بر روی باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت بیمارستانی در بخش مراقبت ویژه بیمارستان بعثت انجام گرفت. پس از شناسایی ایزوله‌های باکتریایی در حد جنس و گونه، آزمون حساسیت میکروبی به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون مجذور کای استفاده شد.

یافته ها: از ۱۶۵ بیمار بستری در بخش مراقبت ویژه، ۶۵ نفر(۳۹/۳٪) مبتلا به عفونت بیمارستانی توسط باکتری‌های گرم منفی شدند. شایع‌ترین باکتری‌های گرم منفی جدا شده *کلبسیلا پنومونیه* با ۳۰ ایزوله(۴۶/۲٪) بود. فراوانترین موارد عفونت، ۵۱ مورد پنومونی(۷۸/۵٪) بود. موثرترین آنتی بیوتیک‌ها سفوتاکسیم کلاونیک اسید، سفتازیدیم کلاونیک اسید، آمیکاسین و ایمی پنم شناخته شدند. تمام ایزوله‌ها به آمپی سیلین مقاومت بین ۸۰ تا ۱۰۰٪ نشان دادند. سابقه جراحی و مصرف آنتی‌بیوتیک با ابتلاء به عفونت بیمارستانی رابطه معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه گیری : شایع ترین باکتری *کلبسیلا پنومونیه* و شایع‌ترین عفونت پنومونی می‌باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها بالا است. ابتلاء به عفونت با برخی متغیرها مانند سابقه جراحی و مصرف آنتی بیوتیک رابطه معنی دار دارد.

کلید واژه ها: عفونت بیمارستانی، باکتری‌های گرم منفی، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه:

عفونت بیمارستانی به عفونتی گفته می‌شود که پس از پذیرش بیمار در بیمارستان (۴۸ یا ۷۲ ساعت بعد) یا طی دوره‌ای مشخص (۱۰ تا۳۰ روز) پس از ترخیص بیمار (۲۵ تا ۵۰٪ عفونت‌های زخم جراحی، پس از ترخیص بیمار ظاهر می‌گردند) رخ دهد. این عفونت نباید در زمان پذیرش بیمار وجود داشته و در دوره نهفتگی خود نیز نباید قرار داشته باشد(۱). احتمال ابتلاء به این عفونت‌ها در بیمارستان‌های آمریکا ۵تا۱۰ درصد است، که حدوداً یک درصد آنها کشنده و ۴ درصد دیگر در مرگ و میر دخالت دارند، و حدود ده میلیون دلار در سال هزینه دارند (۲).

عفونت‌های بیمارستانی ازعلل شایع و مهم مرگ و میر، ناتوانی، افزایش طول مدت بستری، تحمیل و افزایش هزینه‌های بیمارستانی و بروز مشکلات بهداشتی هستند. اگرچه تلاش‌های صورت گرفته در زمینه کنترل عفونت‌های بیمارستانی با موفقیت‌هایی همراه بوده است، اما انجام برخی مداخلات پزشکی مکرر از جمله مصرف وسیع داروهای مهارکننده سیستم ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌ها موجب افزایش افراد آسیب‌پذیر و تشدید و توسعه ایجاد مقاومت‌های قابل انتقال در عوامل بیماریزا شده است. این عفونت ها به سختی درمان شده، گاهی منجر به مرگ بیماران گشته و خطر در حال افزایش محسوب می‌شوند. این عفونت‌ها تقریباً تمام افراد بستری شده در بیمارستان‌ها را تهدید می‌کنند. درمان عفونت‌های بیمارستانی با توجه به مقاومت اغلب سویه‌های میکروبی بسیار مشکل و به علت طولانی شدن زمان بستری بیماران، پر هزینه می‌باشد(۳).

بیماران در بخش مراقبت ویژه ۷-۵ بار بیشتر از سایر بیماران بستری دچار عفونت بیمارستانی می‌شوند. از جمله ارگانیسم‌های مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی باسیل‌های گرم منفی هستند که یکی از علل اصلی مرگ ومیر بیماران در این بخش می‌باشد. از علل افزایش عفونت‌های بیمارستانی می‌توان به مختل شدن دفاع ایمنی بیماران، استفاده از روش‌های تهاجمی و انواع کاتترها ، تماس با آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف و کلونیزاسیون میکروارگانیسم‌های مقاوم نام برد(۴). هدف از مطالعه حاضر تعیین باکتری‌های گرم منفی شایع مسئول عفونت بیمارستانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در بیماران بستری شده در بخش مراقبت ویژه بیمارستان بعثت تهران در سال ۱۳۸۶ بود.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه مقطعی توصیفی، بیماران بستری در بخش مراقبت ویژهICU بیمارستان بعثت در یک دوره یک ساله (اردیبهشت ۱۳۸۶تا ۱۳۸۷) بررسی شدند. باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت بیمارستانی جدا شده از بیماران توسط آزمایشگاه میکروب‌شناسی آن بیمارستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ارتش منتقل گردید. در این مطالعه ۶۵ ایزوله گرم منفی از مبتلایان به عفونت بیمارستانی به دست آمد. جهت تشخیص ایزوله‌ها و حصول اطمینان از جنس و گونه آنها، تست‌های بیوشیمیایی استاندارد انجام گرفت. ابتدا رنگ‌آمیزی گرم، تست اکسیداز و کاتالاز بر روی ایزوله‌های خالص انجام شد. سپس با تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند.کنترل ترکیبات و واکنش‌های بیوشیمیایی با سویه‌های شاهد *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و سویه *E.coli* ATCC2599 انجام شد (۵).

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با تست دیسک دیفیوژن به روش کربی- بوئر بر اساس پروتکل (CLSI) *Clinical and laboratory standards institute* تعیین شد. نتایج بعد از ۱۸ ساعت با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و با مقایسه با آخرین جداول در دسترس قرائت و ثبت شد(۶،۵).

آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده شامل جنتامایسین، پیپراسیلین تازوباکتام، سفی‌پیم، آمپی‌سیلین، تری‌متوپریم سولفومتوکسازول، نیتروفورانتوئین، سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، آمیکاسین، ایمی‌پنم، پیپراسیلین و سفترياکسون (شرکت Hi Media هند) بود. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفتازیدیم کلاونیک اسید، سفوتاکسیم کلاونیک اسید محصول شرکت MAST انگلستان بود. قطر هاله‌های حاصل از این تست با جداول استاندارد ذکر شده توسط شرکت‌های Hi Media و MAST مقایسه گردید. از سویه‌های شاهد *P. aeruginosa* ATCC 27853و سویه *E.coli* ATCC2599 و سویه *Staphylococus aureus* ATCC 25923 برای کنترل کار استفاده شد(۵).

مسایل اخلاق پزشکی و حقوق بیماران بر اساس معاهدات بین‌المللی و نظرات کمیته منطقه‌ای اخلاق پزشکی رعایت گردید. شاخص‌های آماری با کمک نرم افزار SPSS ویراست ۱۶

محاسبه شد .از تست آماری Chi-Square برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای مقادیر معنی‌دار، p< ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

در مدت مطالعه حاضر ۱۶۵ بیمار در بخش ICU1 بیمارستان بعثت بستری شدند. از این تعداد ۱۱۳(۶۸/۵٪) نفر مرد و ۵۲ نفر (۳۱/۵٪)زن بودند. میانگین سنی افراد ۶۱/۴۴ سال که کمترین آنها ۵ سال و بیشترین آنها ۹۰ ساله بودند. از این تعداد ۱۰۳ نفر به عفونت بیمارستانی مبتلا شدند. عامل عفونت در ۶۵ نفر (۳۹/۴٪) باکتری‌های گرم منفی و در ۳۸ نفر (۲۳٪) باکتری‌های گرم مثبت و عوامل قارچی بود. میانگین سنی در گروهی که با باکتری‌های گرم منفی دچار عفونت شده بودند ۶۲/۸۴ سال و در گدوهی که عامل عفونت در آنها باکتری‌های گرم مثبت و عوامل قارچی بود ۵۸/۷۴ سال و در افرادی که دچارعفونت بیمارستانی نشدند ۶۱/۶۰ سال بود. از نظر سنی بین دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به عفونت بیمارستانی ،اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بیشترین علت بستری در بخش مراقبت ویژه در دو گرو مبتلا و غیر مبتلا به عفونت بیمارستانی به ترتیب جراحی (۲۳٪) و سکته قلبی (۱۹٪). از این نظر اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) وجود داشت.

میانگین تعداد روزهای بستری در بیمارانی که با باکتری‌های گرم منفی به عفونت بیمارستانی مبتلا شدند ۱۹/۷ روز، در بیمارانی که عامل عفونت آنها باکتری‌های گرم مثبت بود ۱۳/۱۳ روز، و در گروه غیر مبتلا ۷/۴ روز بود. میانگین تعداد روزهای استفاده از ایمپلنت در تمام بیماران بخش مراقبت ویژه ۴/۲۷ روز بود.

این میزان در مبتلایان به عفونت بیمارستانی با باکتری‌های گرم منفی ۱/۸ روز ، در بیمارانی که عامل عفونت آنها باکتری‌های گرم مثبت و عوامل قارچی بود ۶/۱۵ روز بود. از این نظراختلاف معنی دار یافت شد (P<۰/۰۵).

در بررسی عوامل خطر ساز زمینه‌ای، بین سابقه جراحی و مصرف آنتی‌بیوتیک با ابتلاء به عفونت بیمارستانی رابطه معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵).

عفونت‌های بیمارستانی به‌ترتیب پنومونی (۷۸/۵٪)، عفونت ادراری (۱۸/۵٪) و زخم بعد از جراحی (۳٪) بود.

۶۵ ایزوله باکتری گرم منفی شامل ۶ گونه باسیل گرم منفی بود. *کلبسیلا پنومونیه* با۳۰ ایزوله (۴۶/۱٪) شایع‌ترین آنها بود (جدول ۱).

نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیاکلی و پسودوموناس آئروژینوزا*، که بیشترین فراوانی را داشتند، به ترتیب در جدول‌های ۲،۳و۴ مشخص شده‌است. موثرترین آنتی بیوتیک‌ها بر روی ۳ ایزوله مذکور شامل ایمی پنم، سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاونیک اسید روی *کلبسیلا پنومونیه* و در مورد *اشریشیاکلی* ایمی پنم، نیتروفورانتوئین، سفوتاکسیم کلاونیک اسید و در مورد *پسودوموناس آئروژینوزا* ایمی پنم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین بود.

تمام ایزوله‌های *استنیتوباکتر بومانئی* به سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین، سفی‌پیم، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، نیتروفورانتوئین، آمپی‌سیلین، سفتازیدیم کلاونیک اسید و سفوتاکسیم کلاونیک اسید مقاوم بودند. ایزوله‌های *انتروباکتر آئروژنز* به به آمپی سیلین مقاومت ۱۰۰٪ ، و نسبت به ایمی پنم حساس بودند. تنها ایزوله *سراشیا مارسنس* فقط به ایمی پنم و نیتروفورانتوئین حساس بود.

جدول ۱: باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت‌های بیمارستانی در بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه، بیمارستان بعثت

باکتری	تعداد	درصد
کلبسیلا پنومونیه	۳۰	۴۶/۱
اشریشیا کلی	۱۵	۲۳/۱
پسودوموناس آئروژینوزا	۱۰	۱۵/۴
استنیتوباکتر بومانئی	۵	۷/۷
انتروباکتر آئروژنز	۴	۶/۲
سراشیا مارسنس	۱	۱/۵

جدول ۲: نتایج آنتی بیوگرام *کلبسیلا پنومونیه*

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
جنتامایسین	۱۴(۴۶/۷)	۰(۰)	۱۶(۵۳/۳)
سفوتاکسیم کلاونیک اسید	۲۴(۸۰)	۰(۰)	۶(۲۰)
سفتازیدیم کلاونیک اسید	۹(۳۰) ۹(۳۰)	۳(۱۰)	۱۸(۶۰)
پیراسیلین تازوباکتام	۰(۰)	۳(۱۰)	۱۸(۶۰)
آمپی سیلین	۹(۳۰)	۰	۳۰(۱۰۰)
تری متوپریم سولفومتوکسازول	۷(۲۳/۳)	۳(۱۰)	۱۸(۶۰)
نیتروفورانتوئین	۸(۲۶/۷)	۵(۱۶/۷)	۱۸(۶۰)
سپروفلوکساسین	۲۴(۸۰)	۴(۱۳/۳)	۱۸(۶۰)
سفوتاکسیم	۷(۲۳/۳)	۰(۰)	۶(۲۰)
سفتازیدیم	۴(۱۳/۳)	۰(۰)	۲۳(۷۶/۷)
سفی پیم	۶(۲۰)	۱(۳/۳)	۲۵(۸۳/۳)
آمیکاسین	۳۰(۱۰۰)	۴(۱۳/۳)	۲۰(۶۶/۷)
ایمیپنم	۴(۱۳/۳)	۰(۰)	۰(۰)
پیپراسیلین	۶(۲۰)	۰(۰)	۲۶(۸۶/۷)
سفتریاکسون		۴(۱۳/۳)	۲۰(۶۶/۷)

جدول ۳: نتایج آنتی بیوگرام *اشریشیاکلی*

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
جنتامایسین	۱۰(۶۶/۷)	۰(۰)	۵(۳۳/۳)
سفوتاکسیم کلاونیک اسید	۱۰(۶۶/۷)	۰(۰)	۵(۳۳/۳)
سفتازیدیم کلاونیک اسید	۸(۵۳/۳)	۱(۶/۷)	۶(۴۰)
پیپراسیلین تازوباکتام	۹(۶۰)	۱(۶/۷)	۵(۳۳/۳)
آمپی سیلین	۰(۰)	(۰)۰	۱۵(۱۰۰)
تری متوپریم سولفومتوکسازول	۵(۳۳/۳)	۱(۶/۷)	۹(۶۰)
نیتروفورانتوئین	۱۲(۸۰)	۱(۶/۷)	۲(۱۳/۳)
سپروفلوکساسین	۷(۴۶/۷)	(۰)۰	۸(۵۳/۳)
سفوتاکسیم	۶(۴۰)	۱(۶/۷)	۸(۵۳/۳)
سفتازیدیم	۷(۴۶/۷)	۱(۶/۷)	۷(۴۶/۷)
سفی پیم	۳(۲۰)	(۰)۰	۱۲(۸۰)
آمیکاسین	۱۳(۸۶/۷)	۰(۰)	۲(۱۳/۳)
ایمیپنم	۱۵(۱۰۰)	۰(۰)	۰(۰)
پیپراسیلین	۱۲(۸۰)	(۰)۰	۳(۲۰)
سفتریاکسون	۶(۴۰)۶	۱(۶/۷)	۸(۵۳/۳)

جدول ۴ : نتایج آنتی بیوگرام *پسودوموناس آئروژینوزا*

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
جنتامایسین	۷(۷۰)	۰(۰)	۳(۳۰)
سفوتاکسیم کلاونیک اسید	۵(۵۰)	۲(۲۰)	۳(۳۰)
سفتازیدیم کلاونیک اسید	۴(۴۰)	۲(۲۰)	۴(۴۰)
پیراسیلین تازوباکتام	۶(۶۰)	۲(۲۰)	۲(۲۰)
آمپی سیلین	۲(۲۰)	۰(۰)	۸(۸۰)
تری متوپریم سولفومتوکسازول	۱(۱۰)	۱(۱۰)	۸(۸۰)
نیتروفورانتوئین	۰(۰)	۰(۰)	۱۰(۱۰۰)
سپروفلوکساسین	۸(۸۰)	۰(۰)	۲(۲۰)
سفوتاکسیم	۳(۳۰)	۴(۴۰)	۳(۳۰)
سفتازیدیم	۶(۶۰)	۰(۰)	۴(۴۰)
سفی پیم	۴(۴۰)	۰(۰)	۶(۶۰)
آمیکاسین	۸(۸۰)	۰(۰)	۲(۲۰)
ایمیپنم	۸(۸۰)	۰(۰)	۲(۲۰)
پیپراسیلین	۶(۶۰)	۰(۰)	۴(۴۰)
سفتریاکسون	۳(۳۰)	۳(۳۰)	۴(۴۰)

بحث:

در طی این مطالعه از ۱۶۵ بیمار بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان بعثت، ۶۵ نفر (۳۹/۴درصد) به عفونت با باسیل‌های گرم منفی مبتلا شدند. از ۶ گونه باسیل گرم منفی جدا شده، شایع‌ترین آنها *کلبسیلا پنومونیه* و شایع‌ترین عفونت پنومونی بود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها بالا است.

ایجاد بخش مراقبت‌های ویژه، و پیشرفت در درمان، باعث بهبودی بیمارانی شده است که محکوم به مرگ بودند. از طرفی طولانی شدن مدت بستری این بیماران و استفاده از انواع دستگاه‌های نگهدارنده و مانیتورینگ تهاجمی و انواع کاتترهای عروقی، باعث پیدایش عفونت‌های بیمارستانی، در این بخشها گردید. این موضوع به علت واکنش‌های متابولیک و ایمونولوژیک نارسایی سایر ارگان‌ها را به دنبال دارد. به‌طور کلی عفونت‌های بیمارستانی آن دسته از عفونت‌هایی هستند که، در زمان پذیرش بیمار وجود نداشته است . این عفونت‌ها بعد از ۷۲ ساعت به‌صورت آندمیک یا اپیدمیک تظاهر نموده و باعث مرگ ومیر فراوان و افزایش هزینه می شوند. میزان این عفونت‌ها در بخش ICU ۵ تا۱۰ برابر بخش‌های دیگر است(۷).

عواملی که خطر عفونت بیمارستانی را در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه افزایش می دهد عبارتند از: وخامت بیماری، استرس‌های فیزیولوژیکی و روانی، سن و سایر عوامل منجر به مرگ، استفاده نامناسب از آنتی بیوتیک‌ها و افزایش ارگانیسم‌های مقاوم به آنتی بیوتیک، دارو درمانی برای استرس اولسر، سوءتغذیه پروتئینی و عوامل حضور پرسنل که منتقل کننده عفونت در بین بیماران است. به جز عامل آخر، سایر علل، توسط تغییر پاسخ ایمنی بیمار، باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌گردند (۹-۷)

میزان وقوع عفونت‌های بیمارستانی به‌طور کلی بین ۵ تا ۱۵ درصد تخمین زده می‌شود. از حداقل ۲میلیون عفونت بیمارستانی که هر ساله در آمریکا اتفاق می‌افتد، حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد توسط سویه‌های مقاوم باکتری‌ها ایجاد می‌شود. این میزان بالای مقاومت باعث افزایش ابتلاء ، مرگ و میر و هزینه‌ها شده است . به طوری که در آمریکا عفونت‌های بیمارستانی باعث بیش از ۷۷ هزار مرگ در سال بوده است ، و سالانه هزینه‌ای بین ۵ تا ۱۰ میلیارد دلار را در پی دارد (۱۱،۱۰).

شیوع عفونت بیمارستانی در پژوهش حاضر توسط باکتری‌های گرم منفی ۳۹ درصد بود که از میزان شیوع عفونت بیمارستانی ICU ذکر شده در منابع عفونی همچون کتاب مندل که شیوع آن را ۲۰-۵ درصد ذکر کرده بیشتر است(۱۲).

در مطالعه حاضر بین سن و عفونت بیمارستانی رابطه معنی داری یافت نشد که با مطالعه بیمارستان توحید سنندج هماهنگی دارد(۱۳). در حالیکه در مطالعات انجام شده در بیمارستان‌های امام خمینی و دیگر بیمارستان‌ها بین افزایش سن و عفونت بیمارستانی رابطه معنی داری وجود داشته است(۱۴، ۱۵).

شایع‌ترین باسیل‌های گرم منفی عامل عفونت بیمارستانی در این مطالعه، *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیاکلی* بوده است. در مطالعات مختلف ارگانیسم شایع متفاوتی گزارش شده‌است. به‌طور در یک مطالعه در هند، *پسودوموناس آئروژینوزا*(۳۶/۶درصد) و بعد *کلبسیلا پنومونیه* (۲۰/۶درصد) بوده است(۱۶) در مطالعه‌ای در برزیل پسودوموناس (۳۳درصد) شایع‌ترین و سپس اسینتوباکتر(۱۷/۱درصد)و کلبسیلا(۱۲/۱درصد) بوده است(۱۷).

شایع‌ترین عفونت بیمارستانی در این مطالعه پنومونی (۷۸/۵درصد) بود که با مطالعات انجام شده در ایالات متحده (۶۴درصد) و ایتالیا(۴۵/۵ درصد)، که در هر دو پنومونی به عنوان شایع‌ترین عفونت بیمارستانی ذکر شده است هماهنگی دارد و با اکثر مطالعات دیگر از جمله مطالعاتی که در هند و عمان انجام شده است هماهنگی دارد((۲۱-۱۸).

در این مطالعه ایمی‌پنم موثرترین آنتی‌بیوتیک علیه تمام سویه‌های گرم منفی جدا شده بود که با نتایج مطالعاتی که در برزیل و تهران انجام شده و کلبسیلا به ایمی پنم حساسیت نشان داده هماهنگ است (۲۲،۱۷).

اسینتوباکتر نسبت به بقیه ایزوله‌های گرم منفی بیشترین میزان مقاومت را نشان داد. در واقع *اسینتوباکتر بومانئی* به ۹ آنتی‌بیوتیک مقاومت (۱۰۰ درصد) داشت. در مطالعه‌ای که در شیکاگو انجام گرفته اسینتوباکتر در برابر تمام آنتی بیوتیک‌های روتین در دسترس مقاوم بوده و با مرگ و میر بالایی همراه بوده است (۲۳). در اسپانیا سال ۲۰۰۴ نیز نتایج مشابهی حاصل شده است(۲۴). در مطالعه فیض آبادی و همکاران ، *اسینتوباکتر بومانئی* به سفتازیدیم ، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین ، جنتامایسین و آمپی سیلین مقاومت بالای ۸۳٪ تا ۱۰۰٪ نشان دادند(۲۴). در مطالعات آمریکا مقاومت به حداقل سه دارو در سال ۲۰۰۱، ۷/۲درصد در سال ۲۰۰۲ به ۸/۸ درصد و در سال ۲۰۰۳ به ۲۹/۷ درصد رسیده است. افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها با افزایش مصرف آنها همراه بوده است (۴).

ایزوله‌های مورد مطالعه بیشترین میزان مقاومت را به آمپی‌سیلین سپس سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون نشان دادند. که در مطالعات صورت گرفته در دیگر مناطق، مقاومت به بتالاکتام‌ها مشاهده شده‌است. با توجه به این که بتالاکتام‌ها از جمله پر مصرف‌ترین آنتی بیوتیک‌ها در تمام دنیا می‌باشند، ایجاد مقاومت به آنها در دو دهه اخیر یک بحران مهم بالینی محسوب می‌گردد. در کشور ما نیز سفالوسپورین‌ها به‌خصوص سفتریاکسون به‌دلیل کم عارضه بودن به‌وفور استفاده می‌شود که با خطر افزایش مقاومت همراه می‌باشد(۴).

نتیجه‌گیری:

در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان بعثت بیش از یک سوم عفونت‌های بیمارستانی را باسیل‌های گرم منفی ایجاد می‌کنند. عوامل این عفونت‌ها محدود به ۶ گونه باکتری است که شایع‌ترین آنها *کلبسیلاپنومونیه* است، و شایع‌ترین عفونت پنومونی می‌باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها بالا است. ابتلاء به عفونت با برخی متغیرها مانند سابقه جراحی و مصرف آنتی بیوتیک رابطه معنی دار دارد.

با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی میکروارگانیسم‌های مسئول عفونت بیمارستانی، مانیتورینگ و انجام آزمون‌های حساسیت آنتی‌بیوتیک قبل از تجویز دارو از اهمیت بسزایی در انتخاب صحیح درمان، کنترل عفونت بیمارستانی و کنترل مقاومت دارویی خواهد داشت.

تقدیر و تشکر:

از کمک مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش و همکاری صمیمانه خانم حاجی پروانه در بخش ICU بیمارستان بعثت و آقای سید مجتبی گلبو مسئول دایره بالینی در دانشکده پزشکی ارتش که در تهیه فرم‌های کامپیوتری و جداول مورد نیاز طرح همکاری نمودند کمال تشکر و سپاس را دارد.

فهرست مراجع:

1. Robert P. Gaynes. Surveillance of Nosocomial Infections. In: John V. Bennett Philip S. Brachman, ed.. *Hospital infection*, 4th edition, U.S.A. Lippincott - Raven, 1998:PP : 65-84
2. Weinstein RA. Hosptial acquired infections In: *Harrison principles of internal medicine*.16th ed. USA; Mc Graw Hill.2005; PP:775-781

۳. رنجبر رضا، حسینی سید محمد جواد. معرفی یک بیمار مولتیپل تروما با تب و سپتی سمی با نتیجه کشت مثبت پسودوموناس و آسینتوباکتر. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام*. تابستان ۱۳۸۷، دوره شانزدهم: شماره ۲، صص ۱۶ تا ۱۹.

۴. حدادی آذر، رسولی نژاد مهرناز، ملکی زهره، احمدی سید علی، ندا ضیاء بشر حق. بررسی الگوی مقاومت میکروب‌های گرم بیمارستانی با روش E-Test در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌های سینا و امام خمینی تهران۸۴-۸۳. *فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری زمستان* ۱۳۸۵، سال یازدهم: شماه۳۵، صص ۴۷ تا ۵۳.

۵. شارون اس. رولند، شریلر اس والش، لوییس دی تیل، امی ام کارناهان. راهنمای آزمایشگاهی تشخیص باکتری‌های بیماریزا و میکروب شناسی بالینی. ترجنه فلسفی طاهره، عبدی عالی احیاء. چاپ اول. تهران، دانشگاه الزهراء، ۱۳۸۳،صص ۱۰۳-۱۸۵

6. National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS for Disk diffusion Antimicrobial Susceptibility test for bacteria grown aerobically. 4th.ed. Approved Standard M7-A4.Wayne PA,USA,NCCLS.2000

۷. غیاثوندیان شهرزاد. عفونت‌های بیمارستانی در بخش مراقبت ویژه(ICU). کتابچه آموزشی. آنلاین

8 Marik, Paule. The Icu therapeutics hand book. St louis, Mosby Co., 1996, PP: 240-253..

9. Worth Buher. Intensive Care Manual T. G. OH. 4th ed. Oxford, Heineman Co. 1997:PP:540-549.

10. Jones RN. Resistance pattern Among Nosocomial Pathogens . *Chest*. 2001; **120**:2089 -2093

11. Eggimann P, Pittet D. Infection Control in the ICU, *Chest* , 2001; 120: 2059-2069 – 2093

12. Edmond MB,wenzel RP. Nosocomial infection In: *Principles and Practice of infectious Diseases*. GL Mandell, JE Bennett, R Dolin,ed. 5th ed. Volume V. New York: Churchill livingstone 1999; PP: 2988

۱۳. حاجی باقری کتایون، افراسیابیان شهلا. بررسی اپیدمیولوژیک عفونت‌های بیمارستانی در بیماران بستری در بخش‌های ICU وPOST ICU و برخی عوامل مرتبط با آن در بیمارستان توحید شهر سنندج در سال ۸۲-۸۱. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان*. زمستان ۱۳۸۴: دوره دهم، صص ۴۴ تا ۵۰

۱۴. میر مهدوی ف. مطالعه عفونت‌های بیمارستانی در بیمارستان امام خمینی تبریز. کتابچه خلاصه مقالات یازدهمین کنگره بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران. تهران، ۱۳۸۱، صص ۴۶ تا ۴۸.

۱۵. رمضانی آمیتیس. بررسی وضعیت عفونت بیمارستانی ناشی از آنتروکوک در بعضی از بیمارستان‌های تهران، *مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری*،۱۳۸۱ دوره هفتم: شماره نوزدهم،صص ۱۱ تا ۱۵

16. Orrett FA. Nosocomial infections in intensive care unit in a private hospital. *West India Med J.* 2002 Mar: 51(1):21-4

17. Mendes C, Oplustil C, Sakagami E, Turner P, Kiffer C; MYSTIC Brazil Group. Antimicrobial susceptibility in intensive care units: MYSTIC Program Brazil 2002. *Braz J Infect Dis*. 2005 Feb;**9**(1):44-51

18. Michael J, Jonathan R, David H, Robert P. Nosocomial infections in medicl intensive care in the United State. *Crit Care Med* 1999: **27**(5):887-892

19. Luzzati R, Antozzi L,Bellocco R, Del Bravo P, Mirandola M, Procaccio F and *et al*. Prevalence of nosocomial infections in intensive care units in Triveneto area Italy. *Minerva Anestesiol* 2001:**67**(9):647-52

20. Orrett FA. Nosocomial infections in an intensive care unit in a private hospital. *West Indian Med J.* 2002 .Mar;**51**(1):21-4

21.Al-Lawati AM, Crouch ND, Elhag KM. Antibiotic consumption and development of resistance among gram negative bacilli in intensive care units in Oman. *Ann Saudi Med*,2000; **20**:324-327

22 Feizabadi MM, Etemadi G,Yadegarinia D, Rahmati M, Shabanpoor S,Bokaei S. Antibiotic-resistance patterns and frequency of extended-spectrum b-lactamase producing isolates of

Klebsiella pneumoniae in Tehran. *Med Sci Monit*, 2006; **12**(11): BR362-365

23. Jain R, Danziger LH. Multidrug resistant Acinetobacter infections: an emerging challenge to clinicians. *Ann Pharmacother* 2004;**38**:1449-59

24. Iglesias de SH, Miron-Canelo JA, Fresnadillo Martinez MJ, Saenz Gonzalez MC. Epidemiological study and effect on antimicrobial use in the genus Acinetobacter in a university hospital. *Rev Esp Quimioter* 2004;**17**:177-183

25. Feizabadi MM, Fathollahzade B, Taherikhani M, Rasoolinejad M,Sadeghifard N, Aligholi M and *et al*. Antimicrobial Susceptibility Patterns and Distribution of bla_{OXA} Genes among Acinetobacter spp. Isolated from Patients at Tehran Hospitals. *Jpn. J. Hnfect.Dis* 2008;**61**:274-278

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۶۰- ۵۵

مقایسه دو روش اسکراب با بتادین و مالش جراحی در کاهش بار میکروبی پوست دست تیم جراحی

اعظم قربانی[۱*]، زهرا سلطانی خیمه سری[۲]، اعظم ملا پور[۳]، مهین شفیع خانی[۲]

۱) دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۲) دانشکده بهداشت و پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۳) آزمایشگاه مرکز آموزشی درمانی شهید رجایی قزوین
نویسنده رابط: ، اعظم قربانی، دانشکده پرستاری و مامایی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
تلفن :۰۲۸۱-۲۲۳۷۲۶۸ ghorbani_az@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۴/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۰/۱۹

چکیده:

زمینه و اهداف: آلودگی دست نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارد. اسکراب جراحی نیز یکی از عوامل مهم کنترل عفونت‌های بیمارستانی است . هدف ازانجام این مطالعه مقایسه دو نوع اسکراب با بتادین(روتین) و مالش جراحی بر میزان کاهش بار میکروبی دست‌های تیم جراحی بود.

روش بررسی: این مطالعه با طراحی کارآزمایی بالینی در طی سال۱۳۷۸ انجام شد. نمونه‌ها از بین اعضاء تیم جراحی در ۴ مرکز آموزشی درمانی باروش نمونه گیری سهمیه‌ای به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. افراد مورد نظر به دو گروه روش روتین و روش مالش جراحی (hand rub) تقسیم شدند. ابتدا از نوک انگشتان و شست (در محیط بلاد آگار)و نیز نمونه دست (از طریق قرار دادن در محیط کشت مایع)نمونه برداری شد. سپس گروه روتین اسکراب دست را طبق معمول انجام داد، و گروه مالش جراحی طبق آموزش پژوهشکر (مالش دست‌ها به مدت ۳ دقیقه با اتانول ۷۰٪) انجام داد. در انتها از دست‌های هر دو گروه نمونه برداری شد. با بررسی نتایج تاثیر روش‌های مذکور بر میکروارگانیسم‌های دست مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌ها با آزمون‌های آماری t،chi-square زوج ، MC Nemar و پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: آزمون های آماری بین میزان کلنی‌های نوک انگشتان در قبل و بعد از هر دو روش تفاوت معنی دار (P=0/00) را نشان داد .مطالعه نشان داد مقایسه میزان بار میکروبی بعد از شستشو در هر دو روش اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارد(P=0/53). هر دو روش می‌توانند در کاهش بار میکروبی دست‌ها موثر باشند .

نتیجه گیری : بین شمارش میکروبی دست‌ها بعد از دو روش تفاوت معنی داری وجود ندارد. با توجه به شلوغی و تعداد زیاد اعمال جراحی در هر شیفت کاری و کمبود پرسنل در بیمارستان‌ها جایگزین کردن مالش جراحی به جای اسکراب روتین و سنتی در بخش‌ها می‌تواند روش بسیار مناسبی باشد.

کلید واژه ها: اسکراب جراحی ، مالش جراحی ، بار میکروبی دست

مقدمه:

عفونت‌های بیمارستانی یکی از معضلات سیستم‌های مراقبتی– درمانی هر کشوری محسوب می‌شود. زیرا، این عفونت‌ها به سختی درمان می‌شوند(۱). مرکز کنترل بیماری(CDC) برآورد می‌کند، سالیانه ۱/۸ میلیون نفر با عفونت‌های بیمارستانی در تماس هستند و ۲۰ هزار بیمار به طور مستقیم با این عفونت‌ها می‌میرند(۲). دست یکی از مهم‌ترین ابزار مراقبتی است، ولی می‌تواند حامل و ناقل عفونت نیز باشد. آلودگی دست نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارد. این درحالی است که به آسانی می‌توان با اسکراب و شستشوی دست میزان میکروارگانیسم‌های موجود در آنها را کاهش داد(۳). به همین دلیل است که شستشوی دست برای تمامی اعمال جراحی و برخی از فراگردهای (پراسیجرهای) تهاجمی به منظور پیشگیری از عفونت‌های جدی ضروری می‌باشد. هدف از اسکراب، حذف میکروارگانیسم‌های موقت و کاهش میکروارگانیسم‌های مقیم پوست دست است (۴). تیلور (۲۰۰۵) بیان می‌کند که ساده‌ترین روش پیشگیری از عفونت بیمارستانی شستشوی دست است (۵). CDC بیان می کند شستشوی صحیح دست‌ها، میزان عفونت‌های بیمارستانی را به میزان ۳۰٪ کاهش می‌دهد(۲). راهنمای کشوری نظام مراقبت عفونت‌های بیمارستانی (۱۳۸۵) نیز شستشوی صحیح دست‌ها قبل از اعمال جراحی را تأکید می‌نماید (۳) . رزلانسری (۱۳۷۸) در کرمانشاه، در بررسی اثرات سه روش اسکراب جراحی در سه زمان متفاوت، نتیجه می‌گیرد زمان در نابودی میکروارگانیسم در حین اسکراب جراحی بسیار مهم است (۶). Dineenp (۱۹۶۹) در بررسی تحت عنوان ارزیابی مدت اسکراب جراحی، به این نتیجه رسید که اسکراب دست‌ها به مدت ۵ دقیقه، نسبت به اسکراب ۱۰ دقیقه‌ای می‌تواند کاهش مؤثری در شمارش باکتری‌ها داشته باشد. (۷). Hinystv (۱۹۹۲) نیز به‌دنبال بررسی خود تاکید می‌کند: اسکراب دست‌ها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه با محلول مناسب و دقت کافی می‌تواند شمارش باکتریایی را در حد قابل قبولی کاهش دهد (۸). Phippen(۲۰۰۰) نیز این مسئله را مورد تاکید قرار داده که اسکراب طولانی مدت تاثیری در کاهش بار میکروبی نخواهد داشت (۹). با توجه به اهمیت ضدعفونی دست‌ها قبل از عمل و لزوم انجام آن یک روش توصیه‌شده(اجرا توسط CDC و راهنمای کشوری) مناسب و قابل اجرا مالش دست (hand rub) با یک محلول با پایه الکلی است(۳،۲). مطالعات جدید نشان داده است که تاثیر الکل‌ها بسیار بیشتر از دیگر موادی مانند کلرهگزیدین گلوکونات ، پویدین ایدودین بوده و محلول های با پایه الکلی تاثیر بیشتری بر فلور مقیم پوست دارد. امروزه محلول‌های مالش دست با پایه الکلی به‌طور رایجی برای ضدعفونی دست‌ها در اروپا نیز استفاده می‌شود. بهتر است از اینگونه محلول‌ها در hand rub جراحی نیز استفاده شود(۱۰). Deshmukh(۱۹۹۸) در بررسی تحت عنوان مقایسه ۵ دقیقه اسکراب با بتادین و ۱ دقیقه اسکراب با محلول بتادین و استفاده از فوم الکل به دنبال آن، به این نتیجه رسید که ۱ تا ۳ دقیقه اسکراب با بتادین و به دنبال آن استفاده از محصولات با پایه الکل می‌تواند نسبت به اسکراب ۵ دقیقه‌ای مؤثرتر باشد (۱۱). Tavolaci (۲۰۰۶)نیز بیان می‌کند که براساس بررسی‌های متعدد ، مالش جراحی با محلول‌های الکلی در مقایسه با شستشوی دست با صابون و اسکراب تاثیر فوری مشابه اسکراب دارد. اما، مالش جراحی ضمن ماندگاری بیشتر، توسط پرسنل بهتر مورد قبول قرار گرفته و مشکلات پوستی کمتری نیز بدنبال داشته است (۴). اما، متاسفانه مکررا مشاهده می‌شود که تیم جراحی به دلایل مختلف، عملیات اسکراب دست را به نحو صحیح دنبال نمی‌کنند و به صورت سلیقه‌ای عمل می-نمایند. این افراد شلوغی بخش و نداشتن زمان کافی برای اسکراب صحیح را یادآور می‌شوند. ضمنا بیان می‌کنند که نحوه اسکراب تأثیر چندانی در ایجاد آلودگی محل عمل و بروز عفونت بیمارستانی ندارد، و حتی گاهی عوارض اسکراب (خشکی دست‌ها و ...) را دلیل عدم پیگیری و انجام صحیح عنوان می‌کنند. این در حالی است که به نظر می‌رسد شیوع عفونت‌های بیمارستانی در مراکز درمانی ما بسیار بالاست. لذا، پژوهشگران بر آن شدند که با بررسی مقایسه‌ای دو روش اسکراب با بتادین و مالش جراحی، تاثیرآنها را بر میزان کاهش بارمیکروبی دست‌های تیم جراحی مقایسه کنند. در صورت مشخص شدن تاثیرات مثبت روش جدید، در صورت صلاحدید مسئولین، مالش جراحی در موقعیت‌های مناسب جایگزین روش اسکراب گردد .

مواد و روش‌ها:

۱)روش نمونه گیری :

دراین مطالعه کارآزمایی بالینی که در سال ۱۳۷۸ انجام شد ، نمونه‌ها از بین اعضای تیم جراحی شامل {پزشکان(۶نفر در گروه روتین و ۴ نفر در گروه مالش جراحی) و تکنسین‌های اتاق عمل(۹ نفر در گروه روتین و ۱۴ نفر در گروه مالش جراحی} براساس نسبت توزیع پزشکان و پرستاران ، در ۴ مرکز درمانی

شهر قزوین، با نمونه گیری تصادفی سهمیه‌ای انتخاب شدند. افراد به دو گروه روش اسکراب با بتادین و روش مالش دست (hand rub) تقسیم شدند.

۲)روش اجراء:

در مرحله اول، افراد دست‌های خود را آب‌کشی کردند. از نوک انگشتان در محیط بلاد آگار نمونه برداشته شد و سپس افراد دست‌های خود را در دستکش استریل حاوی ۱۰ سی سی محیط نوترین براث به مدت ۳۰- ۲۰ ثانیه قرار دادند(۲). در مرحله موم گروه روتین اسکراب را طبق معمول و به روش ضربه‌ای (Counted Brush Stroke Method)انجام داد. در این روش با استفاده از برس استریل در مدت ۶-۳ دقیقه به ترتیب؛ ناخن‌ها ۲۰ ضربه، هر سطح (۴ سطح) از انگشتان ۱۰ ضربه، کف دست ۱۰ ضربه، پشت دست ۱۰ ضربه، تا ۱۰-۸ سانتی متری بالای آرنج نیز به دوقسمت تقسیم شد و هر سطح (۴ سطح) ۱۰ ضربه برس زده شده است (۹). گروه مالش جراحی ابتدا در یک جلسه توجیهی شرکت نمود و روش آموزش داده شد. طبق روش توصیه شده توسط سازمان جهانی بهداشت(WHO) و CDC، ابتدا دست‌ها تا آرنج با آب و صابون غیر آنتی باکتریال شسته شد و کاملا خشک گردید. بعد از محلول الکل(اتانول ۷۰٪)جهت مالش دست‌ها تا آرنج به مدت ۵-۳ دقیقه استفاده شد (۲، ۹). در هر دو گروه بعد از اتمام اسکراب و مالش دست مشابه مرحله اول نمونه جمع‌آوری شد.

روش انجام آزمایش و شمارش بار میکروبی :

برای انجام آزمایش از دستکش‌های حاوی نوترین براث ۱ میلی‌لیتر برداشت شد. نمونه به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد (رقت یکدهم). این عمل تا رقت یکهزارم ادامه یافت. ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت یکهزارم به ظرف پتری استریل خالی اضافه شده و حدود ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترین آگار استریل (۵۰ درجه سانتی‌گراد) به آن اضافه گردید و محتویات آن مخلوط شد. ظروف پتری در ۳۷ در جه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شد. تعداد کلنی‌ها شمارش شد و تعداد کل آنها محاسبه گردید. از محیط کشت داخل دستکش در محیط‌های مک کانگی آگار و مانیتول سالت آگار کشت شد. باسیل های گرم منفی و کوکسی های گدم مثبت در آنها بررسی شد. نمونه نوک انگشتان در محیط بلاد آگار بعد از ۴۸- ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ در جه سانتی‌گراد بررسی گردید. بیشترین تراکم رشد + 4 و کمترین + 1 در نظر گرفته شد .

یافته‌ها:

۳۳ نفر در دو گروه ۱۵ نفره (گروه اسکراب) و ۱۸ نفره (گروه مالش جراحی) در این مطاعه همکاری نمودند. آزمون کای دو بین جنس و میزان تحصیلات در دو گروه تفاوت معنی دار را نشان نداد(P>0/05). میانگین سنی افراد ۶/۳ ±۳۳/۹ سال بود و میانگین سابقه کار آنها ، ۷/۳ ±۹/۶ سال بود. میانگین تراکم کلنی در نمونه نوک انگشتان دست ،در گروه اسکراب قبل از شستشو ۰/۷ ±۳/۲۶ و بعد از شستشو۱/۰۹ ±۱/۷ بود. آزمون T زوج با T=۵/۹۹ بین ترکم کلنی انگشتان، قبل و بعد از شستشو به اسکراب، اختلاف معنی دار را (P=۰/۰۰) نشان داد.

در گروه مالش جراحی (H.R)، تراکم کلنی در نمونه نوک انگشتان دست قبل از مالش جراحی ۱/۳± ۲/۷ و بعد از مالش جراحی ۰/۸۵ ±۱/۱۶ بود. آزمون T زوج با T=۵/۹۷ بین ترکم کلنی انگشتان، قبل و بعد از مالش جراحی، اختلاف معنی‌دار (P=۰/۰۰) نشان داد(جدول ۱).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تراکم کلنی نوک انگشتان قبل و بعد از روش های اسکراب و مالش جراحی

گروه	اسکراب		مالش جراحی	
	قبل	بعد	قبل	بعد
میانگین	۳/۲۶	۱/۷	۲/۷۷	۱/۱۶
انحراف معیار	۰/۷	۱/۰۹	۱/۳	۰/۸۵

میانگین تراکم کلنی نمونه انگشت شست، قبل و بعد از مالش جراحی به ترتیب ۱/۳ ±۲/۷۷ و ۰/۸۵ ±۱/۱۶ بود ، که با P=۰/۰۰ اختلاف معنی‌دار داشت. این نتایج در گروه اسکراب به ترتیب ۰/۸۳± ۳/۱ و۱/۱± ۱/۶ بود، که با P=۰/۰۰ اختلاف معنی دار نشان داد.

مقایسه میزان بار میکروبی بعد از شستشو در هر روش با P=۰/۵۳ نشان داد که اختلاف معنی داری وجود نداشت.

	گروهHR		گروه روتین
قبل	۳۰/۷ ± ۳۲/۱	VS	۳۵/۲ ± ۲۱/۶
بعد	۱۰ /۵ ± ۱۱/۵	VS	۱۲/۸ ± ۸/۸

در گروه سکراب قبل از شستشو، از ۱۰ نفر (۶۶/۶٪) *انتروباکتر آئروژینوزا* جدا شد. آنالیز آماری به روش MC Nemar با P=۰/۰۱۶ اختلاف معنی داری را بین آلودگی به باسیل‌های گرم منفی در مراحل قبل و بعد از سکراب نشان داد. در گروه مالش جراحی نیز دست ۹ نفر (۵۰٪) قبل از مالش جراحی آلوده به *انتروباکترآئروژنیوزا* بود، که بعد از مالش جراحی جدا نشد. انالیز آماری MC Nemar با P=۰/۰۰۴ اختلاف معنی دار در مراحل قبل و بعد از مالش جراحی نشان داد.

کاهش میانگین لگاریتم۱۰ بار میکروبی دست‌ها در روش سکراب ۰/۴۸±۰/۵۰ و در گروه مالش جراحی ۰/۲۷ ± ۰/۴۷ بود(جدول۲).

جدول۲: میانگین و انحراف معیار بارمیکرویی دست در پایه لگاریتم ۱۰ در دو گروه اسکراب و مالش جراحی

گروه	روتین(اسکراب)		مالش دست	
	قبل	بعد	قبل	بعد
میانگین	۱/۴۷	۰/۹۶	۱/۳۲	۰/۸۵
انحراف معیار	۰/۲۶	۱/۴۱	۰/۴۶	۰/۴۴
میانگین کاهش در پایه لگاریتم ۱۰	۰/۵۰		۰/۴۷	
انحراف معیار	۰/۴۸		۰/۲۷	
اختلاف آماری	P=۰/۰۰۱		P=۰/۰۰	

مقایسه نتایج روش‌های مذکور با P=۰/۵۳ اختلاف معنی‌دار بین کاهش بار میکروبی در دو گروه را نشان نداد.

آنالیزهای آماری بین میزان و نوع بار میکروبی دست‌ها در دو گروه با متغیرهای جنس (P=۰/۴۱۲)، محل کار (P=۰/۲۷) و سن (P=۰/۴۸۷) معنی دار نشد.

مقایسه شمارش میکروبی دست‌ها قبل و بعد از شستشو در هر گروه (P=۰/۰۰) تفاوت معنی دار داشت. بین شمارش میکروبی دست‌ها بعد از مالش جراحی و اسکراب اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>0/05).

بحث:

نتایج مطالعه نشان داد بار میکروبی دست‌ها به‌دنبال شستشو به روش اسکراب جراحی، کاهش معنی‌داری داشته است ، که این مورد با نتایج Dineenp (۱۹۶۹) و Hinyst (۱۹۹۲) مطابقت دارد (۷، ۸) . Pereira و همکاران (۱۹۹۷) نیز در بررسی خود که ۵ روش اسکراب جراحی دست را بررسی کردند کاهش بار میکروبی دست را به‌دنبال اسکراب جراحی منوط به بکارگیری صحیح روش اسکراب و استفاده از محلول مناسب ، بیان کردند(۱۲). همچنین نتایج مطالعه کاهش معنی‌داری را در بار میکروبی دست‌ها بعد از مالش جراحی نشان داد. Kampf و همکاران (۲۰۰۵) نیز در مطالعه خود نشان دادند که مالش جراحی دست با محلول حاوی اتانول ۸۰٪ کاهش قابل ملاحظه‌ای بر میکروارگانیسم‌های پوست دارد(۱۳).

مقایسه میزان کاهش بار میکروبی دست‌ها بعد از شستشو در دو گروه، تفاوتی ندارد، بدین معنی که هر دو روش می‌تواند موجب کاهش قابل قبول بار میکروبی دست‌ها گردد. Bryce در بررسی خود نیز به نتایج مشابه رسید و بیان کرد که اگر چه تفاوت

معنی‌دار بین شمارش میکروبی دست‌ها بعد از استفاده از محلول با پایه الکلی و مواد رایج مانند بتادین وجود ندارد، اما مقایسه شمارش میکروبی دست‌ها بعد از ۲ ساعت شستشو در گروهی که از محلول‌های با پایه الکلی استفاده کرده بودند، بهتر بود (۱۴). Hunber (۲۰۰۶) نیز در مطالعه خود نتیجه‌گیری کرد که هردو روش در کاهش شمارش میکروبی دست‌ها موثر است و تاکید کرد که روش مالش جراحی با الکل همانند روش اسکراب موثر بوده و می‌تواند جایگزین اسکراب جراحی گردد(۱۵). Winnefeld (۲۰۰۰) نیز نشان داد که مالش جراحی با محلول الکلی به‌طور معنی‌دار نسبت به محلول صابون برای حذف آلودگی زودگذر پوست موثرتر است. او پیشنهاد می‌کند به‌دلیل اینکه الکل نسبت به صابون صدمه پوستی کمتری دارد و تاثیر بیشتری نیز بر شمارش کل باکتری‌های پوست دارد، باید در مصارف روزانه بیمارستانی از ضدعفونی کننده‌هایی با پایه الکل استفاده شود(۱۶). روش اسکراب(روتین) ضمن اینکه مدت زمان بیشتری را به خود اختصاص می‌دهد، اسکراب با برس روی پوست دست تاثیر منفی می‌گذارد. تجمع میکروارگانیسم‌ها هم بر پوست صدمه دیده نسبت به پوست سالم بیشتر است ودر دست‌های صدمه دیده نیز شستشو با صابون و آب موجب کاهش موثر آلودگی دست نمی‌شود (۱۷). از طرفی مالش جراحی دست با محلول‌های با پایه الکل و با غلظت مناسب می‌توانند تاثیر مناسب و قابل قبولی بر بار میکروبی دست‌ها داشته باشند. لذا روش مالش جراحی دست با محلول پایه الکلی مناسب‌تر از روش اسکراب با محلول‌های سنتی مثل بتادین است(۱۸و ۱۹).

نتیجه‌گیری:

در مطالعه حاضر نشان داده شد که دو روش مورد استفاده در کاهش بار میکروبی دست‌ها موثر بوده و تفاوت معنی‌داری بین دو روش مشاهده نشد. بر این اساس می‌توان مالش جراحی را در بسیاری از موارد جایگزین اسکراب روتین نمود. بعلاوه، در صورتی که پرسنل درمانی از روش‌های قابل قبول و مناسب برای ارتقاء رعایت بهداشت دست استفاده نمایند (مانند مالش جراحی با محلول پایه الکی) ضمن اینکه در وقت صرفه جویی کرده‌اند و به نتیجه مطلوب رسیده‌اند، مشکلات پوستی کمتری نیز خواهند داشت .

فهرست مراجع:

۱. اصل سلیمانی حسین. *پیشگیری و کنترل عفونت بیمارستانی* . تهران، مؤسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده، نشر .طبیب، ۱۳۷۹،صص ۳۳تا۴۳.

2. *Centers for Disease Control and Prevention*. Guideline for hand hygiene in health–care setting. *MMWR 2002*; **51** (PR-16): 1-44

۳. معصومی اصل ح، زهرایی س م . *راهنمای کشوری نظام مراقبت عفونت‌های بیمارستانی* ، تهران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. مرکز مدیریت بیماری‌ها،۱۳۸۵، صص ۲۲ تا ۳۰

4.Tavolaci M P, Pitro I, Merle V, Hanghighat S, Thillard D, Czernichow P .Surgical hand rubbing compared with surgical hand scrubbing comparison of efficiency and costs. *J Hops infect* 2006; **63** :55-59

5. Taylor.C.Lillis C, Lemone. P. Fundamentals of Nursing "The Art and science of nursing care.5th ed. Lippincott;Willams &Wilkins. 2005; pp: 123-130

۶. رزلانسری ح. مقایسه اثرات سه روش اسکراب جراحی دو، چهار و شش دقیقه‌ای با محلول ضدعفونی کننده بتادین بر میزان آلودگی دست‌های تیم جراحی اتاق عمل در مراکز آموزشی – درمانی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه. خلاصه مقالات همایش سراسری مراقبت‌های جراحی . قزوین .اسفند ۱۳۷۹ ، صص ۲۸ تا ۲۹

7. Dineenp.An.Evaluation of the duration of the surgical scrub. *gyneco-obst*; 1969; **129:** 1181-1184

8. Hinyst V.juditzi H. Sonntag HG. Evaluation of the efficacy of surgical hand disinfection following reduced application time of 3 instead of 5 minute; *Hosp infect*. 1992**; 20:** 79-86

9.Phippen ML, Wells MP. Patient care during Operative and invasive procedures .7th.Saunders Company U.S.2000; pp: 70-79

10. Kampf G. Ostermeyer C. Heeg P. Surgical hand disinfection with a propanol-based hand rub: equivalence of shorter application times. *J Hosp Infect* 2005; **59**(**4**).:304-10
11. Deshmukh N K Jellberg SI, Kramer JW. A comparison of 5 minute povidone-lodine scrub and 1 minute povidone-lodine scrub followed by alcohol foam; military med 1998; **103**. 145-147
12. Pereira L J. Lee G M. Wade K J. An evaluation of five protocols for surgical hand washing in relation to skin condition and microbial counts. *J Hosp Infect* 1997; **36(**1**).:**49-65
13.Kampf G, Ostermeyer Ch; Efficacy of two distinct ethanol-based hand rubs for surgical hand disinfection – a controlled trial according to prEN 12791.*BMC infect Di s*2005;**5**(17):187-201
14. Bryce E A. Spence D. Roberts F J. An in-use evaluation of an alcohol-based pre-surgical hand disinfectant. *Infect Control Hosp Epidemic* 2001. **22**(10):635
15.Humber NO, Kampf G, Loffler H, Kramer A. Effect of 1 min hand wash on the bactericidal efficacy of consecutive surgical hand disinfection with standard alcohols and on skin hydration. *Inter J Hyge En Health* 2006. **209** (3): 285-291
16. Winnefeld M, Richard M A, Drancourt M, Grob J J. Skin tolerance and effectiveness of two hand decontamination procedures in everyday hospital use. *British J Dermatology* 2000. **143**(3):546-50
17.de Almeida e B LF. Silva BL. Gontijo F PP. Hand washing: changes in the skin flora. *American J Infect Con*2007. **35**(6):417-20
18.Parienti JJ, Thibon P, Heller R, Le Roux Y, von Theobald P, Bensadoun H, Bouvet A, Lemarchand F, Le Coutour X. Hand-rubbing with an aqueous alcoholic solution vs traditional surgical hand-scrubbing and 30-day surgical site infection rates - a randomized equivalence study. *JAMA* 2002. **288**: 722-727.
19.Kampf G, Ostermeyer C, Heeg P, Paulson D. Evaluation of two methods of determining the efficacies of two alcohol-based hands rubs for surgical hand antisepsis. *Applied & Enviro Micro* 2006. **72**(6):3856-61.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۶۵- ۶۱

بررسی شیوع عفونت فعال سیتومگالو ویروس در دریافت کنندگان پیوند کلیه با روش‌های PCR و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم

شهاب فلاحی[۱] ، حوریه سلیمان جاهی[۱*]، ابراهیم کلانتر[۲] ، عذرا کنارکوهی [۱] ، امل ساکی[۳]

۱)گروه ویروس شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۲) گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳) گروه آمار زیستی ، دانشگاه تربیت مدرس
نویسنده رابط : حوریه سلیمان جاهی، گروه ویروس شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
تلفن: ۰۲۱-۸۲۸۸۳۵۶۱ soleim_h@modares.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۳/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۰/۱۵

چکیده:

زمینه و اهداف: ویروس سیتومگال (CMV) از مهم‌ترین پاتوژن‌هایی است که حضورآن در دریافت کنندگان پیوند عضو بررسی شده‌است. این ویروس می‌تواند بیماری و مرگ و میر چشمگیر ایجاد کند. شیوع عفونت CMV در دریافت کنندگان پیوند اعضاء از کشوری به کشور دیگر متفاوت گزارش شده است. روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم نشان دهنده تکثیر ویروس و عفونت فعال است، و روش PCR حضور ویروس را نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه تعیین شیوع عفونت فعال CMV در دریافت کنندگان پیوند کلیه با روش‌های PCR و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم و بروز آن براساس متغیرهای فصل، سن و جنس بود.

روش بررسی: نمونه‌های ارسال شده بیماران داوطلب پیونداز مراکز پیوند کلیه سراسر کشور، ازسال ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۶، به آزمایشگاه قلهک بررسی شدند. این بررسی با روش‌های PCR و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (pp_{65} antigenemia) انجام گرفت. نتایج با آزمون‌های کای دو و رگرسیون لجستیک تجزیه وتحلیل شدند.

یافته ها: در مجموع ۹۲۳ نمونه بررسی شد. شیوع عفونت CMV با روش های آنتی‌ژنمیا pp65 و PCR , به ترتیب در ۷۱ (۷/۷٪) و ۳۲۳ (۳۵ ٪) نمونه بود. ارتباط معنی داری بین میزان مثبت بودن حضور CMV وسن و جنس مشاهده نشد ($p > 0.05$). بین مثبت بودن حضور CMV و فصل انجام آزمایش ارتباط معنی داری یافت شد($p = 0.01$). بیشترین نتایج مثبت به هر دو روش در فصل بهار بود.

نتیجه گیری : نتایج به روش PCR بیشتر از نتایج روش pp_{65} antigenemia است. هیچ کدام از روش‌ها ارتباط با سن و جنس را نشان نمی‌دهند. عفونت در فصل بهار افزایش معنی دار دارد.

کلید واژه ها: سیتومگالوویروس، اپیدمیولوژی، آنتی ژنمیا pp_{65} , PCR، پیوند کلیه

مقدمه:

عفونت سیتومگالوویروس (CMV) انسانی در سراسر جهان مشاهده شده است. آثار بارز این عفونت در دریافت کنندگان پیوند، از تظاهرات بالینی بیماری حاد CMV تا آسیب به عضو پیوندی یا پس زدن پیوند متفاوت می‌باشد(۱،۲).

علی‌رغم استفاده از داروهای ضدویروسی و تلاش‌های زیادی که برای جلوگیری از این عفونت صورت می‌گیرد ، عفونت با این ویروس هنوز یک عامل مهم بیماری و مرگ و میر بعد از پیوند مغز استخوان و کلیه می‌باشد(۳،۴). مطالعات نشان داده افراد سرم مثبت ازنظر CMV ، در معرض خطر گسترش عفونت یا عود CMV هستند (۵). رخداد بیماری CMV اغلب در یک دوره زمانی حدود ۲۸ و ۷۲ روز بعد از پیوند دیده می‌شود و می‌تواند چندین عضو از جمله ریه و روده را درگیر کند. علی رغم پیشرفت‌های زیاد در این زمینه (تولید داروهای ضدویروسی جدید، درمان ترکیبی) میزان مرگ و میر ناشی از پنومونی در اثر CMV هنوز بالا است(۵).

با در نظر گرفتن اینکه آلودگی با ویروس CMV مهم‌ترین عامل ایجاد بیماری سیتومگال است ،تشخیص زود هنگام آن به منظور جلوگیری از پیشرفت بیماری توصیه شده است. یک روش کلاسیک استاندارد برای تشخیص عفونت CMV در گیرندگان پیوند روش آنتی ژنمیا pp_{65} می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن اختصاصی CMV، که به‌وسیله سلول‌ها در مراحل اولیه پس از عفونت بیان می‌شود، مورد تشخیص قرار می‌گیرد(۵)، به هر حال این روش در تعداد کمی از بیماران، به دلیل پایین بودن سطح بیان آنتی‌ژن در گلبول‌های سفید خون، گاهی نتایج منفی کاذب نشان می‌دهد. اما حساسیت فناوری PCR که در دهه‌ی اخیر برای تشخیص DNA ویروس CMV در نمونه‌های خونی به کار گرفته می‌شود، ۱۰۰٪ است. روش PCR به طور کلی برای تشخیص ویروس از pp65 حساس‌تر است، اما قادر به تفکیک عفونت فعال و مخفی نیست. در حالیکه آزمایش pp65 برای تمایز عفونت فعال و مخفی بکار می‌رود. هدف این مطالعه تعیین شیوع عفونت فعال CMV در دریافت‌کنندگان پیوند کلیه با دو روش PCR و PP65آنتی ژنمیا بوداز طرف دیگر بررسی ارتباط بین شیوع عفونت با فصل، جنس وسن از اهداف فرعی مطالعه حاضر بود.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه از نوع توصیفی وآینده‌نگر بود. نمونه‌ها در فاصله‌ی سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۶ از آزمایشگاه قلهک، به عنوان یکی از مهم‌ترین مراکز آزمایشگاهی پیوند در تهران، جمع آوری شد. برای این منظور ۲ لوله ۴ میلی لیتری حاوی EDTA از نمونه خون جمع‌آوری شد. سپس پلاسما با دور500xg برای ده دقیقه سانتریفوژ و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره و نگهداری شد.

روش **CMV pp_{65} antigenemia**

روش pp_{65} antigenemia به عنوان یک روش تشخیصی معمول با استفاده از کیت Brite^{TM} Turbu(IQ Products, CMV Groningen, Netherlands) انجام شد.

تشخیص آنتی‌ژن pp65 در سلول‌های خون محیطی به تشخیص عفونت CMV حاد یا دوباره فعال شده کمک می‌کند. در این روش از یک ترکیب واجد ۲ آنتی‌بادی منوکلونال (C10/C11) علیه آنتی‌ژن pp65 و به روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم استفاده می‌شود.

استخراج **DNA** ویروس **CMV** و انجام **PCR** :

DNA از ۲۰۰میکرولیتر سلول‌های تک هسته ای خون محیطی با روش فنل – کلروفرم استخراج و درلوله‌های حاوی ۵۰ میکرولیتر بافر، نگه داری شد.

پرایمرهای طراحی شده توسط برنامه (version 3.o5 gene runner) Hastings sottunre Inc) برای یک ناحیه حفاظت شده آنتی ژن pp_{65} شامل:

پیشرو 5- TCG CGC CCG AAG AGG 3

پیرو 5- CGG CCG GAT TGT GGA TT3

روش PCR در حجم کلی واکنش ۲۵ µL انجام شد. لوله واکنش واجد ۲/۵ µL بافرPCR ۱۰X (fermentas)، dNTP(10mM) ۰/۵ µL ، ۱µL از DNA taq ۵ u/ µL polymerase ، ۰/۷۵µL MgCl2(50mM)، بود. ۵ µL از نمونه استخراج شده واجد ۰/۵ µ g و ۰/۵ µL از هر کدام از پرایمرهای پیشرو و پیرو مخلوط شد. مراحل تکثیر مشتمل بر مراحل واسرشتی اولیه در ۹۴درجه به مدت۶ دقیقه، سپس ۳۵ دور شامل: ۵۰ ثانیه در ۹۴ درجه،۴۰ ثانیه در۵۷ ، ۵۰ثانیه در ۷۲درجه و در پایان در ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه بود.

تجزیه و تحلیل آماری:

اطلاعات حاصله در برنامه آماری SPSS وارد شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آزمون آماری کای‌دو(Chi-2) و رگرسیون لجستیک(Logistic Regression) استفاده شد. P-value کمتر از ۵ درصد با فاصله اطمینان ٪۹۵ به عنوان حد معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

۹۲۳ نمونه شامل ۵۶۹ (٪۶۱/۶) نمونه مرد و ۳۵۴ (٪۳۸/۴)

نمونه زن بررسی شد. به ترتیب ۳۲۳(٪۳۵) و۷۱(٪۷/۷) نمونه به روش‌های PCR و PP65 مثبت شدند. بین سن، جنس و نتایج هیچ یک از آزمایش‌های PCR و PP65 ، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد(p >0.05).

بیشترین نتایج مثبت با روش PCR (٪۵۰)طی فصل بهار (p =0.01)دیده شد. بیشترین موارد عفونت فعال (PP65 مثبت) هم در فصل بهار (٪۶۰) مشاهده گردید(p =0.01) . درصد نتایج مثبت به روش‌های PCR وPP65 در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: نتایج روش‌های آنتی ژنمیا و PCR به تفکیک فصل

آزمایش	نتیجه	بهار	تابستان	پاییز	زمستان	جمع کل
PCR	مثبت	۵۰/%	۱۵%	۱۸%	۱۷%	۱۰۰%
Pp65	مثبت	۶۰%	۲۰%	۲/۹%	۱۷/۱%	۱۰۰%

جدول ۱ درصد نتایج آزمایش‌های PCR و آنتی ژنمیا را در طی چهار فصل سال نشان می‌دهد. آزمون کای دو رابطه بین فصل و نتایج آزمایش PCR و نیز آنتی ژنمیا (p =0.0) را نشان داد.

جدول ۲ نتایج آزمایش‌های PCR و آنتی ژنمیا را برای دو جنس نشان می‌دهد. آزمون کای دو، نشان دهنده عدم ارتباط بین نتایج آزمایش‌های PCR و جنسیت (P=0.31) و آنتی ژنمیا (P=0.638) بود.

جدول ۲: نتایج روش‌های آنتی ژنمیا و PCR به تفکیک جنس

	نتیجه	PCR	pp65
مرد	منفی	%۶۳	%۹۳
	مثبت	%۳۷	%۷
زن	منفی	%۶۷	%۹۱
	مثبت	%۳۳	%۹

برای بررسی ارتباط بین سن با آزمایش‌های PCR و آنتی ژنمیا از رگرسیون لجستیک استفاده شد. ضریب سن در معادله رگرسیون لجستیک به ترتیب برابر ۰،۰۰۵ =β با p =0.28 و ۰،۰۱۳ =β با p =0.15 بود. لذا، نشان دهنده عدم ارتباط بین سن با نتایج آزمایش‌های PCR و آنتی ژنمیا بود.

بحث:

سیتو مگالوویروس انسانی یکی از عفونت‌های شایع در جمعیت‌های انسانی است که در افراد سالم بدون علامت بالینی است. اما، پس از عفونت اولیه برای همیشه در بدن باقی می‌ماند. عفونت حاد در افراد مبتلا به نقص ایمنی و نیز در گیرندگان پیوند عضو بروز می‌نماید (۷،۶). علی رغم وجود داروهای ضد ویروسی مناسب (گان سیکلوویر،فوسکارنت) عفونت CMV هنوز به عنوان یک عامل مهم ایجاد بیماری و مرگ و میر در بیماران پیوندی است، که اغلب علت آن تاخیر در تشخیص و درمان مناسب می‌باشد.

تشخیص با روش کشت سلول و روش‌های سرولوژی معمولا وقت‌گیراست و گاهی حساسیت لازم را ندارند. حضور آنتی ژن pp65 نشان‌دهنده تکثیر ویروس و عفونت فعال است. حال آنکه نتایج مثبت با روش PCR تنها حاکی از حضور ویروس است، که قادر به تمایز بین عفونت فعال و نهفته نمی‌باشد. از آنجا که نسبت وسیعی از جامعه با ویروس CMV آلوده هستند، در غربالگری بیماران برای ارزیابی خطرات عفونت منتشره استفاده از تست pp65آنتی ژنمیا مناسب ولازم به نظر می‌رسد (۸). در مطالعه حاضر شیوع عفونت CMV با روش‌های PCR و PP65 آنتی ژنمیا به ترتیب ۳۵ و ۷/۷ درصد محاسبه شد. نتایج همخوانی نزدیکی با دیگر مطالعات صورت گرفته دارد(۱۲-۹).

از بین متغیرهای مورد بررسی (سن، جنس و فصل) تنها بین میزان مثبت بودن CMV و فصل ارتباط معنی‌دار مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین نتایج مثبت مربوط به فصل بهار است. یکی از مهم‌ترین اشکالات در تشخیص عفونت CMV با روش‌های سرولوژی تاخیر در زمان تشخیص می‌باشد. در این موارد آزمایش آنتی‌ژنمیا برای تشخیص بموقع کمک می‌کند(۱). در یک مطالعه نشان داده شد که نتیجه آزمایش آنتی‌ژنمیا ۲ بیمار گیرنده پیوند کلیه، ۸ و ۲۳ روز قبل از مرگ به علت عفونت CMV، منفی بوده‌است(۱).

شک بالینی به بیماری CMV و اقدام جهت تشخیص و درمان زودرس این بیماری در دریافت‌کنندگان پیوند کلیه، به‌خصوص در ۶ ماه اول پس از پیوند، از اهمیت انکارناپذیری برخوردار است(۲).

تجزیه و تحلیل اطلاعات نشان داد که مردان و زنان به ترتیب درگروه‌های سنی ۴۵-۳۶ و ۵۵-۴۶ سال دارای نتایج آنتی‌ژنمیای منفی بیشتری بودند. از سوی دیگر مردان در گروه سنی ۶۵-۵۵ و زنان گروه سنی ۴۵-۳۶ سال بیشترین نتایج مثبت را در این آزمایش نشان دادند.

در آزمایش PCR، مردان گروه سنی ۶۵-۵۵ و زنان گروه سنی ۴۵-۳۶ سال آلودگی بیشتری بهCMV را نشان مب دهند. در مقابل با همین آزمایش مردان در گروه سنی ۳۵-۲۶ و زنان گروه سنی ۴۵-۳۶ نتایج منفی بیشتری دارند. با این حال، تفاوت‌های مشاهده شده بین داده‌ها به اندازه‌ای نیست که رابطه معنی‌دار آماری را بیان کند. در واقع بین سن و جنس با نتایج آزمایش‌ها رابطه وجود ندارد.

نتایج حاکی از وجود ارتباط بین میزان نتایج مثبت روش PCR در فصل بهار است. در یک مطالعه نشان داده شد که پیوند کبد در فصل پائیز یک عامل خطر مهم برای CMV است (۱۳). در مطالعه‌ی دیگری نیتا و همکاران احتمال ارتباط بین بروز بیماری CMV و فصل پائیز را مطرح می‌کنند. به گونه‌ای که بیمارانی که در فصل پاییز پیوند دریافت می‌کنند، احتمال بروز CMV در آنها بیشتر است(۱۴). هر چند که در گزارش‌های دیگر در مورد ارتباط یا عدم ارتباط بین عفونت CMV و فصل یافته‌ها متفاوت هستند (۱۶،۱۵). مطالعات نشان می‌دهد که تعدادی از بیماری‌ها الگوی فصلی دارند. این الگو می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در شناسایی اتیولوژی بیماری، مورد توجه قرار گیرد. یکی از ضرورت‌های دیگر که در بررسی ارتباط بین یک عفونت و فصل و تعیین الگوی فصلی وجود دارد، به‌خصوص در مورد ویروس‌هایی مثل CMV، بحث پروفیلاکسی وابسته به فصل است. البته این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری:

مطالعه ما نیز مشابه سایر مطالعات انجام شده علاوه بر؛ نشان دادن ارتباط فصلی بین دریافت پیوند کلیه وعفونت CMV با روش‌های حساس، بیانگر این حقیقت است که تشخیص به‌موقع و دقیق فرم فعال عفونت ، ونیز بررسی حضور عفونت نهفته، و شروع فعالیت آن در زمان پیوند از الزامات تشخیص محسوب می‌گردد. این موضوع می‌تواند در ارائه راهکارهای درمانی راهگشا باشد.

فهرست مراجع:

1.Mocarski ES, Shenk T, Pass RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, ed, *Fields Virology*, Philadelphia, Lippicott Williams&Wilkins. 2007; PP:2701-2772.

2.Kouri V, Resik S, Enamorado A, Moreno D, Garcia S, Acosta B, *etal*. Longitudinal study of herpesviruses in kidney transplant recipients in Cuba. *Clin Infect Dis* 2003 15;**36** (6):818-21.

3.Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev* 1999; **12**(2):286-297.

4.Forman SJ, Zaia JA. Treatment and prevention of cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation: where do we stand? *Blood* 1994; **83**:2392-2398.

5.Schulenburg A, Watkins-Riedel T, Greinix HT, Rabitsch W, Loidolt H, Keil F, *etal*. CMV monitoring after peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation by pp65 antigen and quantitative PCR. *Bone Marrow Transpl* 2001;**28**: 765 – 768.

6.B. Vahid, D Salerno, T Raman. CMV Pneumonia in a Renal-Transplant Recipient: Diagnosis and Treatment. . *Int J Pulm Med* 2005; 5. 2

7.J Carstens, H K Andersen, E Spencer, M Madsen. Cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2007; **8**(4): 203-212

8.Ho, SK, Lo, IK, Cheng, T, Chan M. Rapid cytomegalovirus pp65 antigenemia assay by direct erythrocyte lysis and immunofluorescence staining. *J. Clin. Microbiol* 1998;**36**:638-640

9.Rao M, Cytomegalovirus infection after renal transplantation - the Indian experience, *Indian J Nephrol* 2002;**12**: 16-24

10.Sola R, Diaz J M, Guirado L, Ravella N, Vila L, Sainz Z,*etal*. Significance of cytomegalovirus infection in renal transplantation, Transplan 2003; Proc. **35**: 1753–1755.

11.Rao M, Finny GJ, Abraham P, Juneja R, Thomas PP, Jacob CK, *et al.* Cytomegalovirus infection in a seroendemic renal transplant population: A longitudinal study of virological markers. *Nephron* 2000**; 84**: 367-373.

12.Aquino VH, Figueiredo LTM. High prevalence of renal transplant recipients infected with more than one cytomegalovirus glycoprotein B genotype. *J Med Virol* 2000; **61**: 138-142.

13.Robinson LE, Hilinski J, Graham F, Shaw M, Nesheim S, Hymes L. Cytomegalovirus (CMV) Disease in Pediatric Renal Transplant Recipients: Identification of a Novel Risk Factor. Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother 1999; **39**: 610 , Emory Univ, Atlanta, GA.

14.Nina S, Marilyn M W, Timothy G. Seasonal pattern of early mortality and infectious complications in liver transplant recipients. *Liver Transplantat* 2001**, 7**(10): 884-889.

15.Robinson LG, Hilinski J, Graham F, Hymes L, Beck-Sague C.M. Hsia J, *et al.* Predictors of cytomegalovirus disease among pediatric transplant recipients within one year of renal transplantation. *Pediatric Transplant* 2000**; 6**(2):111-118.

16.Tazawa y, Numazaki y. Cytomegalovirus Infection in acute Respiratory Tract Disease accompanying Hepatitis in Infancy. *Tohoku J. exp. Med* 1988; **155**:349-354

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۷۲-۶۶

غنی سازی و جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک علیه ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک

مهرانگیز خواجه کرم الدین[۱]، بی بی صدیقه فضلی بزاز [۲]، مرضیه ابراهیمی [۳]، کیارش قزوینی [۱]، منور افضل آقایی [۴]، محبوبه نادری نسب[۱]، زهرا مشکات[۱*]، سعید عامل جامه دار[۱]

۱) گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی ، مرکز تحقیقات میکروب شناسی و ویروس شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۲) گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳) پزشکی عمومی
۴) گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
نویسنده رابط: زهرا مشکات، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی ، مرکز تحقیقات میکروب شناسی و ویروس شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲۴۵۳ meshkatz@mums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۳/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۰/۱۰

چکیده:

زمینه و اهداف: یکی از شایع‌ترین مشکلات در بیمارستان‌ها ظهور عفونت‌های مقاوم به عوامل ضد میکروبی است. باکتریوفاژها هیچ فعالیتی علیه سلول‌های حیوانی و گیاهی ندارند و تنها در باکتری‌ها قادر به رشد هستند. بنابراین می توانند بدون زیان رساندن به سلول‌های آلوده به باکتری، به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک استفاده شوند. هدف از این مطالعه غنی سازی و جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک علیه ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک بود.

روش بررسی: نمونه‌های بالینی بیماران سرپائی و بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان قائم (عج) مشهد جمع آوری شد. پس از کشت، تعیین هویت و مقاومت آنتی بیوتیکی، تعداد ۴۳ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک شناسایی گردید. باکتریوفاژهای لیتیک مناسب از فاضلاب تصفیه شده حوضچه سوم بخش سپتیک همان بیمارستان جداسازی شد. اثر باکتریسیدی آنها در دو فاز مایع و جامد بر روی ایزوله‌های مقاوم و جداسازی شده، بررسی گردید. همه نمونه‌ها برای غلظت‌های مختلف فاژ تحت شرایط مختلف سه بار ارزیابی شدند. نتایج با استفاده از آزمون آماری من ویتنی تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: در هر دو روش لوله و کشت جامد دو لایه، باکتریوفاژها در غلظت بالا، اثرات کامل باکتریسید بر روی باکتری‌های جداسازی شده مقاوم به آنتی بیوتیک داشتند ($p<0.0001$).

نتیجه گیری : نتایج نشان داد اثرات باکتریسید باکتریوفاژها کفایت بالایی دارد و در غلظت‌های بالای فاژی این اثرات بیشتر نمایان می‌شود.

کلید واژه ها: باکتریوفاژ، *پسودوموناس آئروژینوزا* ، عامل ضد میکروبی

مقدمه:

باکتریوفاژها یا فاژها دسته‌ای از ویروس‌ها هستند که قادرند باکتری‌ها را آلوده کنند و از بین ببرند (۱). بیش از یک قرن پیش اولین گزارش در مورد شناخت باکتریوفاژها منتشر شد. چنانکه در سال ۱۸۹۸ Hankin عواملی را در آب رودخانه‌ای در هند شناسایی کرد که قادر به گذشتن از فیلترهای بسیار ریز بودند و خواص آنتی باکتریال از خود نشان دادند (۲). مطالعه بر روی باکتریوفاژها ابتدا در راستای کاربرد آنها به عنوان ابزاری برای مقابله با عفونت‌های باکتریال شروع شد. ولی پس از مدتی با کشف پنی‌سیلین و سایر آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف، این کاربرد فاژها کم کم به فراموشی سپرده شد (۳، ۴). اما، با مشخص شدن روش تکثیر فاژها و توانایی آنها در کشتن باکتری‌ها در پایان چرخه عفونت، احتمال استفاده از فاژها را به عنوان عوامل درمانی قوت بخشید(۵).

در حال حاضر استفاده از فاژها به منظور درمان عفونت در بسیاری از عفونت‌های مقاوم به درمان، به‌طور موفقیت آمیز مورد استفاده قرار گرفته‌است. حتی در برخی از کشورها از جمله گرجستان، پزشکان فاژها را به فراوانی در بخش‌های اطفال، جراحی و سوختگی به کار می‌برند (۶،۷).

سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها یک مشکل رو به افزایش است و *پسودوموناس آئروژینوزا* یکی از مقاوم‌ترین گونه‌ها می‌باشد(۸). بیش از ۳۰ سال است که هیچ عامل ضد پسودومونایی جدید تولید نشده‌است. اکنون زمان آن رسیده‌است که راهکارهای دیگری مانند فاژتراپی مورد توجه قرار گیرد (۸، ۹).

پسودوموناس آئروژینوزا باعث ۱۰٪ تا ۲۰٪ عفونت‌های بیمارستانی می‌شود و غالبا از افراد مبتلا به سرطان یا افرادی که دچار سوختگی‌های وسیع شده‌اند، جداسازی شده است. این باکتری می‌تواند باعث عفونت در همه بافت‌ها و نیز در نقاط مختلف بدن شود. مرگ و میر در افراد مبتلا به نقص ایمنی حدود ۸۰٪ است. همچنین پنومونی ناشی از این باکتری باعث ۷۰٪ مرگ و میر در بیماران می‌شود. این میزان مرگ و میر در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌های ایجادکننده پنومونی که در آنها مرگ و میر بیماران حدود ۳۵٪است، بسیار بالاست. *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌تواند باعث بروز اسهال اپیدمیک در کودکان، عفونت‌های چشمی، استئومیلیت، عفونت‌های پوستی، عفونت در گوش، باکتریمی، اندوکاردیت و مننژیت شود (۱۰).

بنابراین، توجه به باکتریوفاژها و استفاده از آنها در درمان عفونت‌های مقاوم به درمان آنتی‌بیوتیکی می‌تواند امیدی تازه در راه درمان آنها باشد. هدف از انجام این مطالعه ضمن جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک و غنی‌سازی آن، تعیین اثرات ضد میکروبی آنها بر روی *پسودوموناس آیروژینوزای* جداسازی شده مقاوم به آنتی بیوتیک بود.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه بر روی نمونه‌های مختلف خلط، ادرار، ترشح واژن، ترشح گوش، و ترشح زخم بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک ویژه بیمارستان قائم (عج) مشهد و نیز بیماران بستری در بخش‌های مختلف این بیمارستان انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در محیط‌های کشت آگارخوندار و مک‌کانگی آگار کشت شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. تشخیص *پسودوموناس آئروژینوزا* با کشت کلنی مشکوک بر روی محیط‌های افتراقی مختلف و انجام تست‌های بیوشیمیایی انجام شد. بررسی حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک‌ها (آمیکاسین ۳۰µg، جنتامایسین ۱۰µg، توبرامایسین ۱۰µg، کانامایسین ۳۰µg، ریفامپین ۳۰µg، نالیدیکسیک اسید ۳۰µg، کلرامفنیکل ۳۰µg، آموکسی سیلین ۲۵µg، سفالکسین ۳۰µg، نیتروفورانتوئین ۳۰۰µg، سولفامتوکسازول ۲۵µg، تتراسیکلین ۳۰µg، آمپی سیلین ۱۰µg، داکسی سایکلین ۳۰µg شرکت پادتن طب، تهران، ایران) به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون قطر عدم رشد اندازه‌گیری و با استفاده از جدول Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) نتایج به‌صورت حساس و مقاوم یادداشت گردید (۱۰).

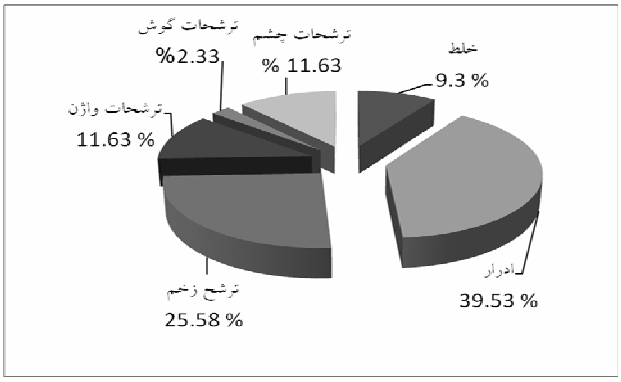
جهت جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک، از فاضلاب تصفیه شده حوضچه سوم بخش سپتیک بیمارستان قائم (عج) مشهد استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا محیط کشت نوترینت براث با غلظت ۱۰x تهیه شد. ۵ میلی لیتر از آن با ۴۵ میلی لیتر از فاضلاب تصفیه شده مخلوط گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه ۴ ساعته *پسودوموناس آئروژینوزا* و چند قطره MgSO4 (۱۰٪ w/v) به لوله حاوی محیط کشت و فاضلاب تصفیه شده افزوده شد. پس از مخلوط کردن محتویات لوله، در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید (۱۰، ۱۱).

جداسازی فاژها با روش کلرفرم انجام شد. بدین ترتیب که ۳ میلی‌لیتر کلروفرم به محتویات هر لوله اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر و ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفوژ شد. فاز رویی حاوی سوسپانسیون فاژ فاضلاب به‌صورت استریل جمع آوری شد. مرحله کلروفرم چندین بار تکرار شد تا سوسپانسیون نسبتا خالص بدست آمد. پس از کنترل سوسپانسیون از نظر عدم آلودگی به باکتری‌های مختلف، در ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شد. لازم به ذکر است که برای تهیه باکتریوفاژ به میزان مورد نیاز این مراحل چندین بار تکرار گردید (۱۰، ۱۱). پس از تهیه باکتریوفاژ مورد نیاز عیار (تعداد ذرات) سوسپانسیون فاژی تعیین شد. بدین منظور ابتدا رقت های سریال از 10^{-1} تا 10^{-10} تهیه شد. پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به ۳ میلی‌لیتر آگار ذوب شده، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از کشت ۴ ساعته باکتری افزوده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس پلاک‌ها در ظروف پتری دارای پلاک قابل شمارش، شمارش گردید. سرانجام عیار سوسپانسیون فاژی محاسبه گردید (۱۰، ۱۱).

جهت بررسی اثرات باکتریسیدی باکتریوفاژهای جداسازی شده بر روی *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به آنتی بیوتیک از دو روش لوله و کشت جامد دولایه استفاده شد (۱۲). ابتدا غلظت‌های فاژی کم، متوسط و زیاد (به ترتیب کمتر از 10^{4}، 10^{4} تا 10^{7}، بیشتر از 10^{7} فاژ در هر میلی‌لیتر) تهیه شد. در روش کشت لوله، ابتدا کشت مایع تازه از باکتری تهیه شد و پس از مقایسه کدورت سوسپانسیون باکتریایی با استاندارد ۰،۵ مک فارلند، مقدار ۱ میلی‌لیتر از باکتری رقیق شده به غلظت‌های فاژی تهیه شده، اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت از محتویات لوله‌ها بر روی محیط کشت تریپتون آگار کشت شد. کشت‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون از نظر رشد باکتری بررسی شدند. در روش کشت جامد دو لایه، غلظت‌های مختلف فاژی و نیز کشت مایع تازه باکتری همانند روش قبل تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت فاژ و ۱۰۰ میکرولیتر از کشت تازه باکتریایی به لوله حاوی ۳ میلی لیتر محیط آگار ذوب شده با درجه حرارت حدود ٤٥ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید. پس از مخلوط کردن به‌طور سریع بر روی ظرف پتری کشت باکتری حاوی تریپتون آگار اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که در هر دو روش از ظرف پتری حاوی کشت باکتری فاقد فاژ به عنوان شاهد استفاده گردید. نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

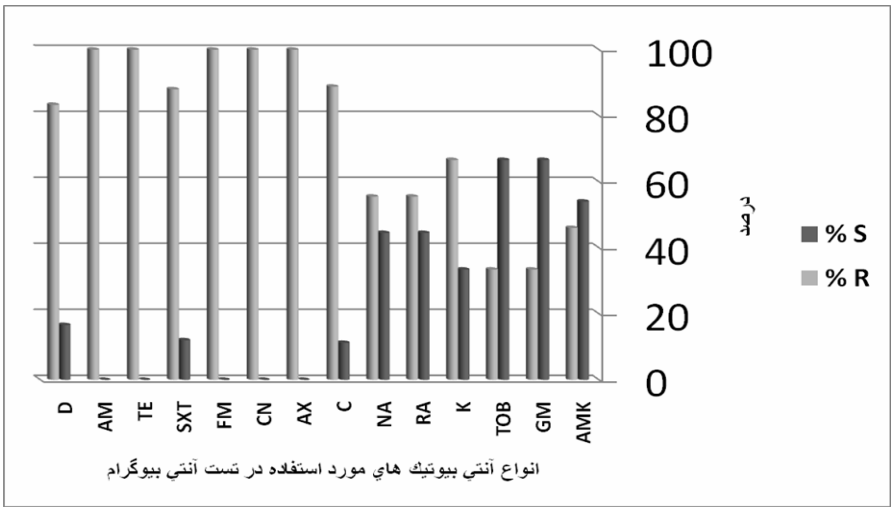
یافته‌ها:

از نمونه‌های مختلف جمع آوری شده از بیماران تعداد ۴۳ مورد ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* بدست آمد. درصد فراوانی ایزوله‌ها به تفکیک نمونه بیماران در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار۱: فراوانی جداسازی *پسودوموناس آئروژینوزا* به تفکیک نوع نمونه بیماران

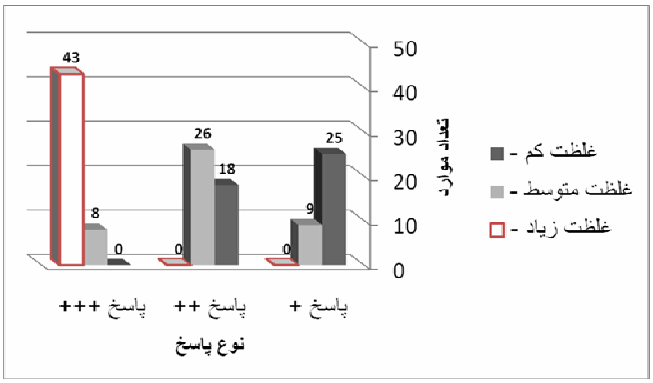
نتایج کلی مقاومت دارویی ایزوله‌ها بدین شرح بود: مقاومت به آمیکاسین در۲۰ ایزوله (۴۶/۵۱ ٪)، مقاومت به جنتامایسین در ۱۴ ایزوله (۳۲/۵۶٪)، مقاومت به توبرامایسین در ۱۴ ایزوله (۳۲/۵۶ ٪)، مقاومت به کانامایسین در ۲۹ ایزوله (۶۷/۴۴٪)، مقاومت به ریفامپین در ۲۴ ایزوله (۵۵/۸۱٪)، مقاومت به نالیدیکسیک اسید در ۲۴ ایزوله (۵۵/۸۱٪)، مقاومت به کلرامفنیکل در ۳۸ ایزوله (۸۸/۳۷٪)، مقاومت به آموکسی سیلین در ۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به سفالکسین در ۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به نیتروفورانتوئین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به سولفامتوکسازول در ۳۸ ایزوله (۸۸/۳۷٪)، مقاومت به تتراسیکلین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به آمپی سیلین در۴۳ ایزوله (۱۰۰٪)، مقاومت به داکسی سایکلین در ۳۶ ایزوله (۸۳/۷۲٪) (نمودار ۲).



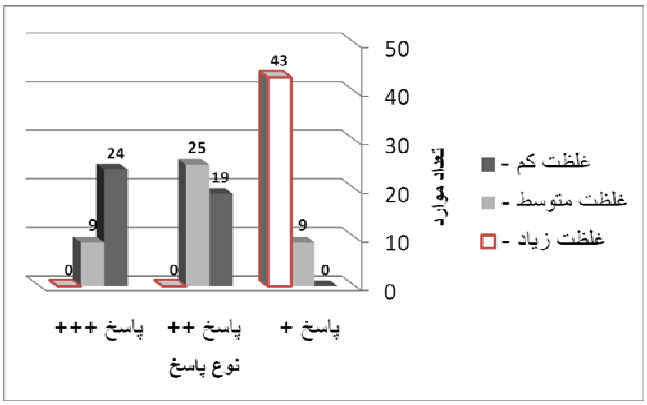
نمودار ۲: درصد حساسیت و مقاومت ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* ، جدا شده از نمونه بیماران به آنتی بیوتیک‌های مختلف (S : حساسیت، R : مقاومت)

آمیکاسین (AMK)،جنتامایسین (GM)، توبرامایسین (TOB)، کانامایسین (K)، ریفامپین (RA)، نالیدیکسیک اسید (NA)،کلرامفنیکل (C)،آموکسی‌سیلین (AX)،سفالکسین (CN)، نیتروفورانتوئین (FM)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)،تتراسیکلین (TE)،آمپی سیلین (AM)، داکسی سیکلین (D)

اثرات فاژها بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* ، بدین ترتیب تقسیم بندی شدند: پاسخ منفی (-)، بدین معنی که غلظت فاژی مورد استفاده هیچ اثر ضد باکتریایی نداشته است. پاسخ یک مثبت (+)، به معنی اثر ضد باکتریایی کم و کاهش کمتر از ۵۰ درصد در تعداد باکتری‌ها نسبت به گروه شاهد بود. پاسخ دو مثبت (++)، به معنی اثر ضد باکتریایی متوسط و کاهش ۵۰ تا ۷۵ درصدی در تعداد باکتری ها نسبت به گروه شاهد بود. پاسخ سه مثبت (+++)، به معنی اثر ضد باکتریایی زیاد و کاهش ۷۵ تا ۱۰۰ درصدی در تعداد باکتری‌ها نسبت به گروه شاهد در نظر گرفته شد (نمودارهای۳ و۴). همانطور که در نمودار ۳ در مورد روش لوله مشخص است در غلظت زیاد فاژی در تمام ۴۳ ایزوله پاسخ سه مثبت (+++)مشاهده شد. در غلظت‌های متوسط و کم به ترتیب پاسخ‌ها بیشتر به صورت دو مثبت (++) و یک مثبت (+) قابل مشاهده بود. نمودار۴ نیز نتایج روش کشت جامد دو لایه را نشان می‌دهد. در این روش در غلظت زیاد فاژی پاسخ در تمام نمونه‌ها به صورت یک مثبت(+) بود. پاسخ دو مثبت(++) و سه مثبت(+++) به ترتیب در غلظت‌های متوسط و کم مشاهده می‌شد.



نمودار ۳: اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نمونه‌های فاژی در روش لوله



نمودار ۴: اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف نمونه‌های فاژی در روش کشت جامد دو لایه

نتایج حاصل ازغلظت‌های کم، متوسط و زیاد در دو روش مختلف کشت لوله و کشت جامد دولایه با استفاده از آزمون آماری کروسکال- والیس مقایسه شدند. غلظت زیاد در هر دو روش به‌طور معنی دار اثر ضد باکتریایی بیشتری از خود نشان داد ($p<0.0001$). مقایسه اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژ در غلظت‌های کم و متوسط آن در دو روش مختلف فوق الذکر تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($p=0.8$ در غلظت کم و $p=1$ در غلظت‌های متوسط و زیاد).

بحث:

یکی از مشکلات درمان بیماری‌های ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا* ، مقاومت آن نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف است. به مقاومت داروئی در مطالعات مختلف اشاره شده است (۱۳، ۱۴).در مطالعه حاضر نیز باکتری‌های جداسازی شده نسبت به بیشتر آنتی بیوتیک‌ها (ودر برخی موارد نسبت به همه آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده) مقاومت نشان دادند. این مطالعه نشان داد که باکتریوفاژ بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* اثرات باکتریسید دارد و با افزایش غلظت فاژ، اثرات باکتریسید هم افزایش می یابد.

با توجه به مقاومت روزافزون، استفاده از باکتریوفاژها به عنوان یک راه فرعی درمانی از مدت‌ها پیش مطرح بوده است. به نحویکه برای درمان برخی از بیماری‌ها مانند تب تیفوئیدی، وبا، زخم‌های دهانی، اسهال و سایر بیماری‌های عفونی استفاده شده است (۵ و ۲۲- ۱۵). با پیشرفت مطالعه در مورد باکتریوفاژها، یکی از محصولات تولیدی به نام اینتستی فاژ (Intestiphage) تهیه شد، که حاوی هفده فاژ مختلف علیه باکتری‌های پاتوژن روده‌ای می‌باشد(۲۳). در مطالعات اخیر نیز به‌ویژه در ایالت

متحده از باکتریوفاژها در تکمیل فناوری‌های پیشرفته از جمله ساخت پوست مصنوعی آغشته به فاژ جهت پیشگیری از عفونت‌های شایع در پیوند پوست استفاده شده است (۲۴).

نظر به اهمیت و نقش باکتریوفاژها در پیشگیری و درمان عفونت‌های باکتریایی، در مطالعات مختلف به‌ویژه به عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک اشاره شده است. نتایج مطالعه حاضر همانند سایر مطالعات، نشان دهنده تاثیر باکتریسیدی باکتریوفاژها می‌باشد. همچنین در این مطالعه اثرات باکتریسیدال غلظت‌های مختلف فاژی بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت فاژ، اثرات باکتریسیدال هم افزایش می‌یابد. این نتایج مشابه مطالعات قبلی می‌باشد (۱۲). این افزایش بستگی به روش مورد استفاده ندارد اما شدت پاسخ (+ یا +++) در روش‌های مختلف، متفاوت است. نکته قابل توجه این است که باکتریوفاژ مورد استفاده صرف نظر از نوع مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جداسازی شده اثرات باکتریسیدال خود را به‌طور نسبتا یکسان اعمال می‌کند. بنابراین، می‌تواند جایگزین مناسبی برای درمان‌های باکتریایی باشد. از دیگر کاربردهای باکتریوفاژها استفاده از آنها به‌جای ضدعفونی کننده‌های قوی در سالن‌ها و بخش‌های مختلف بیمارستان است. با توجه به اختصاصی بودن فاژها و حساسیت متفاوت باکتری‌های مختلف به آنها استفاده از باکتریوفاژهای مربوط به باکتری‌های بیماریزای انسان در این مکان‌ها باعث جلوگیری از استفاده بی‌رویه ضدعفونی کننده‌ها در بیمارستان‌ها می‌شود. این روش باعث می‌شود باکتری‌های طبیعی محیط از بین نروند و شاهد جایگزینی باکتری‌های بیماریزای انسان در این مکان‌ها نباشیم. به‌علاوه، تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که حذف یک باکتری مشکل آفرین از محیط توسط مواد ضدعفونی‌کننده شیمیایی علی‌رغم تلاش‌های مکرر بی‌نتیجه بوده است، و کلونیزاسیون مجدد باکتری مشاهده می‌شود. در چنین مواردی استفاده از باکتریوفاژها راه حل مناسبی برای کنترل آن عامل در محیط خواهد بود. این امر به دلیل قابلیت منحصر به فرد باکتریوفاژها (تکثیر آن‌ها در میزبان خاص) نسبت به سایر مواد ضدعفونی کننده دیگر است که استفاده از این ابزار را انحصاری کرده است.

نتیجه‌گیری:

نمونه‌های باکتریوفاژ جدا شده دارای اثرات باکتریسیدال قابل قبول بر روی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی بیوتیک هستند. اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژها در غلظت‌های بالا به نوع روش مورد استفاده بستگی ندارد. حداقل کاربرد این روش استفاده از باکتریوفاژ جدا شده از فاضلاب جهت حذف باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک و مقاوم به ضد عفونی کننده‌های محیط است. البته یکی از معایب استفاده از باکتریوفاژها این است که جهت اعمال اثرات ضد باکتریایی خود نیاز به شرایط خاص و مدت زمان زیاد دارند، که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها زمان بیشتری می‌باشد.

فهرست مراجع:

1.Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Alternatives to antibiotics: utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent foodborne pathogens *Poult Sci* 2005; **8**4: 655-659.

2.Duckworth DH. Who Discovered Bacteriophage? *Bacteriol Rev* 1976; **40** (4):793-802.

3.Barrow PA, Soothill JS. Bacteriophage therapy and prophilaxis: rediscovery and renewed assessment of potential. *Trends Microbial* 1997; **5**(7): 268-271.

3.Burkhard T, Utakoo P, Dletmar G, Gratiane S, Tlorst V. Nosocomieal acqustion of *psuedomonas aeruginnosa* by cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 1991; **29**: 1265-1267.

4.Skurnik M, Strauch E. Phage therapy: facts and fiction. Int *J Med Microbiol* 2006; **296**: 5–14.

5.Levin BR, Bull JJ. Phage therapy revisited: the population biology of a bacterial infection and its treatment with bacteriophage and antibiotics. *Am Nat* 1996; **147** (6): 881- 898.

6.Slopek S, Kucharewicz-Krukowska A, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. VI. Analysis of treatment of suppurative staphylococcal infections. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1985; **33**(2)**:** 261-73.

7. Livermore DM. The need for new antibiotics. *Clin Microbiol Infect* 2004; **10**: 1–9.
8. Sivera Marza JA, Soothill JS, Boydell P, Collyns TA. Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns* 2006; **32**: 644–646.
۹.ابراهیمی مرضیه. بررسی اثرات ضد باکتریایی باکتریوفاژهای بر ضد *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به آنتی بیوتیک. پایان نامه دکتری داروسازی. دانشکده داروسازی،شماره ۱۰۱۳ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲.
۱۰.امامی پور فاطمه. جداسازی باکتریوفاژهای لیتیک و بررسی اثرات آن بر روی کلبسیلای مقاوم به آنتی بیوتیک. پایان نامه دکتری داروسازی. دانشکده داروسازی،شماره ۱۰۰۰ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲.
11.Payne RJH, Jansen VAA. Understanding bacteriophage therapy as a density-dependent kinetic process. *J Theor Biol* 2001; **208** (1): 37-48.
12.Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev* 2006; **19**: 403–434.
13. McManus AT, Mason AD Jr, McManus WF, Pruitt BA Jr. Twenty-five year review of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a burn center. *Eur J Clin Microbiol* 1985**; 4**: 219–223.
14.Inal JM. Phage therapy: a reappraisal of bacteriophages as antibiotics. *Arch Immunol Ther Exp (Warsaw)* 2003; **51:** 237–244.
15.Mann NH. The third age of phage. *PLoS Biol* 2005; **3:** 182.
16.Mathur MD, Bidhani S, Mehndiratta PL. Bacteriophage therapy: an alternative to conventional antibiotics. *J Assoc Physicians India* 2003; **51:** 593–596.
17.Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyma J, Ujihara T, Kuroda M, Ikeuchi M, *et al*. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother* 2005; **11:** 211–219.
18.Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG. Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother*2001; **45:** 649–659.
19.Summers WC. Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol* 2001; **55:** 437–451.
20.Thacker PD. Set a microbe to kill a microbe. Drug resistance renews interest in phage therapy. *JAMA* 2003; **290:** 3183–3185.
21.Theil K. Old dogma, new tricks—21st century phage therapy. *Nat Biotechnol* 2004; **22:** 31–36.
22.Markoishvili K, Tsitlanadze G, Katsarava R, Morris Jr JG, Sulakvelidze A. A novel sustained-release matrix based on biodegradable poly(ester amide)s and impregnated with bacteriophages and an antibiotic shows promise in management of infected venous stasis ulcers and other poorly healing wounds, *Int J Dermatol* 2002; **41**: 453–458.
23.Guilhermetti M; Hernandes SED; Fukushigue Y; Garcia L B; Cardoso C L. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. Infection control and hospital epidemiology: *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; **22**(2): 105-8.

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۷۹- ۷۳

سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در زنان باردار پذیرش شده در بخش زایمان مرکز آموزشی درمانی کوثر قزوین-۱۳۸۶

عباسعلی اسکندریان*

گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
همراه: ۰۹۱۲۳۸۱۹۰۶۱ abeskan@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۶/۸ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۲/۲

چکیده:

زمینه و اهداف: توکسوپلاسموز مادرزادی، جنین زنانی که قبل از بارداری به توکسوپلاسما آلوده نشده باشند را تهدید می‌کند. عیار سرولوژیک سابقه عفونت نشان دهنده میزان جمعیت زنان در معرض خطر است. این مطالعه با هدف تعیین شیوع توکسوپلاسما در زنان باردار پذیرش شده دربخش زایمان مرکز آموزشی درمانی کوثر قزوین در سال ۱۳۸۶ انجام گردید.

روش بررسی: نمونه خون وریدی ۲۵۵ زن باردار پذیرش شده در بخش زایمان طی ماه‌های تیر تا آذر ۱۳۸۶ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها جهت جستجوی آنتی بادی‌های ضد *توکسوپلاسما گوندی* با روش ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم(IFA) در هشت رقت مختلف (۱:۶۴۰۰ تا ۱:۲۰) آزمایش شد. اطلاعات مورد نیاز(سن، محل سکونت، گروه خونی و Rh ، سابقه سقط جنین، دفعات حاملگی، تماس با گربه)از طریق پرسشنامه جمع‌آوری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های T-test و مجذور کای استفاده شد.

یافته ها: تیتر آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسما **در**۱۶۰ نمونه(۶۲/۷ ٪)۱:۲۰ یا بالاتر بود. ارتباط شیوع آلودگی به توکسو پلاسما با متغیرهای مورد بررسی به سطح معنی دار آماری نرسید($P>0.05$).

نتیجه گیری : تعداد زنان باردار سرم منفی نسبت به توکسوپلاسما در این مطالعه ۳۷/۳% بود. این زنان به‌طور بالقوه در معرض ابتلا به توکسوپلاسوز اکتسابی حاد طی دوران حاملگی و انتقال آن به جنین خود می‌باشند. آموزش و ارتقاء آگاهی این زنان نسبت به معیارهای پیشگیری و مراقبت از خود واجد اهمیت فراوان است.

کلید واژه ها: سرواپیدمیولوژی، توکسوپلاسموز، زنان باردار، مرکز آموزشی درمانی کوثر، قزوین

مقدمه:

توکسوپلاسموز عفونتی است که انتشار جهانی دارد. عامل اتیولوژیک آن *توکسوپلاسما گوندی*، تک یاخته انگلی با زندگی درون سلولی اجباری است. این انگل در اصل مربوط به گربه و گربه سانان است ولی در طبیعت طیف وسیعی از مهرداران خونگرم از جمله انسان را آلوده می‌کند (۱). برآورد می‌شود، ثلث جمعیت‌های انسانی به این انگل آلوده باشند. این عفونت به اشکال اکتسابی و مادرزادی دیده می‌شود. در افراد مبتلا به نقص ایمنی به‌خصوص در مبتلایان به HIV/AIDS ، آنسفالیت و عفونت سیستمیک با تمایلات فرصت طلبی ایجاد می‌کند. ابتلاء اولیه مادر به نوع حاد عفونت در دوران بارداری می‌تواند سبب انتقال به جنین شود. در این صورت عفونت می‌تواند با دامنه وسیعی از علائم بالینی با شدت مختلف، از سقط جنین یا عفونت شدید دوران نوزادی تا عفونت‌های بدون علامت همراه باشد (۳،۲). انسان به‌طور عمده از طریق خوردن گوشت آلوده کم پخته شده و سبزیجات و میوه‌های واجد فرم مقاوم انگل (اووسیست رسیده) و همچنین از طریق جفت،آلوده می‌شود. (۴)

بروز آلودگی اکتسابی جدید به میزان خطر آلوده شدن در منطقه‌ی مورد نظر و مقدار جمعیتی که قبلا آلوده نشده‌اند، بستگی دارد. لذا، اطلاع دقیق از میزان شیوع توکسوپلاسموز در هر منطقه ضروری است. در دنیا، بالاترین میزان شیوع مربوط به کشور فرانسه با حداقل ۵۰ درصد جمعیت سرم مثبت است (۴،۳) . در ایران نیز مطالعات فراوانی در این خصوص انجام گرفته که حاکی از شیوع عفونت در سراسر کشور است. در مطالعات اخیر، میزان شیوع بر اساس وجود تیتر ۱:۲۰ و بالاتر IgG اختصاصی سرم در کاشان ۵۰/۸٪، در مشکین شهر ۲۱/۸٪، در یزد ۳۹/۸٪، در کرمانشاه ۳۶/۳٪، در کرج۴۵٪، در ساوه ۳۵/۵٪ و در اسلامشهر ۳۹٪ سرم مثبت تعیین وبالاترین مقدار مربوط به شمال کشور گزارش شده است(۱۳-۵) توکسوپلاسموز مادرزادی در مواردی اتفاق می‌افتد که زن باردار در دوره حاملگی به عفونت حاد مبتلا شود. زنان با سیستم ایمنی کارآمد و سرم مثبت می‌توانند از سلامت جنین خود در مقابل توکسوپلاسموز مادرزادی مطمئن باشند(۱۵،۱۴). میزان انتقال در دوره جنینی در سه ماهه اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۱۰٪ تا ۲۵٪ ، ۳۰٪ تا ۵۴٪ و ۶۰٪ تا ۶۵٪ است(۱۵).

برنامه‌های پایش و پیشگیری از فرم مادرزادی در بعضی کشورها مثل فرانسه انجام می‌شود. در ایران برنامه‌ای در این خصوص وجود ندارد. بر این اساس ابتدا تعیین جمعیت در معرض خطر(زنان باردار و یا در سن ازدواج و باروری سرم منفی) و سپس طراحی برنامه‌ای مناسب در راستای آموزش و ارتقاء اطلاعات جمعیت هدف به‌منظور رعایت دقیق معیارهای پیشگیری و کم کردن احتمال آلودگی، حائز اهمیت فراوان است (۱۹-۱۶). در ایران مطالعات فراوانی در این خصوص و روی جمعیت زنان باردار یا در آستانه ازدواج به انجام رسیده است. از جمله: در قزوین، قم، بوشهر، مازندران و همدان میزان خانم‌های سرم منفی به ترتیب: ۵۴/۶۶ ٪، ۵۶/۵٪ ، ۴۴/۲ ٪ و۵۵/۶ ٪ تعیین و گزارش شده است (۲۵-۲۰).

تعیین میزان مادران در معرض خطر و اهتمام در طراحی و اجراء برنامه‌های موثر جهت کاهش هر چه بیشتر احتمال ابتلاء مادر در دوره بارداری و انتقال عفونت به جنین،حائز اهمیت است. لذا، مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع توکسوپلاسما در زنان باردار پذیرش شده دربخش زایمان مرکز آموزشی درمانی کوثر قزوین در سال ۱۳۸۶ طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها:

۲۵۵ نفر زن باردار که طی ماه‌های تیر تا آذر ۱۳۸۶ در بخش زایمان بیمارستان آموزشی کوثر قزوین پذیرش شده بودند به‌طور تصادفی انتخاب شدند. از هر یک ۳ میلی‌لیتر خون وریدی جمع آوری و در جعبه سرد، همه روزه تا کامل شدن تعداد نمونه‌ها، به آزمایشگاه تحقیقات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انتقال یافت. نمونه‌های سرم جداسازی شدند و تا زمان انجام آزمایش در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اطلاعات مورد نیاز(سن، محل سکونت، گروه خونی و Rh ، سابقه سقط جنین، دفعات حاملگی، تماس با گربه)از طریق پرسشنامه جمع‌آوری شدند.

برای تعیین تیتر IgG اختصاصی ضد توکسوپلاسما از روش ایمونوفلئورسانس غیرمستقیم(IFAT) استفاده شد. جهت غربالگری سرم‌ها از رقت‌های اولیه ۱:۲۰ و ۱:۱۰۰ مثبت استفاده شد. نمونه‌های منفی جداسازی و کنار گذارده شدند. تیتر نمونه‌های مثبت اولیه، از رقت‌های ۱:۲۰۰ تا ۱:۶۴۰۰، مطابق با روش قربانی و همکاران تعیین شد(۱۳). در این مطالعه آنتی‌ژن مورد نیاز از انستیتوپاستور ایران و سرم

کونژوگه با فلئوروسئین ایزوتیوسیانات ضد سرم انسانی (anti human serum conjugate)خرگوش از شرکت بهرینگر آلمان تهیه گردید.

آزمون مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده و به‌طور خلاصه به شرح ذیل انجام شد: ابتدا سرم با آنتی‌ژن به مدت ۳۰ دقیقه در اطاقک مرطوب و دمای آزمایشگاه انکوبه شد. پس از سه مرحله شستشو با بافر فسفات سالین (PBS; 0.15M, pH:7.4) دوباره انکوباسیون با افزودن سرم کونژوگه حاوی اوانس بلو ۱ ٪ بر نمونه‌ها تکرار شد. پس از شستشوی نمونه‌ها، پاسخ با میکروسکوپ ایمونوفلورسانس (Leitz) قرائت شد. تیتر نهایی رقیق ترین تیتری از سرم بود که واجد تلالوء سبز درخشان در اطراف تاکی‌زوئیت‌ها بود. عیار مساوی یا بیشتر از ۱:۲۰ مثبت و عیار ۱:۲۰۰ و بیشتر به‌عنوان موارد قابل توجه و پیگیری بالینی، در صورت وجود علائم بالینی دیگر(نظیر لنفادنوپاتی و مشکلات بینایی)، در نظر گرفته شد.

ارتباط موارد سرم مثبت با متغیرهای مورد نظر از طریق آزمون‌های T test و مجذور کای تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها:

از ۲۵۵ نفر زنان بارداری که در این مطالعه شرکت داشتند، ۱۴۶ نفر(۵۷/۳٪) ساکن شهر و بقیه روستایی بودند که در سنین بین حداقل ۱۵ و حد اکثر ۴۲ سال با میانگین ۵/۳۹ ± ۲۴ سال و میانه ۲۳ سال قرار داشتند. بیشترین فراوانی مربوط به دو گروه سنی ۲۴-۲۰ و ۲۹-۲۵ سال به ترتیب با ۳۸/۸۲& و۲۶/۲۷& بود و ۹۰& آنان زیر ۳۵ سال سن داشتند.

ابتدا فراوانی تیترهای مختلف آنتی‌بادی اختصاصی ضد توکسوپلاسما (IgG) تعیین گردید. تیتر ۱:۲۰ بیشترین فراوانی (۲۳/۱۴٪) و کمترین فراوانی مربوط به تیتر ۱:۲۰۰ (۳۹/.٪) بود(جدول ۱).

جدول ۱: توزیع فراوانی تیتر (IgG) اختصاصی ضد توکسوپلاسما

IgGتیتر	تعداد	در صد	فراوانی تجمعی
<۱:۲۰ (منفی)	۹۵	۳۷/۲۶	۳۷/۲۵
۱:۲۰	۵۹	۲۳/۱۴	۶۰/۳۹
۱:۱۰۰	۳۶	۱۴/۱۲	۷۴/۵۱
۱:۲۰۰	۱	./۳۹	۷۴/۹۰
۱:۴۰۰	۷	۲/۷۵	۷۷/۶۵
۱:۸۰۰	۸	۳/۱۴	۸۰/۷۸
۱:۱۶۰۰	۶	۲/۳۵	۸۳/۱۴
۱:۳۲۰۰	۱۱	۴/۳۱	۸۷/۴۵
۱:۶۴۰۰	۳۲	۱۲/۵۵	۱۰۰/۰۰

فراوانی سرم مثبت در زنان ساکن شهر ۶۰/۹۶٪ و در زنان ساکن روستا۶۵/۷۱٪ بود. اختلاف به سطح معنی‌دار آماری نرسید(P>0.05).

توزیع فراوانی افراد سرم مثبت در گروهای سنی در جدول ۲ ارائه شده‌است. کمترین تعداد(۵۰٪)مربوط به گروه ۱۹-۱۵ سال و بیشترین تعداد (۱۰۰ ٪) در گروه سنی۴۵-۴۰ سال مشاهده شد. نحوه تماس با گربه در این مطالعه به‌عنوان یک متغییر در نظر گرفته شد. در صد مثبت شدن سرم درافرادی که سابقه تماس با گربه داشته‌اند(۵۲/۱۱ ٪) در مقابل زنانی که تماس با گربه را منفی ذکر کرده بودند(۴۷/۸۹&)، بود. این اختلاف کوچک به حد معنی‌داری نرسید(P>0.05) .

متغیر دیگر سابقه سقط جنین و تعداد احتمالی موارد سقط در سابقه این زنان در مقایسه با زنانی بود که برای اولین نوبت وضع حمل می‌کردند و یا سابقه سقط نداشتند. زنان از این نظر به ۳ گروه فاقد سقط، یک مورد سقط و دو مورد سقط یا بیشتر تقسیم شدند(جدول۲). گر چه درصد مثبت بودن سرم در زنان بدون سابقه سقط ، یک بار سقط و دو بار سقط به ترتیب۶۲/۵٪ و ۶۳/۳۳٪ و ۶۶/۶۷٪ بودولی اختلاف معنی‌دار نبود(P>0.05) .

جدول ۲: توزیع فراوانی تیتر مثبت IgG اختصاصی ضد توکسوپلاسما در زنان باردار به تفکیک متغیرهای مورد بررسی

گروهای سنی(سال)	تعداد	تعداد سرم مثبت (٪)	دفعات حاملگی	تعداد	تعداد سرم مثبت (٪)	تعداد سقط	تعداد	تعداد سرم مثبت (٪)
۱۹-۱۵	۵۰	(۵۰)۲۵	۱	۹۹	(۶۱/۶۲)۶۱	۰	۲۱۶	(۶۲/۵۰)۱۳۵
۲۴-۲۰	۹۹	(۶۳/۶۴)۶۳	۲	۶۷	(۷۰/۱۵)۴۷	۱	۳۰	(۶۳/۳۳)۱۹
۲۹-۲۵	۶۷	(۷۳/۱۳)۴۹	۳	۴۵	(۵۳/۳۳)۲۴	۲وبیشتر	۹	(۶۶/۶۷)۶
۳۴-۳۰	۲۰	(۵۰)۱۰	۴	۱۵	(۸۰)۱۲			
۳۹-۳۵	۱۵	(۶۰)۹	۵و بیشتر	۲۸	(۵۷/۱۴)۱۶			
۴۴-۴۰	۴	(۱۰۰)۴						
جمع	۲۵۵	(۶۱/۹۷)۱۶۰		۲۵۴	(۶۲)۱۶۰		۲۵۵	(۶۲/۷۵)۱۶۰

توزیع موارد سرم مثبت در ارتباط با نوبت زایمان هم بررسی شد. از این نظر افراد بر حسب نوبت زایمانی به شکم اول،دوم،سوم، چهارم، پنجم و بیشتر دسته بندی شدند. وضعیت تیتر آنتی بادی تعیین و ارتباط این دو بررسی گردید (جدول ۲). افزایش تیترها با افزایش تعداد دفعات زایمان افزایش نشان می‌داد ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نشد (P>0.05).

توزیع فراوانی آنتی بادی در ارتباط با گروهای خونی سیستم ABO وRh نیز بررسی شد. گروه خونی B^+ و سرم مثبت بیشترین موارد (۷۱/۸۳ ٪) را به خود اختصاص داده بود. کمترین (۵۸/۸۹ ٪) آن مربوط به گروه خونی AB^+ بود.

بحث:

مطالعه حاضرنشان داد ۳۷/۳ درصد زنان مورد مطالعه فاقد آنتی‌بادی (IgG) ضد توکسوپلاسما هستند. این مقدار در مقایسه با بسیاری از استان‌های دیگر کمتر است. در مطالعات اخیر این میزان برای کاشان ۴۹/۲درصد، مشکین‌شهر ۷۷/۷درصد ، یزد ۶۲/۲درصد ، کرمانشاه ۶۳/۷درصد ، کرج ۵۵درصد ، ساوه ۵۴/۵درصد و اسلامشهر ۶۱درصد گزارش شده‌است (۱۲-۵). میزان پایین افراد سرم منفی احتمالا در ارتباط با شرایط مساعد آب و هوایی در قزوین برای اسپوردار شدن اووسیست‌ها و قابل مقایسه با شهرهای شمال کشور، برای انجام سیر تکاملی انگل است. همچنین حضور تعداد معتنا بهی از اهالی شمال کشور در

قزوین و رفت و آمد مداوم آنان می‌تواند دلیل دیگری بر شیوع نسبتا بالای افراد سرم مثبت باشد. مطالعات دیگر در شهرهای مختلف، میزان زنان سرم منفی را به‌شرح زیر گزارش کرده‌اند: قزوین، قم، بوشهر، مازندران و همدان، به ترتیب: ۵۴/۶۶ درصد ، ۵۶/۵ درصد ، ۴۴/۲ درصد و ۵۵/۶ درصد (۲۴-۲۰).

اختلاف بین درصد زنان سرم مثبت که در شهر و روستا ساکن بودند به حد معنی دار آماری نرسید. در این مورد در مطالعات مشابه دیدگاه‌های واحدی وجود ندارد. در اغلب موارد اختلاف قابل ملاحظه‌ای در این مورد مشاهده نمی‌شود.(۲۴- ۲۰)

رابطه سقط جنین و تعداد دفعات آن با وضعیت آنتی بادی ضد توکسوپلاسموز بررسی شد. درصد مثبت بودن سرم در زنان بدون سقط قبلی، یک بار سقط و دو بار سقط به ترتیب۶۲/۵ و ۶۳/۳۳ و ۶۶/۶۷ درصد تعیین گردید ولی این اختلافات معنی‌دار نبود. در مطالعه علیمحمدی نیز تعداد زنان سرم مثبت دارای سابقه سقط ۱۱/۳ در صد در مقابل ۹/۶ در صد سرم مثبت و بدون سابقه سقط بدست آمد که اختلاف معنی‌دار نشده است(۲۵).

تماس با گربه، دفعات زایمان و نوع گروهای خونی سیستم ABO مورد بررسی قرار گرفت. در تمام موارد اختلافات جزیی به نفع توکسوپلاسموز مشاهده گردید. اما، در هیچ مورد این اختلافات به سطح معنی‌داری نرسیدند. در مطالعات دیگری نیز که در کشور انجام پذیرفته است وضعیت مشابهی دیده می‌شود (۲۵-۲۰).

اقداماتی را که در این زمینه می توان انجام داد شامل اقدامات مراقبتی شخصی است که باید به‌خصوص توسط خانم‌های باردار و سرم منفی اعمال گردد. از جمله؛ رعایت موازین بهداشت فردی و اجتماعی، استفاده از آب و غذای بهداشتی و مطمئن، خوب و کامل پختن غذاهایی که از گوشت و فراورده‌های گوشتی تهیه می‌شوند، شستشوی کامل و دقیق سبزیجات و میوه‌جاتی که احتمال آلودگی آن به اووسیست‌های توکسوپلاسما وجود دارد، اجتناب از گربه و هر چیز که ممکن است به‌نوعی به مدفوع گربه آلوده شده باشد. همچنین تعیین وضعیت سرمی آنان نسبت به توکسوپلاسموز و اطلاع سریع و بهنگام از هر نوع تغییر تیتر سرم از حالت منفی به مثبت(seroconvergen) به‌طور ماهیانه در طی مدت بارداری با نظر پزشک می‌تواند به میزان زیادی از انتقال عفونت به جنین جلوگیری نماید. هر چند در بسیاری از موارد اختلاف متغیرهای مورد مطالعه مشهود بود ولی احتمالا برای معنی دار شدن آن نیاز به نمونه با حجم بیشتر است. به این منظور انجام مطالعات وسیع‌تر با حجم نمونه بیشتر و در تمام جمعیت ضرورت دارد.

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که بیش از ثلث زنان در سن باروری و ازدواج در قزوین از نظر حضور آنتی بادی‌های ضد توکسوپلاسما منفی هستند. پس لاجرم به‌طور بالقوه در معرض خطر ابتلاء به توکسوپلاسموز حاد در طول دوره بارداری و متعاقبا انتقال عفونت به جنین وایجاد توکسوپلاسموز مادر زادی هستند. در این رابطه نقش آموزش بهداشت و ارتقاء فرهنگ بهداشتی و تقدم پیشگیری بر درمان توکسوپلاسموز باید مد نظر قرار گیرد.

توصیه می‌شود با تشکیل کمیته ملی توکسوپلاسموز در کشور با اجماع انگل شناسان و متخصصین عفونی استانداردهایی جهت یکسان‌سازی تست‌های متداول تشخیصی و استفاده از یک نوع مواد و روش آزمون تهیه و به آزمایشگاه‌های سراسر کشور ابلاغ گردد. همچنین تست نسبتا ساده، ارزان و در عین حال دقیق برای غربالگری و کشف توکسوپلاسموز مادر زادی به‌خصوص در دوره بارداری و حتی بعد از آن معرفی و زمینه انجام آن به‌خصوص روش‌های دقیق مولکولی به‌طور روتین فراهم گردد.

تقدیر و تشکر:

حمایت مادی این طرح به‌عهده دانشگاه علوم پزشکی قزوین بود، که بدینوسیله سپاسگزاری می‌نماید. از پرسنل و همکاران محترم شاغل در مرکز آموزشی درمانی کوثر جهت انتخاب افراد مورد مطالعه و اخذ نمونه‌های خون تشکر می‌شود.

فهرست مراجع:

1. Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States of America. *Intern J Parasitol* 2008; **38**(11): 1257-1278.
2. Kim k, Weiss LM. Toxoplasma: the next 100 years. *Micr Infect* 2008; **10**: 978-984.
3. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, *ed. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 6th* ed. Philadelphia; W.B. Saunders 2006;PP: 947-1091.
4. Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Heal Res Rev* 2005; **6**(1):41-61.
5. Arbabi M, Asmar M, Rasti S. Seroepidemiology of Toxoplasmosis in Kashan. *Feyz* 1993; **2**(1): 29-37.
6. Chegini S, AM, Abadi AR, Bagheri Yazdi SA. Toxoplasma infection in human and domestic animals. *J Babol univ med sci* 1999; **12**(3): 47-52.
7. Keshavarz H, Zibaei M. Seroepidemiologic survey of Toxoplasmosis in Karaj district. *Iranian J pub heal* 1998;**(23:4)**: 73-82.
8. Keshavarz H, N.M., Eskandari SE. A seroepidemiologic survey of Toxoplasmosis in Islamshahr district of Tehran, Iran *Modarres J med sci* 2003; **2**(6): 111-119.
9. Mansouri F, Mahdavian B, Hashemian AH. Epidemiology of Toxoplasmosis in Kermanshah province. *Behbood;* 2003; **17**(7): 12-19.
10. Moteallehi Ardakani A, Mohammad Zadeh M, Ebadi M. A seroepidemiological survey of Toxoplasmosis in Yazd city. *J shahid Sadoughi uni med sci* 2003; **4**(9): 59-65.
11. Soltan Mohammad Zadeh MS, KH, Mohebali M, Holakouie Naieni K, Arshi Sh. Seroepidemiologic study of human Toxoplasma infection in residents of Meshkin-Shahr. *J shahid Sadoughi uni med sci* 2003; **4**(1): 57-72.
12. Talari S, Rasti S, Shadzi Sh .Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in pregnant females referring to Ashrafi Isfahani Hospital in Khomeinishahr. *Feyz* 2000:; **24** (6) 32-37.
13. Ghorbani M, Assad N serological survey of toxoplasmosis in the northern part of Iran using indirect fluorescent antibody technique. *Trans act Roy scos trop med hyge* 1978; **72**: 369-371.
14. Jones, JL. Congenital Toxoplasmosis: A Review .*Obstet Gynecol Surv* 2001; **56**(5): 296-305.
15. Weiss LM, Kami K, The International Congress on Toxoplasmosis. *Inter J Parasitol* 2004. **34**: 4.
16. Petersen, E. Protozoan Diseases: *Toxoplasmosis*, in *Internat Encyclo Pub Heal* 2008, Academic Press: Oxford;PP: 382-394.
17. Dodds, EM. Toxoplasmosis. *Curre Opin Ophthal*, 2006. **17**(6): 557-561.
18. Boothroyd, J.C., Toxoplasma gondii*:* 25 years and 25 major advances for the field. *Inter J Parasitol*, 2009. **39**(8): 935-946.
19. Djurkovic-Djakovic, O., Tackling toxoplasmosis. *The Lancet*, 2002. **359**(9303): 363-363.

۲۰.سرایی م، جهانی هاشمی ح. شیوع سرولوژیک توکسوپلاسما گوندیی در دختران مراجعه‌کننده به مرکز پزشکی جامعه نگر قزوین برای انجام آزمایش‌های قبل از ازدواج (۱۳۸۱)،*مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی قزوین*، ۱۳۸۶؛ دوره ۱۱، بهار، شماره ۱: صص ۱۲ تا ۱۷

۲۱. مردانی ا، کشاورز ح . بررسی سرواپیدمیولوژی عفونت توکسوپلاسمایی به روش‌های IFA و ELISA در خانم‌های باردار استان قم، *مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران*. ۱۳۸۳؛ دوره ۹ شماره ۲۵: صص ۴۶ تا ۵۲

۲۲. فولادوند م ع، جعفری ج. شیوع آنتی بادی‌های ضد توکسوپلاسما در زنان حامله بوشهر، ۱۳۷۸. *طب جنوب، فصلنامه پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر*، ۱۳۷۹؛ دوره ۳، اسفند، شماره ۲: صص۱۱۳ تا ۱۱۶

۲۳. عجمی ا،شریف م، صفار م ج، ضیایی ه. بررسی سرولوژی توکسوپلاسموزیس در خانم‌های معرفی شده جهت انجام آزمایشات قبل از ازدواج در استان مازندران در سال ۱۳۷۸ *مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی*

مازندران، ۱۳۸۰؛ دوره ۱۱، تابستان، شماره ۳۱: صص ۵۱ تا ۵۶

۲۴. فلاح م، مئینی م، طاهر خانی ح ا، ربیعی ص، حاجیلویی م. سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در زنان باردار شکم اول در شهر همدان در سال ۸۳- ۱۳۸۲ *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان*، ۱۳۸۵؛ دوره ۱۳، بهار، شماره ۳۹: صص ۳۳ تا ۳۷

۲۵. علیمحمدی ح، فولادی ن، امانی ف سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در خانم‌ها بر اساس آزمایشات قبل از ازدواج. *مجله علمی – پوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل*، ۱۳۸۷؛ دوره ۷،زمستان، شماره ۴: صص ۴۰۸ تا ۴۱۲

واژه‌گزینی در میکروب‌شناسی

فرهنگستان زبان و ادب فارسی، به دنبال دعوت از انجمن‌های علمی کشور، هم اندیشی انجمن‌های علمی و برون سپاری واژه‌گزینی را در خرداد ماه ۱۳۸۸ برگزار نمود. انجمن علمی میکروب‌شناسی ایران هم، همانگونه که زیبنده آن بود، در این هم اندیشی حضور پر رنگ داشت.

ابتدا آقای دکتر غلامعلی حداد عادل ، رئیس فرهنگستان و مدیر گروه واژه‌گزینی ، به بیان اصول و مبانی واژه‌گزینی از دیدگاه فرهنگستان پرداخت و آنها را چنین برشمرد:

- زبان فارسی از ارکان هویت ما و نشانه ایرانی بودن ماست.
- دنیا در حال توسعه است وجهان در حال توسعه به زبان در حال توسعه نیاز دارد ؛ وگرنه یا جهان از توسعه باز می‌ماند یا زبان منسوخ می‌شود.
- واژه‌گزینی، که یافتن کلمات نو برای مفاهیم نو است، از لوازم توسعه زبانی است.
- زبان فارسی همچون زبان انگلیسی از خانواده زبان‌های هندواروپایی است و می‌تواند و باید زبان علم ما باشد. اعتقاد نداریم که به دلیل استفاده از اختراعات غربیان، باید از واژه‌های آنها نیز بهره برد، بلکه لازم است در زبان خود واژه‌هایی را بسازیم یا بیابیم. در سال‌های دور با ساختن واژه‌های " هواپیما " و " فرودگاه " به جای "آئروپلان " و " ایرپورت " ضرر نکردیم. اکنون معتقدیم که می‌توان در سطوح عالی دانشگاهی به زبان فارسی تدریس کرد ؛ زیرا قصد نداریم مانند کشورهای عرب زبان ، با وادادگی سیاسی ، زبان انگلیسی را زبان علمی خود کنیم.
- واژه گزینی ، علمی میان رشته‌ای است و ما کوشیده‌ایم در ۲۰ سال اخیر این علم را در ایران تولید کنیم. کار را از ابتدا آغاز کردیم و در حال حاضر، مجموعه غنی و وسیعی از نرم افزارهای واژه‌گزینی را در اختیار داریم.
- واژه‌گزینی کاری نیست که به یک سازمان منحصر شود. چنین کاری نه مفید است نه ممکن. واژه‌گزینی باید در محیط‌های علمی و صنعتی به فرهنگ تبدیل شود و همه به آن توجه داشته باشند.

ایشان در پایان اظهار کردند: انتظار فرهنگستان از انجمن‌ها عشق و ایمان و علاقه به کار است. با مطالعه آیین‌نامه واژه‌گزینی و دعوت از افراد با دانش و علاقه‌مند و سخت کوش ، واژه‌گزینی را توسعه دهید و در حفظ زبان فارسی فرهنگستان را یاری کنید.

در ادامه خانم نسرین پرویزی، معاون گروه واژه‌گزینی، به معرفی این گروه پرداخت. ایشان اظهار کردند که گروه واژه‌گزینی در سال‌های آغازین کار، ضوابط واژه‌گزینی را تدوین و از سال ۱۳۷۴ بررسی واژه‌های بیگانه به کار رفته در مطبوعات عمومی کشور را آغاز کرد. در طول دو سال حدود سیصد معادل برای واژه‌های عمومی بیگانه تصویب و در دو کتابچه منتشر شد. پس از آن، گروه که به تجربه این نتیجه دست یافته بود که هر واژه عمومی متعلق به حوزه‌ای تخصصی است، با همکاری فرهنگستان‌های علوم ، علوم پزشکی و سپس هنر گروه‌های واژه‌گزینی تخصصی را تشکیل داد اکنون حدود سیصد استاد دانشگاه و متخصص در قالب پنجاه گروه واژه‌گزینی و شورای هماهنگی با فرهنگستان همکاری مستمر دارند.

ایشان به روند تشکیل گروه‌ها ومراحل کار واژه‌گزینی اشاره و اظهار کردند تشکیل گروه‌های واژه‌گزینی تخصصی بر اساس نیاز جامعه صورت می‌گیرد. فرهنگستان از دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی و انجمن‌های علمی درخواست می‌کند که افراد علاقه‌مند و توانا را برای این کار معرفی کنند و پس از بررسی سوابق آنها، از ایشان برای همکاری دعوت می‌شود. سپس، ترکیب و روند کار گروه واژه‌گزینی را توضیح دادند.

از سال ۱۳۸۴ به منظور تسریع در کارها، اختیار شورای فرهنگستان در تصویب واژه‌ها به شورای واژه‌گزینی تفویض شده است. بنابراین، واژه مصوب این شورا، تصویب شده فرهنگستان محسوب و برای مدت مشخصی، که فعلا سه سال است، رسما توسط رئیس جمهور، که رئیس عالیه فرهنگستان‌ها هستند، به کلیه مراکز وسازمان‌ها ابلاغ می‌شود. در طول این مدت واژه‌ها به نظر خواهی گذاشته می‌شود و در صورت نبود اشکال در آنها، پس از اتمام مدت تعیین شده به تصویب نهایی شورای فرهنگستان می‌رسد.

امیدواریم با کمک انجمن‌ها بتوانیم در حوزه‌هایی که تاکنون فعالیت واژه‌گزینی به این شکل انجام نشده است، کار را شروع کنیم.

بعد آقای دکتر رضا منصوری ، مدیر بخش برون‌سپاری، هم به تشریح دو مفهوم " اجتماع علمی " و " گفتمان علمی" و تاثیر این دو در زبان علمی فارسی پرداختند و گفتند: علم جدید در طول سیصد سال اخیر تحولات زیادی داشته است که در ایران به آن توجه عمیق نشده است. دو مفهوم اجتماع علمی و گفتمان علمی بیان‌گر تفاوت علم قدیم و جدید است. این مفاهیم در جهان صنعتی محور رشد و پیشرفت است و در ایران، بی توجهی به آن موجب بروز اشکالاتی در اصول اخلاق علمی، رواج مدرک گرایی، تصور اشتباه از آموزش علوم و مفهوم دانشگاه شده است. ایشان اظهار کردند که در اجتماع علمی (scientific community) درستی یا نادرستی یک نظریه از خلال مناظره و با نتیجه‌گیری از موفقیت یا شکست آن به دست نمی‌آید، بلکه با طرح نظریه در نشریه‌ها و گردهمایی‌های علمی و بررسی میزان ارجاعات به آنها تعیین می‌شود؛ به عبارت دیگر، اجتماع علمی درباره آن قضاوت می‌کند. به این ترتیب مشخص است که سازوکار پذیرش نظریه در علم قدیم و جدید متفاوت است. یکی از عوارض نبود اجتماع علمی در ایران، طرح نظریه در رسانه‌ها و در نتیجه، بروز انواع تقلب‌هایی است که به این طریق رخ می‌دهد. البته باید گفت همه کشورهای اسلامی با این پدیده نبود دست به گریبان هستند.

آقای دکتر منصوری سپس به مفهوم گفتمان علمی(scientific discourse) اشاره کردند و گفتند: این پدیده دربرگیرنده مفاهیمی چون زبان علم، رفتار همقطاران علمی با یکدیگر، آداب برگزاری گردهمایی‌ها، آداب شرکت در گردهمایی‌ها و طرز قضاوت علمی است. در ایران گردهمایی علمی هنوز نقش اصلی خود را در اجتماع علمی به عهده نگرفته است و باید گفت که محمل شناخته شده‌ای برای ارائه یک اثر علمی جدید وجود ندارد. بنابراین دانشگران ترجیح می‌دهند کار خود را در گردهمایی‌های خارجی مطرح کنند که گفتمان علمی دارند و از بازتاب آن می‌توان بهره برد. بخشی از اعتبار علمی افراد به کمک گفتمان علمی کسب می‌شود. در چند سال اخیر برخی از جامعه شناسان به این امر توجه کرده‌اند و درباره گفتمان علمی در ایران مطالعاتی انجام داده‌اند که به صورت چند مقاله منتشر شده است.

پس از آن اظهار کردند که زبان علمی فارسی بخشی از اجتماع و گفتمان علمی است و از این رو نیز اهمیت بسیاری دارد. انجمن‌های علمی که پس از انقلاب رشد قابل توجهی داشته‌اند، استاس اجتماع علمی محسوب می‌شوند. از آنجا که پذیرفته‌ایم زبان علمی ما باید زبان فارسی باشد و از این رو که فرهنگستان زبان و ادب فارسی ازمراکز فعال درامر برنامه‌ریزی زبان است، در امر برون‌سپاری واژه‌گزینی اولین گام به سوی انجمن‌ها برداشته شده است.

بخش پایانی هم اندیشی به پاسخ‌گویی به پرسش‌های حضار اختصاص داشت. اینجانب نیز از سوی انجمن علمی میکروب‌شناسی برخی از مشکلات موجود در واژه‌گزینی حوزه پزشکی را برشمردم و نبود آموزش‌های لازم در دانشگاه‌ها را علل ناتوانی محققان در تهیه متون روان و صحیح علمی فارسی دانستم .

سپس همکاری با فرهنگستان زبان و ادب فارسی شکل گرفت. به این ترتیب بود که گروه واژه‌گزینی میکروب‌شناسی یکی از گروه‌های واژه‌گزینی فعال فرهنگستان زبان و ادب فارسی شد. اکنون در پی تلاش‌های خستگی ناپذیر همکاران و اندوختن تجربه گرانبها ، این گروه فعالیت خود را به طور رسمی آغاز کرده است. این گروه مرکب از اساتید علاقمند و با تجربه‌ای است که این مهم را پیگیری می‌کنند.

مدیر گروه واژه‌گزینی انجمن علمی میکروب شناسی ایران، در فرهنگستان زبان و ادب فارسی هم به عنوان نماینده تام الاختیار انجمن علمی میکروب‌شناسی ایران فعالیت می‌نماید. مدیر گروه واژه‌گزینی میکروب‌شناسی برای این مهم از همه اساتید، پژوهشگران، دانشجویان و

علاقمندان تقاضـای ارشاد و راهنمائی دارد. امید است به لطف و مرحمت الهی و یاری همه فرزانگان علم میکروب‌شناسی که دل در گرو زبان و فرهنگ این مرز و بوم کهن دارند، اندوخته گرانبهائی برای آیندگان فراهم آید.

مطالبـی که در این باب در مجله میـکروب‌شـناسی ایران درج می‌شـود ، سـعی دارد تا به تبیـین مقوله واژه‌گزینی و واژه‌های پیشنهادی بپردازد. ضـمن آرزوی توفیـق روزافزون برای گروه مـعظم واژه‌گزینی میکروب‌شناسی ایران، امیـدواریم که نابسـامانی کنونی در واژه‌های میکروب‌شناسی به سامان آید.

دکتر مسعود شریفی

مدیر گروه واژه‌گزینی انجمن علمی میکروب شناسی ایران

نماینده تام الاختیار انجمن علمی میکروب شناسی ایران در فرهنگستان زبان و ادب فارسی

فراخوان

همکار گرامی

باسلام

احتراما، به استحضار می‌رساند انجمن علمی میکروب شناسی ایران ، در نظر دارد تا به حول و قوه الهی مجموعه‌ای تحت عنوان " تاریخچه میکروب شناسی ایران" را تهیه نماید. این مجموعه شامل اطلاعات مربوط به کلیه همکاران محترمی است که به هر نحوی از انحاء در عرصه‌های آموزشی ، پژوهشی، خدمت رسانی و تعالی علم میکروب شناسی در سراسر کشور اهتمام ورزیده‌اند. بدیهی است این تلاش ملی فقط در سایه یاری کلیه میکروب شناسان میسر خواهد شد.

بنابراین ، هر نوع اطلاعات اعم از آدرس، شماره تلفن، پست الکترونیک و ... که در جهت تماس با اساتید و همکارانی که به درجه بازنشستگی نائل شده‌اند و یا در خارج از کشور بسر می‌برند ما را در اجرای این مهم یاری خواهد کرد. به علاوه ، هر نوع اطلاعات مکتوب درباره اساتید و همکاران درگذشته ، مزید امتنان خواهد بود و در صورت تایید با ذکر مشخصات ارسال کننده در این مجموعه گنجانده خواهد شد.

لذا ،خواهشمنداست با عنایت به راهنمای تهیه کارنامک ، اطلاعات مربوط به خود را به صورت تایپ شده و یا در لوح فشرده آماده نمایید. اطلاعات را یا به آدرس جدید انجمن علمی میکروب شناسی ایران (تهران- خیابان گارگر شمالی- جنب بیمارستان قلب شریعتی- کوچه شهریور - پلاک ۶ - واحد ۱)و یا از طریق پست الکترونیک (microbiologyhistory@yahoo.com و microbiologyhistory@gmail.com) ارسال فرمایید. در صورت لزوم با شماره همراه ۰۹۱۲۳۸۱۹۰۵۴ (آقای دکترمسعود شریفی) تماس بگیرید.

امید است با عنایت کلیه همکاران محترم دراقصی نقاط کشور ، این مجموعه ارزشمند به صورت هر چه جامع‌تر به جامعه علمی کشور تقدیم گردد.

با تشکر

دکتر غلامرضا ایراجیان

رئیس انجمن علمی میکروب شناسی ایران

راهنمای تهیه کارنامک

۱. کارنامک باید گویا، مختصر و مفید بوده و به خوبی سازماندهی شده باشد.

۲. کارنامک باید شامل بخش‌های زیر باشد:

- بیوگرافی (تولد، تحصیل، خانواده)
- فعالیت‌های اجرائی
- فعالیت‌های آموزشی
- فعالیت‌های پژوهشی
- عضویت در سازمان‌ها و مجامع داخلی و بین المللی
- ثبت اختراع
- جوایز
- کتاب‌های علمی
- خلاصه مقالات در مجامع علمی (همایش‌ها و کنگره‌ها)
- مقالات چاپ شده درمجلات علمی پژوهشی ایران
- مقالات چاپ شده درمجلات علمی پژوهشی خارجی
- زمینه کارهای تحقیقاتی

۳. برای نگارش کارنامک، به نکات ذیل توجه فرمائید :

- کلیه پاراگراف‌ها از سمت راست و چپ تراز شوند .
- برای نگارش متن حتماً در هر مورد از قلم پیشنهادی استفاده گردد.
- کارنامک حتماً باید مطابق فایل موجود در سایت انجمن تهیه گردد.
- متن کارنامک باید با قلم B Yaghut،اندازه ۱۴ (سر تیترها باید Bold باشند)تحریر شود.
- مکان عکس در هر قسمت از کارنامک در مرکز صفحه (بعد از کپی نمودن عکس در فایل Word و کلیک راست ماوس، انتخاب فیلدهای مربوطه مقابل، Format picture- Lay out- In front of text- Other و سایز Height: 7.93cm و Width: 6.4cm) تنظیم گردد.
- تمامی عکس‌ها و تصاویر باید با رزولوشن بالا (300 dpi) و اندازهٔ ۳۰۰-۲۰ کیلو بایت ارسال گردد.
- علاوه بر افزودن عکس در فایل Word، فایل اسکن شدهٔ عکس نیز جداگانه ارسال گردد.

راهنمای اشتراک مجله

برای اشتراک مجله میکروب شناسی پزشکی ایران طبق موارد ذیل اقدام نمائید:

۱- پرداخت هزینه اشتراک بر اساس جدول زیر به حساب جاری شماره ۶۰۰۴۰۷۸ بانک رفاه کارگران شعبه بیمارستان مصطفی خمینی تهران (کد ۱۶۳) به نام انجمن میکروب شناسی ایران

۲- تکمیل فرم اشتراک و ارسال آن به همراه اصل فیش بانکی به آدرس دفتر مجله (تهران- صندوق پستی ۷۱۵-۱۴۵۱۵) با پست سفارشی

۳- اعضا انجمن میکروب شناسی می بایست کپی کارت یا شماره عضویت خود را نیز به پیوست ارسال نمایند

۴- مراکز علمی (کتابخانه ها، مراکز تحقیقاتی ،...) وابسته به دانشگاه های علوم پزشکی کشور می توانند درخواست خود را برای اشتراک رایگان به دفتر مجله ارائه نمایند.

فرم اشتراک

نام: نام خانوادگی: میزان تحصیلات:

اینجانب ..... مبلغ ..... ریال، بابت هزینه اشتراک تعداد ..... جلد از مجله میکروب شناسی پزشکی ایران (از شماره ..... تا .....) به شماره حساب ۶۰۰۴۰۷۸ بانک رفاه کارگران شعبه بیمارستان مصطفی خمینی تهران (کد ۱۶۳) به نام انجمن میکروب شناسی ایران، واریز و اصل فیش پرداختی به شماره ..... را به آدرس مجله ارسال می نمایم.

آدرس کامل پستی:

کدپستی:

تلفن: E-mail:

امضاء و تاریخ:

نوع اشتراک:

اشتراک سالیانه (۴ شماره) با احتساب هزینه پست:

☐ اعضا انجمن میکروب شناسی ایران ۴۵۰۰۰ ریال

☐ آزاد ۸۵۰۰۰ ریال

اشتراک تک شماره با احتساب هزینه پست:

☐ اعضا انجمن میکروب شناسی ایران ۱۱۰۰۰ ریال

☐ آزاد ۲۱۰۰۰ ریال

Seroepidemiology of toxoplasmosis in admitted pregnant women in maternity ward of Kowsar teaching and cure center in Qazvin-2006

Eskandarian AA*

Department of parasitology and mycology, faculty of medicine medical university of Isfahan Iran.

Corresponding author : Eskandarian AA, Department of parasitology and mycology, faculty of medicine medical university of Isfahan Iran.
Mobile:0912 381 9061 E.mail: abeskan@yahoo.com

ABSTRACT

Background and objectives: Seronegative women's fetuses are at high risk of congenital toxoplasmosis if the first mothers' infection occurs during pregnancy. We determined the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in order to highlight the risk and also preventive measures for pregnant women whom admitted in maternity ward of Kowsar hospital in Qazvin.

Material and methods: 255 sera from pregnant women were examined for toxoplasma antibodies by indirect fluorescent antibody test (IFAT) for eight dilutions (1:20 to 1:6400). The necessary information including age, frequency of parity, abortion, contacts with cat, blood group (ABO system), Rh, source of water and the location of settlement (urban/rural) were gathered in a prepared questionare. Chi-square and T-test were used for data analysis.

Results: Anti-toxoplasma antibodies with titre higher than 1:20 were detected in 160 samples (62.7%). Although, there was no significant statistical correlation between toxoplasma seropositivity and determined variables in present study (P>0.05).

Conclusion: in present study, 95 (37.3%) of women were seronegative whom potentially at risk of acquired acute toxoplasmosis in pregnancy meanwhile and possibility of parasite transmission to their fetuses may led to congenital toxoplasmosis. They ought to learn some healthy and applicable methods to decrease the risk of toxoplasmosis.

Key words: seroepidemiology, toxoplasmosis, pregnancy, IFA test,Qazvin

Enrichment and Isolation of Lytic Bacteriophages Against Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeroginosa*

Khajehkarramedini M [1], Fazli Bazaz B S[2], Ebrahimi M [3], Ghazvini K[1], Afzal Aghaee M[4], Naderinasab M[1], Meshkat Z[1], Amel Jamehdar S[1]

1)Department of Microbiology and virology , Microbiology and virology Research Center, Mashad University of Medical Sciences, Iran
2)Department of Medicinal Chemistry, School of Farmacy, Mashad University of Medical Sciences, Iran
3)General practitioner
4) Department of Community Medicine, Mashad University of Medical Sciences, Iran

Corresponding author : Zahra Meshkat. Department of Microbiology and virology , Microbiology and virology Research Center, Mashad University of Medical Sciences, Iran.
Tel:+98(511) 8012453 E.mail: meshkatz@mums.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objective: One of the most common problems in the hospitals is the appearance of the resistant infections to the antimicrobial agents. Bacteriophages can use as an alternative to antibiotics for preventing and treating bacterial infections. Bacteriophages are viruses that infect and kill bacteria. They are safe; having no activity against animal or plant cells and appears to have evolved with bacteria as they are ubiquitous in nature. The aim of present study was isolation and enrichment of bacteriophages against antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates.

Materials and Methods: Clinical samples from patients hospitalized in different wards of Ghaem Hospital (Mashhad, Iran) were collected and 43 antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* were obtained from the samples. Appropriate lytic bacteriophages were isolated from refined sewage of the septic ward of the same hospital and bacteriocidal effect of the bacteriophages was evaluated in both liquid and solid phases. All tests were three times repeated in different bacteriophage concentrations under different conditions.The results were analyzed using statistical mann-witney test.

Results: By using two methods; solid and liquid phase the high concentration of prepared bacteriphages showed complete bactericidal effects on antibiotic-resistant isolated bacteria ($p<0.0001$).

Conclusion: Our data showed the high efficacy of bacteriophages disinfectant effects and it was more prominent in the higher concentration of the bacteriophages.

Keywords: Bacteriophage, *Pseudomonas aeruginosa***,** antimicrobial agent.

Evaluation of acute CMV infection prevalence in kidney transplant recipients using PCR and indirect immunofluorescent techniques

Falahi S[1], Soleimanjahi H [2*], Kalantar E[3], A Kenar koohi[1], Saki A[4]

1)Department of virology, Student Research committee, faculty of medical sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2)Department of virology, faculty of medical sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3)Department of Laboratory Science, faculty of medical sciences, Iran University of Medical Science Tehran-Iran
4)Department of Biostatistics, Student Research committee, faculty of medical sciences, Tarbiat Modares University-Theran-Iran

Corresponding author: Hoorieh Soleimanjahi, Department of virology, faculty of medical sciences, Tarbiat Modares University
Tel:+98 (21)82883561 Email: soleim_h@modares.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objectives: Cytomegalovirus is one of the most important viruses that its presence in transplant recipients has been surveyed. This virus can led to the severe disease or death. The prevalence of CMV infections in transplant recipients varies from one country to another. Indirect immunofluorescent method represents the virus multiplication and active infection, while PCR technique shows the presence of virus. The aim of this study was to determine the prevalence of active CMV infection in kidney transplant recipients using PCR and indirect immunofluorescent methods based on the season, age, and sex variables.

Material and Methods: samples from kidney recipients admitted to Gholhak laboratory during year 2006 and 2007 from all over Iran. This study was performed using PCR technique and indirect immunofluorescent method (PP65 antigenemia assay). The results were analyzed by Chi_2 and lojestic regression.

Results: In total 923 samples were investigated. Seventy one (7.7%) and 323(35%) of samples were positive by antigenemia and PCR respectively. There was no correlation between CMV infection and age or sex of the patients ($p > 0.05$). However there was a correlation between presence of virus and season in either used methods of study, which was statistically significant in the spring. The spring has meaningfull ($p = 0.01$).

Conclusion: Positive results obtained by PCR were more than antigenemia and this shows the higher sensitivity of this method to detect viral infection . we found no correlation between viral infection and sex or age by tested methods, but the infection rate had significant increase during spring.

Key Words: Cytomegalovirus, Epidemiology, Antigenemia pp65, PCR, Kidney transplantation

Comparison efficiency of surgical hand scrub with betadin and surgical hand rub on hands' microbial burden

Ghorbani A*[1], Soltani Z[2], Molapoor A[3], Shafikhani M[2]

1) School of Nursing and Midwifery, Qazvin University of Medical Sciences, Iran
2) School of Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Iran
3) The laboratory of Shahid Rajaee Teaching and Cure Center, Qazvin, Iran

Corresponding author: Ghorbani A, Department medical-surgical, School of Nursing and Midwifery, Qazvin University of Medical Sciences, Iran
Tel:+98(281)2237268 E.mail: ghorbani_az@yahoo.com

ABSTRACT

Background and Objectives Contamination of hands plays an important role in the development of nasocomial infections, so surgical hand scrub is an important factor in control of infection .This study was performed to comparison two methods of surgical hand scrub and surgical hand rub on hands' microbial burden of surgical team.

Materials& Methods: The present clinical trial was performed during year 1999. Subjects were randomly selected from members of surgical team in 4 operation rooms of Qazvin. The subjects were divided into two groups of routine hand scrub and hand rub. From each subject, finger and thumb tip culture were performed on solid medium (Blood agar) and broth medium prior to hand wash. The second sampling were performed similarly after routine hand wash based on traditional surgical scrub with iodine in group 1 and hand rub which washind hands with non antibacterial soap and then surgical hand rub with 70% ethanol in 3 minute in group2. The effect of both disinfection procedures on microbial burden of hands were then compared. The data were analyzed using Chi square, MC Nemar and pierson statistical tests.

Results: Statistical analysis showed the significant differences between the amount of grown fingertips colonies before and after in both methods (P = 0 / 00). However we found no significant statistical difference (p=0.53) between the microbial hand counts following the use of either disinfection procedures and both disinfections were effective in reducing microbial hand counts.

Conclusions-: The findings of this study support the proposition that a surgical hand rub protocol with alcohol is as effective and can replace the traditional surgical hand scrub ; Information about hand hygiene and increased availability of alcohol-based hand rub led to improved hand hygiene at all levels of staff.

Key word: surgical hand scrub, surgical hand rub, hands' microbial burden

Study of prevalence of gram- negative bacteria caused nosocomial infections in ICU in Besat hospital in Tehran and detection of their antibiotic resistance pattern-year 2007

Mohammadimehr M*[1], Feizabadi MM[2] , Bahadori A [3] , Motshaker arani [4] , Khosravi M [5]

1) School of Para-medicine, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2) Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Iran
3) Biotechnology expert, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4) Statistics Advisor, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5) Clinical Laboratory, Besat Hospital, Tehran, Iran

Corresponding author : Mohammadimehr M**,** School of Para-medicine, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Mobail:09122593316 E.mail: mojganmehr20@Yahoo.com

ABSTRACT

Background and Objective: Nosocomial infections are an important public health problem in many developing countries, particularly in the intensive care unit (ICU). These infections are accompanied with longer hospitalization, higher therapy expenses and emerging drug resistance among bacterial causative agents. The aim of this study was to determine the prevalence of gram negative bacteria caused nosocomial infection in ICU of Besat hospital and detection of their antibiotic resistance pattern.

Materials and method: This project was a descriptive cross- sectional study conducted during a period of 12 months in 2007 at ICU of Besat hospital. Bacterial strains were isolated from various clinical samples of the patients and were identified at the species level by using conventional methods. The susceptibility testing was performed on the isolated bacteria by disc diffusion method. Chi square test was used for data analysis.

Results: In this study, nosocomial infections by gram negative bacteria were identified in 65 out of 165 patients. So the incidence rate of nosocomial infection in this ward was 39.39%. The most prevalent isolated organism was *Klebsiella pneumoniae* (46.2%) followed by *Escherichia coli* (23.1%). Pneumonia (78.5%) was the most common infection in patients. The most effective antibiotics were cefotaxime clavonic acid, ceftazidime clavonic acid, amikacin and imipenem. All the isolates showed 80 to 100% resistance to ampicillin. The history of surgery and antibiotic therapy showed significant correlation with nosocomial infection ($P<0.05$).

Conclusion: the most prevalent isolated bacteria was *Klebsiella pneumoniae* and the most common infection was pneumonia. High antibiotic resistance was seen in isolated bacteria in present study. Nosocomial infection showed significant correlation with a history of surgery and antibiotic therapy.

Keywords: nosocomial infections, gram negative bacteria, Resistance Antibiotic

Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in patients hospitalized in ICUs in Qazvin's university hospitals-2006

Sharifi M[*1],Assefzadeh M [2], Djavadi A [3], Kargar A [4]

1)Department of Microbiology, School of Medicine, Qazvin university of Medical Sciences
2) Department of Infectious diseases, School of Medicine, Qazvin university of Medical Sciences
3) Department of Community Medicine, School of Medicine, Qazvin university of Medical Sciences
4) General Physician

Corresponding author: Sharifi M, Department of Microbiology, School of Medicine, Qazvin university of Medical Sciences, Iran
Tel: +98(281)3336001-5 Mobile: 09123819054 E.Mail: dr_m_sharifi2002@yahoo.com

ABSTRACT

Background and objectives: The patients admitted in the ICU , have dysfunctions in one or more organs, especially, respiratory and cardiovascular systems. ICU is burdened with virulent bacteria and often highly resistants. Methicillin resistant *Staphylococcus.aureus* (MRSA) is one of important problem in the ICUs.The world-wide importance of "MRSA" encourage us to propose this study. The aim of this study was to determine the prevalence of methicillin- resistant *S.aureus* colonization in patients hospitalized in ICUs in Qazvin's university hospitals.

Materials and Methods: This study occurred out during 6 months period (July through December,2006) . Nasal swab specimens were collected on the admission and the discharge of patients admitted in ICUs university hospitals of Qazvin. After isolation and identification the strains, the methicillin resistance was determined by *Clinical and laboratory standards institute*(CLSI) oxacillin screening plate method. Other information were collected by questionnaire. The data were analyzed by Chi-square and Fisher exact tests.

Results: A total number of 265 patients (1 day to 88 years old) were studied. The carrier state of methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA), and MRSA strains were 52 (19.6%), and 32 (12.4%) respectively. Cultures from 174 (65.7%) patients were negative. From this 174 remainder, on discharging 11 (6.3%), and 40 (23%) patients were colonized with MSSA, and MRSA strains respectively. Ceftriaxone was more administrated antibiotic. There was a significant correlation between colonization with MRSA strains and length of ICU stay ($P<0.05$) . Although colonization happened more to patients, who had "diabet", urinary catheter, and prescription of "ceftriaxon" , but we found no significant relationship ($P>0.05$).

Conclusion: Our findings confirm the presence of MRSA strain in population in Qazvin city. The incidence of colonization with MRSA strain, in comparison of the carrier state with the same strain, was 1.9 times. The ICUs wards are contaminated with this strain and so spreads among community. MRSA colonization had a significant association with length of ICU stay.

Key words: *S.aureus*, MRSA, Colonization, Carrier , ICU

Investigation of disinfecting effect of AlproCid solution in dentistry

Taheri JB[1] , Rafieian N [1] , Azimi S [1] , Mohebbi SH [2], Navidinia M [*3]

1) Department of Oral Diseases, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2) Orthodentic Department, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3) The Pediatrics Infectious Diseases Research Center, Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding author : Masoomeh Navidnia, Pediatrics Infectious Diseases Research Center, Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Telefax: +98(21)22226941 E.mail: m.navidinia@yahoo.com

ABSTRACT
Back ground and Objective: AlproCid is a brand new disinfectant which is a third Alkyl amine and ammonium with considerable effectiveness. The aim of this study was to evaluate of effectiveness of AlproCid on disinfecting dental surfaces and instruments.
Material and Methods: This laboratory-based study was conducted of 30 samples which were collected before and after administration of AlproCid from the same spots on dental instruments by using sterile swabs. The samples were cultured on blood agar and chocolate agar and were incubated in 37 ^{o}C for 24 hours.The standard bacteria were then identified to species level. The AlproCid solution was incorporated into strile paper discs. The effect of AlproCid was investigated by observation of growth inhibition zone around the disc and colony counting. The data was analyzed by using SPSS version 14 and Chi-Square test for determining the significance level and alpha error was set at 0.05%.
Results: From the total samples 86% were free of any bacteria. Microbial load was significantly reduced ($P<0.05$) after AlproCid application on dental instruments. The colony counting for all bacteria were reduced to less than 10^5, and the growth inhibition zone was at least 10 mm.This in vitro study showed the effectiveness of AlproCid on laboratory standard strains of *E. coli*, Klebsiella, Proteus, Entrococci resistant to vancomycin, and *S. aureus* resistant to methicillin. This effect was bactericidal.
Conclusion: AlproCid is an effective agent in decreasing bacterial contamination of dental instruments without any adverse effect on the surface of instruments. The solution could be used for easy and rapid disinfecting of all surfaces.
Keywords: Disinfection, microbial culture, AlproCid, Dental Instrument

Laboratory assessment of inhibitory properties of monolaurin against *Staphylococcus aureus* in beef

Tajik H [*1], Razavi Rouhani SM[1], Shokoohi Sabet Jalali F[2], Bayani A[3]

1)Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, P.O.Box 57155-1177, Urmia, Iran
2)Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, P.O.Box 1177, Urmia, Iran
3)Private practitioner

Corresponding author: Hossein Tajik**,** Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, P.O.Box 57155-1177, Urmia, Iran
Tel:+98 (441)2770508 E.mail: tajik_h@yahoo.com

ABSTRACT

Background and Objectives: Monolaurin is one of the main triglycerol monoesters of acid lauric, which has inhibitory effect on broad spectrum of bacteria. In order to enhance the antibacterial effect of monolaurin, some chelating agents such as EDTA and acidifiers are used. The aim of this study was to evaluate the inhibitory effects of monolaurin on *Staphylococcus aureus* and the effects of organic materials on reduction of monolaurin inhibitory effect in meat products.

Material and Methods: At first, minimum inhibitory concentration (MIC) of monolaurin alone and in combination with EDTA and lactic acid on staphylococcus in nutrient broth was investigated, then the inhibitory effect of monolaurin alone on bacteria was studied in sterile meat along with antibacterial effect of monolaurin and EDTA on unsterile meat .Data were analyzed using Variance test (ANOVA).

Results: MIC for monolaurin, monolaurin and EDTA and monolaurin and lactic acid were 32,16 and 8 µg/ml, respectively. The inhibitory effect of monolaurin alone on bacteria in sterile meat reduced significantly. Combination with lactic acid increased the effect of monolaurin on bacteria in sterile meat, but, monolaurin in combination of EDTA in unsterile meat did not show significant antibacterial effect.

Conclusion: based on these findings, monolaurin can be used as food preservative in order to prevent food spoilage. The organic materials in the meat product could prevent the antibacterial effect of monolaurin. In addition chelating agents could enhance the antibacterial effect of monolaurin.

Keyword: Monolaurin, EDTA, Lactic acid, *Staphylococcus aureus*, Meat

The survey of multi drug resistant of *Enterococcus faecium* isolated from clinical samples in shahid Beheshti and Shabeeh khani hospitals

Ghasemi A [1], Moniri R *[1], Musavi GA [2]

1) Department of Microbiology & Immunology, Kashan University of Medical Sciences
2) Department of Statistics, School of Health, Kashan University of Medical Sciences

Corresponding author: Rezvan Moniri**,** Department of Microbiology & Immunology, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
Tel: +98 (361) 5550021 Email: moniri@kaums.ac.ir

ABSTRACT
Background and Objectives: During the last decade, enterococci have become important nosocomial pathogens, representing the second leading cause of urinary tract infections. This increasing prevalence has been paralleled by the occurrence of multi-drug resistant (MDR). The aim of this cross-sectional prevalence study was to determine the prevalence and risk factors of antibiotic resistance of *Enterococcus faecium* isolated from clinical samples in hospitalized patients in Kashan, Iran.
Material and Methods: This descriptive study was done on clinical specimens isolated from hospitalized patients, from September 2007 to 2008. A total of 106 *E. faecalis* strains were isolated from collected specimens. Antimicrobial susceptibility test was determined with disk diffusion method as per CLSI instructions. The minimal inhibitory concentration of vancomycin assayed by E test.
Results: From 128 isolated enterococci, 106(82.8 %) were identified as *Enterococcus faecalis* and 22 (17.2%) were *Enterococcus faecium*. According to the results of susceptibility testing, the resistance rates for *E.faecalis* were as follows: erytromycin 56(52.8%), ciprofloxacin 43(40.6%), gentamicin 41(38.7%), levofloxacin 36(34%), penicillin 31(29.2%), nitrofurantoin 20(18.8%), ampicillin 12(11.3%), Imipenem 11(10.4%), and vancomycin 6(4.7%). All isolates were sensitive to linezolid. Multidrug-resistant (MDR) phenotype (resistance to three or more of drugs) occurred in 40(37.7%) of the isolates.
Conclusion: Emergence of multidrug-resistant *E.faecalis* and high level resistance to vancomycin shown by *E.faecalis* strains is of concern because of the limitation in the therapeutic options for treatment of infections caused by enterococci.
Key words: *E.faecalis*, vancomycin resistance entrococci, Multidrug-resistant (MDR)

Correlation between *Helicobacter pylori* and women's infertility using both ELISA and PCR

Sadeh, M[1*], Khalili MB[1], Falahzadeh H[2]

1)Yazd Research and Clinical Center for Infertility, Yazd Shahid Sadoghi University of Medical Sciences and Health Services. Yazd. Iran
2) Department of Biostatistics and Epidemiology, Faculty of Hygiene, Yazd Shahid Sadoghi University of Medical Sciences and Health Services. Yazd. Iran

Corresponding author: Sadeh M, Paramedical Department of Shahid Sadoghi University of Medical Sciences. Yazd. Iran.
Mobail:09132527679 E.mail: sadeh_m20@yahoo.com

ABSTRACT

Background and objectives: Although *Helicobacter pylori* is known as a causative agent of gastritis, but due to its acidic tolerance characteristic, it seems that this species has ability to colonize the genital system. This may increase the risk of infertility among women. The aim of the present study was to determine the frequency of *H. pylori* in fertile and infertile women to find out the correlation between the *H. pylori* infection and infertility in women.

Material and method: In this cross-sectional study, 250 women including 131 infertile (cases) and 119 fertile (control) were taken under investigation. Blood was collected from each person and proceeded for detection of both IgG and IgM using ELISA. In addition, vaginal swabs was prepared for detection of Helicobacter using PCR technique. Data analysis was performed using Chi-square and T-tests.

Results: Among 259 samples tested, 158 (63.2%) were positive for *H. pylori* IgG comprises 65.54%(78) of cases and 61.1 %(80) of controls (p=0.463), but all the samples were negative for IgM. Vaginal swabs from cases and controls were all negative for *H. pylori* in PCR. Among cases, the causative factors for infertility was as following: 26 (70.2%) Polycystic Ovarian (PCO) , 18 (52.5%) tubal factor, 21 (50%) unknown factor and 3 cases (100%) ovarian factor(OF).

Statistical analysis revealed that the majority of IgG positivity were in individuals of 30-40 years age range (case and control 61.2% and 63.6% respectively), however it was not significant (P >0.05).

Conclusion: Although the average IgG titer was found higher in infertile women but it was not significant. So, it seems that there is no correlation between the *H. pylori* infection and infertility . However, cases with PCO factor showed higher antibody titer when compared to other causative factors. Is it possible that this factor play a role in infertility?

Key Words: Infertility, *H. pylori*, Women, ELISA, PCR.

Rapid Diagnosis of *Listeria monocytogenes* by PCR Method with *hlyA* gene

Najafi A[1] , Qorbanalizadgan M[1],Tavakoli HR*[2], Ahmadi A[1]

1)Molecular Biology Research Center, Baghiatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2)Nutrition Department, Public Health Research Center, Baghiatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding author : Tavakoli HR , Deptartment of Nutrition , Health Research Center , Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran , Iran.
Mobail: 09122393319 E.mail: h.tavakoli1344@yahoo.com

ABSTRACT
Background and Objectives: Currently the conventional method for the diagnosis of *Listeria monocytogenes* is culture method. However, the isolation rate is reduced in culture due to animals' food which is contains antibiotics. Besides, culture method is time consuming and takes more than 36 hrs. So more precise and rapid technique is needed. The aim of this study was application of PCR technique based on *hly*A gene fragment for rapid detection of *Listeria monocytogenes* in clinical samples.
Materials and Methods: *hlyA* gene was selected as a specific target sequencefor detection of *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* PTCC1163 was used as a standard organism for optimization experiments. A range of bacterial pathogens was used for specificity test including *Escherichia coli*: ATCC; 35218 *Salmonella typhi* PTCC: 1609. Phenol – chloroform method was used for DNA extraction. PCR technique was performed as per standard protocol. Amplified product was detected by 1% gel agarose electrophoresis, stained by ethidiome bromide.
Results: Provided data confirmed amplification of expected product. Specificity test proved no cross reaction with tested organisms. Sensitivity test detected 500fg *Listeria monocytogenes* DNA as a final detection limit.
Conclusion: Optimized experiment confirmed that the applied PCR protocol is quite fast with high sensitivity and specificity performing in less than three hours.
Application of this method in clinical laboratories can help the rapid diagnosis of *Listeria monocytogenes* in samples.
Key words*: Listeria monocytogenes*, PCR, *hlyA* gene

Correlation between Microscopic Observation Drug Susceptibility culture , Ziehl-Neelsen stain and Lowenstein-Jensen culture of sputum in suspected pulmonary tuberculosis patients

Aminzadeh Z *[1], Fallah F [2], Manafian B [3], Baghaei P [4]

1) Department of Infectious Diseases, Infectious Diseases Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2) Department of Microbiology, Pediatric Infectious Diseases Research Center
3) Resident of infectious diseases, Shahid Beheshti University University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4) Massih Daneshvari Hospital,National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease, Shahid Beheshti University University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding author : Aminzadeh Z. Department of Infectious Diseases, Infectious Diseases Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti university University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel:+98(21)55411717 E.mail: zohrehaminzadeh@yahoo.com

ABSTRACT

Background and Objectives: Ziehl-Neelsen stain is an initial route in diagnosis of pulmonary tuberculosis. Some studies show the sensitivity and specificity of the methods of liquid media culture in rapid diagnosis of the disease. In this study, we evaluated the correlation between Microscopic Observation Drug Susceptibility culture , Ziehl-Neelsen stain and Lowenstein-Jensen culture of sputum in suspected pulmonary tuberculosis patients.

Material and Method: This was a descriptive study with the technique of observational-interview type. One hundred patients from Masih Daneshvari hospital were considered as pulmonary TB suspects. One early morning sputum sample was obtained from each patient and used for Ziehl-Neelsen stain, culture on Lowenstein-Jensen medium and MODS culture for drug susceptibility testing.

Results: On sputum examination, 40% of patients were smear positive by Ziehl-Neelsen stain , while 30% had positive sputum culture for *Mycobacterium tuberculosis* in Lowenstein-Jensen medium and 47% had positive MODS culture. This research showed a significant and direct correlation between MODS culture with Lowenstein-Jensen media ($r=+0.39$, $P<0.0001$). There was a significant association and a significant and reverse correlation between MODS culture with pleural effusion($r=-0.23$ $P<0.05$). Multidrug resistance was observed in 55% of patients. Prevalence of positivity of these diagnostic methods among MDR patients was lower . There was a significant and direct correlation between MDR diseases with MODS culture. ($r=+0.96$ $P<0.0001$)

Conclusion: due to increasing of MDR tuberculosis, rapid determination of resistance pattern is very important which is possible by using MODS culture method. However, since lower positivity of MODS culture is obtained in MDR patients, Lowenstein-Jensen culture method should be done as complementary method in suspected pulmonary tuberculosis patients.

Key Words: Tuberculosis, Ziehl-Neelsen stain, Lowenstein-Jensen, MODS, Resistance

Virology

Evaluation of acute CMV infection prevalence in kidney transplant recipients using PCR and indirect immunofluorescent techniques X
Falahi S , Soleimanjahi H , Kalantar E , A Kenar koohi , Saki A

Enrichment and Isolation of Lytic Bacteriophages Against Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeroginosa* XI
Khajehkarramedini M , Fazli Bazaz B S , Ebrahimi M , Ghazvini K ,
Afzal Aghaee M , Naderinasab M , Meshkat Z , Amel Jamehdar S

Protozoology

Seroepidemiology of toxoplasmosis in admitted pregnant women in maternity ward of Kowsar teaching and cure center in Qazvin-2006 XII
Eskandarian AA

Table of Contents

Bacteriology

Correlation between Microscopic Observation Drug Susceptibility culture , Ziehl-Neelsen stain and Lowenstein-Jensen culture of sputum in suspected pulmonary tuberculosis patients I
Aminzadeh Z , Fallah F , Manafian B , Baghaei P

Rapid Diagnosis of *Listeria monocytogenes* by PCR Method with *hlyA* gene II
Najafi A , Qorbanalizadgan M ,Tavakoli HR , Ahmadi A

Correlation between *Helicobacter pylori* and women's infertility using both ELISA and PCR III
Sadeh, M , Khalili MB , Falahzadeh H

The survey of multi drug resistant of *E. faecalis* isolated from clinical samples in shahid Beheshti and Shabeeh khani hospitals IV
Ghasemi A , Moniri R , Musavi GA

Food Microbiology

Laboratory assessment of inhibitory properties of monolaurin against *Staphylococcus aureus* in beef V
Tajik H , Razavi Rouhani SM , Shokoohi Sabet Jalali F , Bayani A

Dentistry Microbiology

Investigation of disinfecting effect of AlproCid solution in dentistry VI
Taheri JB , Rafieian N , Azimi S , Mohebbi SH , Navidinia M

Health-care associated infections

Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in patients hospitalized in ICUs in Qazvin's university hospitals-2006 VII
Sharifi M , Assefzadeh M , Djavadi A , Kargar A

Study of prevalence of gram- negative bacteria caused nosocomial infections in ICU in Besat hospital in Tehran and detection of their antibiotic resistance pattern-year 2007 VIII
Mohammadimehr M, Feizabadi MM, Bahadori A, Motshaker arani, Khosravi M

Comparison efficiency of surgical hand scrub with betadin and surgical hand rub on hands' microbial burden IX
Ghorbani A , Soltani Z , Molapoor A , Shafikhani M

In the name of God

Iranian Journal of Medical Microbiology
The official publication of the Iranian society of microbiology

Volume 3, Numbers 2&3, Summer and Autumn 2009

ISSN: 1735 - 8612

* Referencing the material of this journal with referring the source is authorized.

Owned and published by:
Iranian Society of Microbiology
Chairman:
Gholam Reza Irajian Ph.D
Editor in Chief:
Massoud Sharifi Ph.D

Executive Manager:
Reza Ranjbar Ph.D
Treasurer:
Mohammad Niakan Ph.D
Editorial Assistant:
Azar dokht Khosravi Ph.D

Editorial Bord:
Abdollahi, Hamid Ph.D- Alborzi, Abdolvahhab MD
Amir Mozafari, Nor Ph.D- Ataee, Ramezan Ali Ph.D
Irajian, Gholam Reza Ph.D- Mehrabi Tavana, Ali Ph.D
Niakan, Mohammad Ph.D- Rahbar, Mohammad Ph.D
Ranjbar, Reza Ph.D- Sharifi, Massoud Ph.D
Tabaraie, Bahman Ph.D- Taheri Kalani, Morovat Ph.D

Consultants of this Issue:
Akya, Alisha Ph.D- Amirmozafari, Nour Ph.D
Borhan Mojabi, Katayuon DDS,MS- Esmaeili Rastaghi, Ahmad Reza Ph.D
Feizabadi, Mohammad Mehdi Ph.D- Forouhesh Tehrani, Homa MS
Ghaemi, Ezzat Allah Ph.D- Ghaffari Novin, Marefat Ph.D
Khosravi, Azar Dokht Ph.D- Mehrabi Tavana, Ali Ph.D
Modarres, Shahab Ph.D- Nateghian, Ali Reza M.D
Chamani Tabriz, Leili Ph.D- Rahbar, Mohammad Ph.D
Rahimifard, Nahid Ph.D- Sattari, Morteza Ph.D
Shahnazi, Mojtaba Ph.D- Sharifi, Massoud Ph.D
Soleimanjahi, Hoorieh Ph.D- Taherkhani, Heshmatollah Ph.D
Vandyousefi, Jalil Ph.D-Naderi nasab, Mahbobeh Ph.D

* This journal is indexed in: IMEMR, index Copernicus, SID, Iran Medex and Magiran

Designer:
Mina Arian
Address: P.O.Box: 14515-715, Tehran, Iran
Telfax: +98(21)88020916
E-mail: jmicrobiology@gmail.com
Website: www.ism.ir
Cover design & Print: Firooz Group