پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۱، شماره ۳، صفحات ۲۵-۳۳ (مهر- آذر ۱۳۷۶)

معرفی پادزیست انتخابی و آزمون تشخیص افتراقی جدید برای استافیلوکک اپیدرمیدیس

دکتر مهرانگیز خواجه‌کرم‌الدینی و دکتر علیرضا جهانشاهی
بخش ویروس شناسی بیمارستان دانشگاهی قائم (دانشگاه علوم پزشکی مشهد)

خلاصه

در پژوهش حاضر، آزمون دفروکسامین جهت تشخیص افتراقی استافیلوکک اپیدرمیدیس و استافیلوکک هومینیس از سایر کوکسی‌های گرام مثبت برای نخستین بار در ایران معرفی می‌شود. نتایج مقایسه حساسیت استافیلوکک اپیدرمیدیس (۲۲۰ سویه) و انتروکک (۱۱۰ سویه) نسبت به یک پادزیست گلیکوپپتیدی جدید (SK&F104662) و ۱۳ نوع پادزیست دیگر به روش انتشار دیسک -آگار نیز ارائه شد.

استافیلوکک اپیدرمیدیس در برابر دیسکهای ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرمی دفروکسامین دارای حساسیت صد در صد و ویژگی بیش از ۹۰ درصد بود. لیکن تمامی کوکسی‌های گرام مثبت در برابر دفروکسامین مقاوم می‌باشند. استافیلوکک اپیدرمیدیس نسبت به موگزالاکتام، سیپروفلوکسامین و انتروکک نسبت به موگزالاکتام، مزلوسیلین و سیزومایسین حساس بودند، لکن در برابر وانکومایسین و پادزیست SK&F104662 صددرصد حساسیت بروز دادند.

مقدمه

استافیلوکک اپیدرمیدیس مهمترین و متداولترین استافیلوکک کوآگولاز منفی می‌باشند (۱۸). مشخصات باکتری شناختی آن به صورت پرگنه غیر همولیتیک سفید رنگ، گرام مثبت بودن، هوازی یا بیهوازی اختیاری، بی‌حرکت بودن، داشتن کپسول و گلیسرول تایکوئیک اسید در دیواره سلولی، توانایی احیا کردن نیترات به نیتریت و تولید لایه کاذب (Slime layer) خلاصه می‌شوند (۱۶، ۱۹ و ۲۰). خصوصیات زیست شیمیایی استافیلوکک اپیدرمیدیس شامل توانایی تولید کاتالاز، لیپاز، الاستاز، بتالاکتاماز و انواع همولیزین به علاوه فقدان تخمیر ترهالوز و مانیتول، عدم وجود DNase، کوآگولاز منفی بودن و توانایی رشد کردن در حرارت ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد (Ph=۷-۷/۵) و عدم رشد در حضور نووبیوسین می‌باشند (۱۴، ۱۸ و ۲۱). استافیلوکک اپیدرمیدیس مسئول ۷۰ تا ۸۰ درصد عفونتهای ناشی از آلودگی با استافیلوکک کوآگولاز منفی شامل باکتریمی، اندوکاردیت عفونی، استئومیلیت، پریتونیت دیالیزی، آبسه کپسول خلفی عدسی چشم، اوتیت بدخیم بیماران دیابتی، پیوآرتریت همراه با عفونتهای دستگاه ادراری- تناسلی و به طور عمده عفونتهای کلونیزه روی دریچه‌های مصنوعی قلب و کاتترهای درون سیاهرگی از جنس PVC و مفاصل پروتزی و شانت سیستم اعصاب مرکزی محسوب می‌شود (۱۱، ۱۲، ۲۰ و ۲۱). این باکتری همراه با کورینه باکتریها مسئول ایجاد جوشهای غرور جوانی نیز می‌باشد (۱۹ و ۲۰).

هدف از پژوهش حاضر، ارائه روش جدید تشخیص افتراقی استافیلوکک اپیدرمیدیس از سایر کوکسی‌های گرام مثبت و معرفی دو پادزیست گلیکوپپتیدی موثر جهت درمان عفونتهای ناشی از این باکتری می‌باشد.

مواد و روش کار

الف) مواد مصرفی

۱) محیط کشت مولر- هینتون- آگار جهت انجام آزمون انتشار دیسک در آگار.

۲) محیطهای کشت Mannitol Salt Agar و Phenol Red Agar به علاوه محلول استریل ترهالوز ده درصد جهت تعیین توانایی باکتری در تخمیر مانیتول و ترهالوز.

۳) محیط کشت آگار خونی و محلول ۰/۰۰۵ مولار فنل‌فتالئین مونوفسفات جهت آزمون فسفاتاز.

۴) محیط کشت Brain Heart Infusion Agar جهت آزمون تشخیصی دفروکسامین.

۵) استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند شامل ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کلرید باریم یک درصد و ۹۹/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک یک درصد.

۶) پودر استاندارد SK&F104662 و دفروکسامین به صورت هدیه و ۱۳ نوع دیسک پادزیستی نیز از کارخانه‌های سازنده دریافت شد.

۷) تمامی باکتریهای مورد مطالعه شامل ۲۲۰ سویه استافیلوکک اپیدرمیدیس، ۵۰ سویه استافیلوکک آرئوس، ۱۱۰ سویه انتروکک، ۳۰ سویه پنوموکک و ۳۰ سویه استرپتوکک بتاهمولیتیک گروه A از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان قائم مشهد تهیه شد.

ب) روش کار

۱) ساخت دیسک پادزیستSK&F104662 و دفروکسامین (۱۸ و ۲۴). در این مرحله، نخست ده عدد دیسک کاغذی توزین و به مدت ده دقیقه در آب غوطه‌ور می‌شوند. سپس آنها را وزن کرده، میزان آب جذب شده توسط یک دیسک را محاسبه می‌کنیم. این عمل ده بار تکرار می‌شود و میانگین نتایج به عنوان نقطه اشباع دیسک خواهد بود. در مرحله دوم تمامی دیسک‌ها درون فویل

آلومینیوم پیچیده و داخل یک پلیت قرار گرفته، به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل می‌شوند. در مرحله سوم جهت تهیه محلول مادردفروکسامین به میزان ۰/۶۷۰۶ گرم ماده را وزن کرده، حجم آن را با آب مقطر استریل، درون بالن ژوژه استریل به ۱۰ میلی‌لیتر افزایش می‌دهیم؛ و توسط صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون در زیر هود Laminar Flow آن را استریل می‌کنیم. سپس محلول کار با غلظتهای مشخص جهت تهیه دیسکهای ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرمی تهیه می‌شود. جهت تهیه محلول مادرپادزیست SK&F104662 به منظور ساخت دیسک ۳۰ میکروگرمی نیز به میزان ۸۶ میلی‌گرم از ماده را وزن می‌کنیم و داخل بالن ژوژه استریل با آب مقطر استریل در زیر هود به حجم ۵۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم. در مرحله چهارم داخل هود روی یک پلیت استریل تمامی دیسکهای استریل را توسط نمونه بردار استریل به ماده مورد نظر آغشته کرده، ۲ تا ۳ ساعت در جریان مداوم هوای درون هود آن را خشک می‌کنیم. سپس تمامی دیسکها با پنس استریل به ظرفهای شیشه‌ای استریل منتقل شده، درب ظرفها با فویل آلومینیم استریل مسدود و در محل خشک و خنک نگهداری می‌شوند. شایان ذکر است که آزمونهای کنترل استریلیتی، هنگام انجام کار و آنالیز کمی دیسکها نیز طبق دستورات کارخانه سازنده و فارماکوپه USP صورت می‌گیرد.

۲) روش انتشار دیسک- آگار. در این روش با پنس استریل، از روی ۴ تا ۵ پرگنه کاملا جدا و همسان نمونه‌برداری کرده، آن را به یک لوله استریل حاوی ۴ تا ۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع مولر- هینتون منتقل می‌کنیم و حدود ۲ الی ۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم. سپس کدورت حاصل را توسط محیط کشت مایع با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم می‌کنیم. آنگاه با سواب استریل مایع تلقیحی را روی سطح پلیت حاوی محیط کشت جامد منتقل کرده، هر بار زاویه پلیت را ۶۰ درجه تغییر می‌دهیم. در نهایت، دیسک‌ها را با پنس استریل روی سطح آگار، به فاصله ۱۵ میلی‌متر از لبه پلیت و ۲۴ میلی‌متر از مرکز هم، قرار می‌دهیم. پس از ۱۵ دقیقه، پلیت‌ها را برگردانده، سپس طی ۱۶ تا ۱۸ ساعت درون گرمخانه با دمای ۳۵ درجه سانتیگراد نگهداری می‌کنیم. پس از طی این مدت قطر منطقه روشن مهار رشد را با خط‌کش ویژه آنتی‌بیوگرام اندازه‌گیری کرده، با مقادیر جدول ویژه NCCLS مقایسه و میزان حساسیت باکتری مشخص می‌شود (۱۷).

نتایج

منابع جداسازی استافیلوکک اپیدرمیدیس و انتروکک در جدول ۱ ارائه شده است. بیشترین تعداد نمونه استافیلوکک اپیدرمیدیس مربوط به نمونه‌های زخم و ادرار بود، ولیکن انتروکک به طور عمده از نمونه‌های ادرار و مهبل جداسازی شد. نتایج تعیین حساسیت ۲۲۰ سویه استافیلوکک اپیدرمیدیس و ۱۱۰ سویه انتروکک نسبت به ۱۴ نوع پادزیست نیز در جدول ۲ مشاهده می‌شود. نتایج به صورت نسبت درصد باکتریهای حساس به باکتریهای مقاوم (S:R) گزارش شده است. مقایسه قطر هاله‌های مهار رشد ۶۰ سویه استافیلوکک کوآگولاز- مانیتول منفی در حضور سه نوع دیسک ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرمی دفروکسامین در جدول ۳ آمده است. گستره قطر هاله‌های مهار رشد با میزان دفروکسامین موجود در دیسک رابطه مستقیم دارد؛ بنابراین، دیسکهای ۱۰۰ میکروگرمی دفروکسامین مولد هاله‌های مهار رشدی به قطر ۱۱ تا ۲۱ میلی‌متر می‌باشند، لکن بیست برابر کردن ماده موثر دیسک باعث بزرگ شدن منطقه مهار رشد - از ۲۰ تا ۳۱ میلی‌متر- می‌شود. البته گستره قطر هاله‌های مهار رشد جهت دیسکهای ۱۰۰۰ میکروگرمی دفروکسامین به طور عمده در محدوده ۲۲ تا ۲۶ میلی‌متر متمرکز بود در حالی که، گستره فوق جهت دیسک‌های

جدول ۱) منابع جداسازی استافیلوکک اپیدرمیدیس و انتروکک

باکتری / محل نمونه‌برداری	استافیلوکک اپیدرمیدیس(۲۲۰ نمونه)		انتروکک (۱۱۰نمونه)	
	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی
زخم	۸۰	۰/۳۶	۵	۰/۰۵
ادرار	۵۰	۰/۲۳	۶۸	۰/۶۲
خون	۲۸	۰/۱۳	۲	۰/۰۲
مهبل	۱۷	۰/۰۸	۲۶	۰/۲۳
مدفوع	۱۲	۰/۰۵	–	–
چشم	۱۱	۰/۰۵	–	–
گوش	۸	۰/۰۴	–	–
مایع مغزی- نخاعی	–	–	۷	۰/۰۶
پیوند کلیه	–	–	۲	۰/۰۲
سایر موارد	۱۴	۰/۰۶	–	–

جدول ۲) نتایج روش انتشار دیسک روی آگار

باکتری / پادزیست	استافیلوکک اپیدرمیدیس (۲۲۰ سویه)		انتروکک (۱۱۰ سویه)	
	درصد حساسیت	درصد مقاومت	درصد حساسیت	درصد مقاومت
آمیکاسین	۶۶	۳۴	۱۷	۸۳
جنتامایسین	۷۸	۲۲	۴۰	۶۰
توبرامایسین	۴۴	۵۶	۴۰	۶۰
سیزومایسین	۵۵	۴۵	۹۲	۸
سفوکسیتین	۸۳	۱۷	۷۰	۳۰
سفوپرازون	۷۸	۲۲	۸۲	۱۸
موگزالاکتام	۹۰	۱۰	۹۸	۲
سفتی زوکسایم	۶۰	۴۰	۵۸	۴۲
مزلوسیلین	۲۸	۷۲	۹۸	۲
اریترومایسین	۴۸	۵۲	۶۵	۳۵
سیپروفلوکساسین	۹۰	۱۰	۶۵	۳۵
کوتریموکسازول	۱۲	۸۸	۲۸	۷۲
وانکومایسین	۱۰۰	–	۱۰۰	–
SK&F104662	۱۰۰	–	۱۰۰	–

جدول ۳) مقایسه قطر هاله‌های مهار شده استافیلوکک گوآگولاز منفی به روش انتشار دیسک در آگار

قطر هاله مهار رشد (mm)	فراوانی قطر هاله مهار رشد خاص دیسک دفروکسامین		
	دیسک ۱۰۰ mcg	دیسک ۱۰۰۰ mcg	دیسک ۲۰۰۰ mcg
۱۲-۱۱	۱	—	—
۱۳-۱۲	۲	—	—
۱۴-۱۳	۲	—	—
۱۵-۱۴	۵	—	—
۱۶-۱۵	۸	—	—
۱۷-۱۶	۹	—	—
۱۸-۱۷	۱۰	—	—
۱۹-۱۸	۱۰	—	—
۲۰-۱۹	۶	۳	—
۲۱-۲۰	۷	۱	۱
۲۲-۲۱	—	۳	۴
۲۳-۲۲	—	۶	۳
۲۴-۲۳	—	۱۰	۵
۲۵-۲۴	—	۱۰	۱۱
۲۶-۲۵	—	۱۴	۱۱
۲۷-۲۶	—	۷	۷
۲۸-۲۷	—	۳	۷
۲۹-۲۸	—	۰	۶
۳۰-۲۹	—	۲	۱
۳۱-۳۰	—	۱	۴

۲۰۰۰ میکروگرمی در محدوده ۲۳ تا ۲۸ میلی‌متر متمرکز می‌باشد و حتی ۴ نمونه دیسک ۲۰۰۰ میکروگرمی نیز باعث شدند که هاله‌های مهار رشدی به قطر ۳۰ تا ۳۱ میلی‌متر ایجاد شوند.

بحث

کوکسی‌های گرام مثبت شامل دو خانواده میکروکوکاسه و پپتوکوکاسه می‌باشند: بزرگترین خانواده یعنی میکروکوکاسه شامل گونه‌های استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، پدیوکوکوس، آئروکوکوس، و استرپتوکوکوس می‌باشد. استافیلوکوکوس در سال ۱۸۸۱ به عنوان مهمترین عضو خانواده یادشده توسط پاستور کشف و در سال ۱۸۸۲ توسط اوژستون نامگذاری شد و در سال ۱۸۸۴ رزنباخ آن را به دو سویه سفید و طلایی تقسیم کرد. سموم ترشحی استافیلوکک نیز در سال ۱۹۲۴ توسط پارکر جداسازی شدند. استافیلوکک بر مبنای تولید آنزیم کوآگولاز به دو دسته مثبت (شامل سه سویه آرئوس، اینترمدیوس و هیکوس) و منفی (شامل هفت سویه کاپیتیس، اپیدرمیدیس، هومینیس، همولیتیکوس، وارنری، کوهنی و ساپروفتیکوس) تقسیم می‌شود (۱۹ و ۲۰). در بخش نخست پژوهش حاضر، میزان حساسیت استافیلوکک اپیدرمیدیس و انتروکک نسبت به ۱۴ نوع پادزیست بررسی شد.

از خانواده بزرگ پادزیستهای بتالاکتام، مزلوسیلین (پنی‌سیلین نسل چهارم) و سفوکسیتین (سفالوسپورین نسل دوم) و سفوپرازون، موگزالاکتام و سفتی زوکسایم (سفالفوسپورین نسل سوم) مورد مطالعه قرار گرفتند. بیشترین حساسیت انتروکک نسبت به مزلوسیلین و موگزالاکتام بود (۲ : ۹۸). ولیکن در برابر سفوکسیتین و سفتی زوکسایم مقاومت نسبی نشان داد. بر عکس، استافیلوکک اپیدرمیدیس نسبت به مزلوسیلین بشدت مقاوم است و لیکن در برابر سفوکسیتین و موگزالاکتام حساس بود. انتروکک در محیط کشت، تشکیل زنجیره نمی‌دهد و به صورت دیپلوکوک بدون کپسول می‌باشد، در حالی که استافیلوکک اپیدرمیدیس دارای کپسول است و قادر به تولید Slime Layer نیز می‌باشد که با احاطه کردن باکتری باعث بروز مقاومت در برابر چهار پدیده شیمیوتاکسی نوتروفیل‌ها، اپسونیزاسیون، فاگوسیته شدن و در نهایت نفوذ پادزیست‌ها به درون سیتوپلاسم باکتری می‌شود (۱۲، ۱۶ و ۱۸). به طور خلاصه میزان حساسیت استافیلوکک اپیدرمیدیس و انتروکک نسبت به موگزالاکتام به مراتب بیشتر از سایر پادزیستهای بتالاکتام بود.

چهار نوع پادزیست آمینوگلیکوزیدی نیز آزمایش شدند. استافیلوکک اپیدرمیدیس فقط نسبت به جنتامایسین حساس بود که میزان حساسیت آن مشابه سفوپرازون است (۲۲ : ۷۸). میزان حساسیت انتروکک نسبت به سیزومایسین معادل ۹۲ درصد بود و در برابر سه نوع آمینوگلیکوزید دیگر مقاومت کامل نشان داد. شایان ذکر است که طیف ضد باکتریائی آمینوگلیکوزیدها به طور عمده روی باکتریهای گرام منفی متمرکز بوده (۶)، باکتری با تولید آنزیمهای غیر فعال کننده، کاهش دادن نفوذپذیری غشای سلولی و ایجاد تغییرات در محل اتصال آمینوگلیکوزید به ریبوزوم خویش موفق به کسب مقاومت نسبت به این دسته دارویی می‌شود (۹، ۲۲ و ۲۳).

سیپروفلوکساسین یکی از موثرترین نوع پادزیست‌ها می‌باشد و میزان حساسیت استافیلوکک اپیدرمیدیس نسبت به آن معادل موگزالاکتام و بسیار بیشتر از پادزیستهای بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها، اریترومایسین و کوتریموکسازول است؛ ولیکن انتروکک نسبت به آن دارای یک حساسیت نسبی- مشابه نتیجه اریترومایسین- بود. یگانه روش مقاوم شدن باکتری نسبت به سیپروفلوکساسین عبارت از تغییر در ساختمان ژن مسئول ساخت بخش Sub A آنزیم DNA gyrase می‌باشد

که فرآیندی مشکل است. بنابراین، طیف ضدمیکروبی این پادزیست وسیع بوده، شامل باکتریهای گرام منفی، گرام مثبت، مایکوباکتریوم‌ها و ریکتزیاها می‌شود (۲۲، ۲۳ و ۲۶).

اریترومایسین بر خلاف سیپروفلوکساسین به دلیل تغییرات جزء ۵۰S ریبوزوم استافیلوکک‌ها و استرپتوکک‌ها با واسطه پلاسمید یا جهش کروموزومی به سرعت ارزش پادزیستی خود را از دست می‌دهد (۸ و ۱۰) و با وجود انتخابی بودن اریترومایسین بعد از پنی‌سیلین‌ها در درمان عفونتهای ناشی از کوکسی‌های گرام مثبت، نتایج پژوهش حاضر بیانگر فقدان تاثیر ضد باکتری مناسب اریترومایسین بود.

پادزیست گلیکوپپتیدی وانکومایسین در سال ۱۹۵۶ توسط مک کرمیک از قارچ orientalis Streptomyces موجود در خاك اندونزی جداسازی شد (۲۲). این پادزیست به طور عمده روی باکتریهای گرام مثبت، شامل پنوموکک، انتروکک، پپتوکک و استرپتوکک‌های گروه A، B، C و G موثر است (۵ و ۲۳). در پژوهش حاضر میزان حساسیت ۲۲۰ سویه استافیلوکک اپیدرمیدیس و ۱۱۰ سویه انتروکک نسبت به وانکومایسین صددرصد بود. باکتریهای گرام مثبت بندرت با واسطه پلاسمید نسبت به وانکومایسین مقاومت نشان می‌دهند و لذا وانکومایسین به صورت سیاهرگی در درمان عفونتهای استافیلوککی حاد و مقاوم نسبت به پادزیستهای بتالاکتام و همراه با جنتامایسین یا استرپتومایسین جهت درمان اندوکاردیت استرپتوککی و عفونتهای انتروککی در بیمارانی که به پنی‌سیلین حساس هستند، مصرف می‌شود (۴، ۷، ۲۰ و ۲۳).

پادزیست گلیکوپپتیدی SK&F104662 نیز به صورت دیسک ۳۰ میکروگرمی برای نخستین بار در ایران تهیه و آزمایش شد. این پادزیست با فرمول $C_{68}H_{73}ClN_8O_{24}S$ روی استافیلوکک اپیدرمیدیس (مقاوم و حساس به متی‌سیلین)، انواع انتروکک و کورینه باکتریوم‌ها موثر می‌باشد (۱ و ۳). طبق مطالعات میزان تاثیر پادزیست SK&F104662 روی استافیلوکک اپیدرمیدیس و استافیلوکک آرئوس (۲) و ۴۳ سویه پنوموکک نسبت به پنی‌سیلین مقاوم و جداسازی شده، از مایع مغزی - نخاعی بیش از وانکومایسین، تیکوپلانین و داپتومایسین بود (۷). این پادزیست با غلظت ۲ میکروگرم در لیتر روی ۲۵۴ سویه استافیلوکک آرئوس، انتروکک فکالیس و کورینه باکتریوم تاثیر داشت (۷). در پژوهش حاضر نیز تمامی سویه‌های استافیلوکک اپیدرمیدیس و انتروکک نسبت به پادزیست SK&F104662 حساس بودند. گفتنی است که فقط انتروکک فاسیوم نسبت به وانکومایسین و این پادزیست مقاوم می‌باشد. پادزیست SK&F104662 به دلیل دارا بودن نیمه عمر سرمی طولانی‌تر و دفع کبدی همراه با دفع اندك کلیوی (در بیمارانی که نقص کلیوی دارند) نسبت به وانکومایسین ارجحیت دارد (۷ و ۲۳). با توجه به نتایج بالا پیشنهاد می‌شود پس از انجام مطالعات دقیق و کامل‌تر نسبت به ورود پادزیست SK&F104662 به طرح ژنریک به عنوان جانشین وانکومایسین اقدام شود زیرا پادزیست SK&F104662 در مقایسه با آمینوگلیکوزیدها و وانکومایسین دارای سمیت کلیوی فوق‌العاده کمتر و جهت درمان عفونتهای ناشی از باکتریهای گرام مثبت فوق‌العاده موثرتر می‌باشد.

در بخش دوم پژوهش حاضر، تشخیصی سریع و قطعی استافیلوکک اپیدرمیدیس به روش آزمون تشخیصی دفروکسامین برای اولین بار در ایران انجام شد. دفروکسامین به عنوان یک ترکیب چنگالی (Chelating Agent) از محیط کشت Streptomyces plosus به روش Bickel یا Walser جداسازی می‌شد (۲۶). نمک مسیلات دفروکسامین برای دفع مازاد یونهای آهن و آلومینیوم از

بدن بیماران مبتلا به تالاسمی، آنمی‌سیدروبلاستیک، استئومالاسی، آرتریت روماتوئید و نارسائی مزمن کلیوی (تحت همودیالیز) مصرف می‌شود (۱۵ و ۲۳). بر مبنای مطالعات آزمایشگاهی و بالینی مشخص شد که دفروکسامین مهارکننده رشد لیستریا مونوسیتوژن، اشریشیاکلی، مننگوکک، گنوکک، برانهاملاکاتارالیس و محرك رشد سالمونلاتیفی، کلبسیلاویرسینیاانتروکلی‌تیکا می‌باشد (۱۳ و ۲۵).

لیندسی و همکاران با مطالعه روی ۹۵ سویه استافیلوکک جدا شده از کشت خون مشخص کردند که تمامی انواع استافیلوکک و میکروکوك، بجز استافیلوکک اپیدرمیدیس و استافیلوکک هومینیس، در برابر اثر مهار رشد دفروکسامین حتی در غلظتهای بالای ۵۰۰ میلیگرم/لیتر نیز مقاومت می‌کنند (۱۳). این نکته مهم به عنوان اساس یک آزمون تشخیصی ساده، ارزان و جانشین شونده برای آزمون نووبیوسین محسوب می‌شود. بنابراین، در پژوهش حاضر نسبت به ساخت دیسکهای ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرمی دفروکسامین اقدام شد و روی استافیلوکک آرئوس، انتروکک، استرپتوکک بتاهمولیتیک گروه A، پنوموکک و ۶۰ سویه استافیلوکک کوآگولاز - مانیتول منفی آزمایش شد. نتایج مشخص کرد که فقط ۶۰ سویه استافیلوکک کوآگولاز - مانیتول منفی نسبت به دیسکهای ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرمی دفروکسامین حساس بودند و میانگین قطر هاله مهار رشد به ترتیب معادل ۱۶/۷۶، ۲۴/۲۳ و ۲۵/۲۳ محاسبه شد (جدول ۳). سپس دو آزمون افتراقی فسفاتاز و تخمیر قند ترهالوز انجام گرفت و ۵۴ سویه استافیلوکک اپیدرمیدیس (فسفاتاز مثبت و تخمیر ترهالوز منفی) و ۶ سویه استافیلوکک هومینیس (فسفاتاز منفی و تخمیر ترهالوز مثبت) شناسایی شدند. بر اساس نتایج بالا مشخص می‌شود که دیسکهای ۱ و ۱۰ میکروگرمی دفروکسامین به دلیل دارا بودن کمترین میزان دفروکسامین بر رشد استافیلوکک کوآگولاز- مانیتول منفی بی‌تاثیر می‌باشند ولیکن سه نوع دیسک دیگر دارای صد درصد حساسیت نسبت به استافیلوکک‌های کوآگولاز- مانیتول منفی و بیش از ۹۰ درصد ویژگی جهت استافیلوکک اپیدرمیدیس بودند. ارزش نتایج منفی آزمون تشخیصی دفروکسامین نیز صدرصد است زیرا نتیجه منفی بیانگر عدم وجود استافیلوکک اپیدرمیدیس به طور صد درصد می‌باشد و لذا یک آزمون تشخیصی بسیار قابل اعتماد محسوب می‌شود. آزمون تشخیصی دفروکسامین باید در محیط کشت فاقد خون انجام شود زیرا در حضور خون، استافیلوکک اپیدرمیدیس قادر به مصرف آهن موجود در هموگلوبین بوده، یا به دلیل اشباع شدن دفروکسامین و استفاده باکتری از آهن اضافی قادر به رشد می‌باشد. محیط‌های کشت بطور معمول دارای ۴μM آهن بوده که با جذب آن توسط دفروکسامین و تولید فروکسامین از دسترس استافیلوکک اپیدرمیدیس خارج می‌شود (۱۳). لذا در پژوهش حاضر از محیط کشت .B.H.I.A استفاده شد.

استافیلوکک ساپروفتیکوس در شرایط بیهوازی همانند استافیلوکک اپیدرمیدیس قادر به تخمیر قند مانیتول نمی‌باشد. لکن بر خلاف استافیلوکک اپیدرمیدیس نسبت به نووبیوسین مقاوم است (۱۸). بنابراین، با توجه به قیمت دیسک‌های نووبیوسین می‌توان از دیسک‌های ارزان قیمت دفروکسامین (هر دیسک ۱۰۰۰ میکروگرمی کمتر از ۱۰ ریال است) جهت افتراق این دو نوع استافیلوکک کوآگولاز منفی در نمونه‌های کشت ادرار استفاده کرد.

در پایان با توجه به نتایج فوق، دقت و حساسیت آزمایش، دسترسی فراوان به پودر ارزان قیمت دفروکسامین (یک ویال ۵۰ میلی‌گرمی معادل ۵۰۰ دیسک یک هزار میکروگرمی)، ساخت آسان دیسک و پایداری مناسب (۵ هفته در یخچال) پیشنهاد می‌شود آزمون

تشخیص افتراقی دفروکسامین در آزمایشگاههای تشخیص طبی انجام گیرد و تولید انبوه دیسک‌های استاندارد دفروکسامین نیز در صنایع داروسازی شروع شود.

مراجع

1) Jorgensen JH, et al. Antibacterial activity of the new glycopeptide antibiotic SK&F104662. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 560-561.
2) Soriano F, et al. Comparative invitro activity of the new glycopeptide SK&F104662 against problematic gram- positive bacteria. Eur J Clin Microbial Infect Dis 1991; 10: 782-784.
3) Yao JDC, et al. invitro activity of SK&F104662 a new glycopeptide antibiotic. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 965-967.
4) Casett A, et al. Vancomycin in 1991. An Update Pathol Biol 1991; 39: 700-708.
5) Ramakrishnan N. Antibacterial activities and mode of action of vancomycin and related glycopeptides. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 605-609.
6) Orainey Al, et al. Susceptibility of gram-negative isolates to aminoglycosides: a comparative study. Med Sci Res 1990; 18: 411-412.
7) Rodriguez TJL, et al. Comparative invitro activity of four peptide antibiotics against penicillin-resistant Strep. pneumoniae isolated from CSF. J Antimicrob Chemother 1992; 29: 299-302.
8) Stopler T, Branski D. Resistance of mycoplasma pneumoniae to macrolides lincomycin and streptogramin B. J Antimicrob Chemother 1986; 23: 339-340.
9) Zheng QT, et al. Pharmacokinetic study on amikacin in healthy subjects and elderly patients. Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi 1992; 12: 51-53.
10) Taylor DF, Change N. Invitro susceptibilities of campylobacter jejuni and campylobacter coli to azithromycin and erythromycin. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 1917-1918.
11) Carball J, Criado MJ, et al. Influence of blood proteins in the in-vitro adhesion of Staph. epidermidis to teflon, polycarbonate, poly ethylen and bovine pericardium. Rev Esp Fisiol (abstract) 1991; 47: 201-208.
12) Hussain M, et al. Radiochemical assay to measure the biofilm produced by CNS on solid surfaces and its use to quantitate the effets of various antibacterial compounds on formation of the biofilm. J Med Microbiol 1992; 37: 62-69.
13) Lindsay JA, Riley TV. Susceptibility to deferoxamine: a new test for the identification of Staph. epidermidis. J Med Microbiol 1991; 35: 45-48.
14) Stool N, et al. Purification and characterization of elastase from Staph. epidermidis. J Med Microbiol 1992; 37: 201-205.
15) Jielemens CL. et al. Critical role of iron overload in the increased susceptibility of haemodialysis patients to bacterial infection: Beneficial effect of DFO. Nephrol Dial Transplant 1989; 4: 883-887.
16) Hussain M, et al. Comparison of cell wall theichoic acid with high molecular weight extracellular slime material from Staph. epidermides. J Med Microbiol 1992; 37: 368-375.
17) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for determining activity of antimicrobial agents. NCCLS Document M26-P. Vol 7, No 2, 1987.
18) Baron E, et al. Bailey & Scott's Diagnostic microbiology. 9th ed. St. Louis, C. V. Mosb Company 1994; PP 183-198, 323, 330-331, 339,351.
19) Jawetz E, et al. Medical microbiology. 11th ed. San Mateo, Appleton & Lange 1995; PP 200-220.
20) Joklik WK, et al. Zinsser microbiology. 20th ed. San Mateo, Appleton & Lange 1992; PP 333, 403, 405-410, 413, 420.
21) Koneman EW, et al. Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Philadelphia, J B Lippincott Company 1992; PP 281, 382, 411-413, 617-631,637-638, 659.
22) Doerge RF, Gisvold O, et al. Textbook of organic medical & pharmaceutical chemistry. 9th ed. Philadelphia, J B Lippincott Company 1991; PP 278, 293-297, 306-307.
23) Reynolds JEF. Martindale the extra pharmacopeia. 30th ed. London, The Pharmaceutical Press 1993; PP 161-164, 837-839.
24) The United States Pharmacopia XXII The National Formulary XVII. 17th ed. Washington DC, The U S Pharmacopial Convention Inc 1990; PP 382-383, 1479-1488, 1979.
25) Lohuis JA, et al. Growth of E. coli in whole and sin milk of endotoxin induced mastitic quarters: invitro effect of DFO. J Dairy Sci 1988, PP 2772-2781.
26) Chaiman ARG, Chose GD, et al. Remington's pharmaceutical sciences. 18th ed Philadelphia, Mack Publishing Company 1990; PP 824, 1207, 1219.

The Introducing of Choice Antibiotic and New Differential Diagnosis Test for Staph. epidermidis

Karameddini M, Jahanshahi A

Virology Department, Ghaem University Hospital, Mashhad University of Medical Sciences and Health Services

SUMMARY

In this research, for the first time in Iran, Deferoxamine test for differential diagnosis between Staph. epidermidis and Staph. hominis of other gram-positive cocci is introduced. Besides, the comparative results of the susceptibility rates of Staph. aureus (220 Spp.) and Enterococci (110 Spp.) to a new glycopeptide antibiotic (SK&F104662) and other 12 antibiotics are presented by Disk-Agar Diffusion Method.

Staph. epidermidis species were completely susceptible (100%) and very specific (>90%) to deferoxamine disks (100, 1000, 2000 mcg). All of the gram-positive cocci were resistant to deferoxamine. Staph. epidermidis species were susceptible to moxalactam, ciprofloxacin and Enterococci species were susceptible to moxalactam, mezlocillin and sisomycin. However, Staph. epidermidis and Enterococci were completely susceptible (100%) to SK&F104662 antibiotic and vancomycin.

Effect of ampicillin on idiopathic premature labor in Teaching Hospital in Tehran, 1995

Ramezanzadeh F, Hadeepour Jahroumi L

Tehran and Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services

SUMMARY

In clinical trial study, effect of ampicillin on idiopathic premature labor in 16 hospitals for 4 months from 74/09/30 was evaluated. (Tehran, 1995). Cases (30 subjects) have received ampicillin, but controls (30 subjects) didn't receive it. In two groups, maternal age, gestational age, parity, vaginal examination (dillatation & effacement), uterine contractions within 10 minutes, tocolytic drugs, presentation was matched. Following receiving ampicillin, we followed 2 & 4 weeks later evaluating dillatation & effacement, uterine contraction with 10 minutes.

Results showed that 6.7% of cases, but 66.7% of controls uterine contractions didn't stop. There was 15.7 days in cases and 5.2 days in controls delaying in delivery.