

Research Paper:

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



Shahrzad Someh Sarai Sabet¹, *Teena Dadgar¹, Hadi Bazzazi²

1. Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

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



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

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



Received: 17 Apr 2020

Accepted: 07 Mar 2021

Available Online: 01 Aug 2021

ABSTRACT

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

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

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

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

Keywords:

Antimicrobial effect,
Blood platelets, Amniotic membrane

* Corresponding Author:

Teena Dadgar, PhD.

Address: Department of Biology, Gorgan Branch, Gorgan, Islamic Azad University, Iran.

Tel: +98 (911) 1775990

E-Mail: dadgar_teena@yahoo.com

مقاله پژوهشی:

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

شهرزاد صومعه‌سرای ثابت^۱، تینا دادگر^۱، هادی بزازی^۲

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.

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

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۹ فروردین ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۱۷ اسفند ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۰

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

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

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

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

کلیدواژه‌ها:

اثر ضد میکروبی، پلاکت، پرده آمینوتیک

مقدمه

بیولوژیکی طبیعی در جهت مبارزه با باکتری‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به پرده آمینوتیک و کنسانتره پلاکت اشاره کرد. در حال حاضر از پرده آمینوتیک انسانی به طور گسترده‌ای در جراحی‌های چشم، ترمیم اعصاب محیطی، سوختگی‌ها و جراحی افراد مبتلا به اپیدرمولیزیس بولوزا و همچنین تهیه محیطی مناسب برای تمایز سلول‌های عصبی استفاده می‌شود [۳] و مطالعات نشان داده‌اند که غشای آمینوتیک به دلیل بیان mRNA الافین، اچ‌بی‌دی ۱-۳ و مهارکننده‌های پروتئاز لوكوسیت ترشحی در اپی‌تلیال آن دارای خاصیت ضد میکروبی است [۴].

همچنین پلاکت‌ها نیز به عنوان یک فراورده بیولوژیک قادر

بیماری‌های عفونی یکی از دلایل اساسی مرگ‌ومیر و ناتوانی است که با وجود پیشرفت چشمگیر در درمان و پیشگیری همچنان یکی از فاکتورهای تهدیدکننده سلامت به شمار می‌آیند. چنان‌که در بین میکروب‌های بیماری‌زا برای پستانداران مقاومت آنتی‌بیوتیکی با سرعتی هشداردهنده در حال افزایش است [۱، ۲]. از طرفی مصرف برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت بالقوه می‌تواند به عنوان عامل بروز عوارض جانبی تهدیدکننده حیات در نظر گرفته شود [۲]. در کنار تولید آنتی‌بیوتیک‌های نسل جدید استفاده از روش‌های

* نویسنده مسئول:

دکتر تینا دادگر

نشانی: گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: +۹۸ (۹۱۱) ۱۷۷۵۹۹۰

رایانامه: dadgar_teena@yahoo.com

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

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

جهت تهیه پلاکت خون ابتدا افراد واجد شرایط که سابقه بیماری عملکردی پلاکت و ترومبوسیتوپنی کمتر از ۱۰ هزار، سپسیس و مصرف داروهای فیبرینولیتیک را نداشتند، برای مطالعه انتخاب شدند. سپس از اهداکنندگان داوطلب پس از انجام تست غربالگری زمان خون‌روی (BT)^۱ و شمارش تام خون (CBC)^۲ و در صورت نرمال بودن تست‌ها، حدود ۴۵۰ میلی‌لیتر خون با استفاده از کیسه‌های سه تایی جمع‌آوری شد. سپس خون موردنظر با دور سبک معادل شتاب ثقل ۲۲۰۰ g به مدت ۳-۴ دقیقه در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پلاسما سرشار از پلاکت به کیسه دوم منتقل شد و با دور تند معادل ۴۰۰۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلاکت‌ها در ته کیسه متراکم شوند. به منظور تغلیظ پلاکت‌ها لایه رویی یا پلاسما تهی از پلاکت (PPP)^۳ به کیسه سوم منتقل شد و تنها ۵۰ سی‌سی پلاسما روی پلاکت‌ها باقی ماند و رسوب پلاکتی تشکیل‌شده در پلاسما باقی‌مانده شناور شد. پس از آن جهت نگهداری به انکوباتورهای شیکردار با تکان دادن ملایم در دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

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

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

روش بررسی

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

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

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

یافته‌ها

بررسی اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت

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

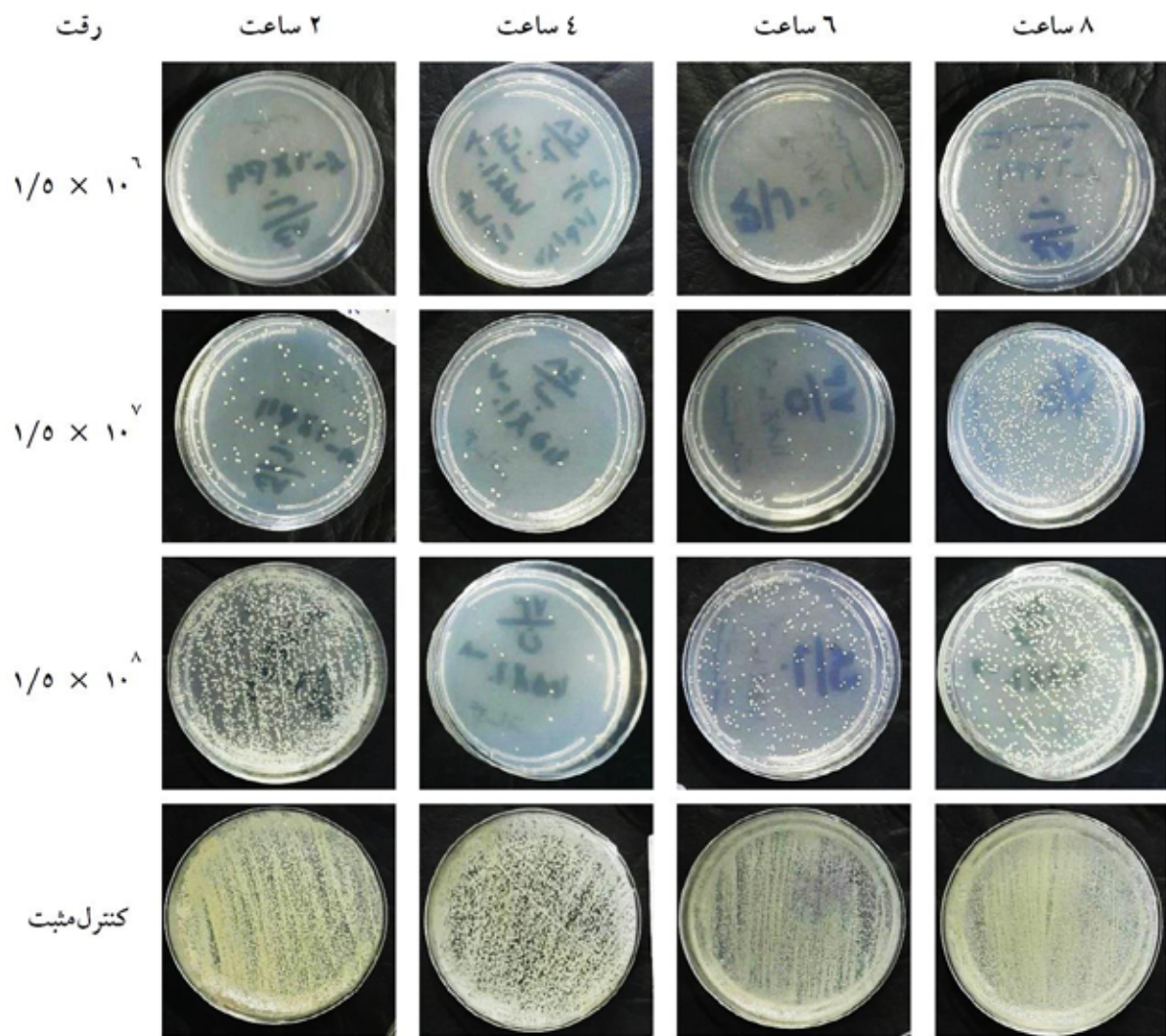
نتایج بررسی اثر آنتی‌باکتریال پلاکت در رقت‌های مختلف باکتریایی نشان داد با ثابت بودن مقدار کنسانتره پلاکت و کاهش رقت باکتری، تعداد کلنی‌های حاصل از کشت هر رقت ($1/5 \times 10^8$ ، $1/5 \times 10^7$ و $1/5 \times 10^6$) در مجاورت پلاکت در مورد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز در مقایسه با نمونه کنترل (بدون پلاکت) کاهش داشته است. این در حالی است که تعداد کلنی‌ها در همه رقت‌ها برای باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد پلاکت) بدون تغییر است و کاهش رقت باکتری در فعالیت آنتی‌باکتریال پلاکت مؤثر نیست. بنابراین از مجموع شش نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز، همگی آن‌ها در برابر کنسانتره پلاکت حساس بودند. این نتایج در مورد باکتری سودوموناس آئروژینوزا متفاوت بوده و همه سویه‌های بتالاکتاماز مثبت نسبت به کنسانتره پلاکت مقاومت نشان دادند.

بررسی اثر کنسانتره پلاکت در ساعات مختلف بر روی کشت انواع باکتری نشان داد که کنسانتره پلاکت می‌تواند بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس مولد بتالاکتاماز (مقاوم و حساس به متی‌سیلین) مؤثر باشد. این بررسی بعد از گذشت ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ ساعت از زمان کشت انجام شد که در ساعات ۲، ۴، ۶ و ۸ بهترین اثر را بر روی باکتری داشت. نتایج بیان‌کننده این است که در رقت‌های $1/5 \times 10^6$ و $1/5 \times 10^7$ بهترین ساعت اثرگذاری کنسانتره پلاکت ۶ بوده و در رقت $1/5 \times 10^8$ ساعت ۸ بیشترین کاهش را در تعداد کلنی‌ها نشان داد. کمترین اثرگذاری نیز در ساعت ۱، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ بوده است (تصویر شماره ۱). همچنین اثر پلاکت بر روی باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز نتایج متفاوتی از اثر آن بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را نشان داد. بدین ترتیب که پلاکت بعد از گذشت ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ علیه جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا مؤثر نبودند.

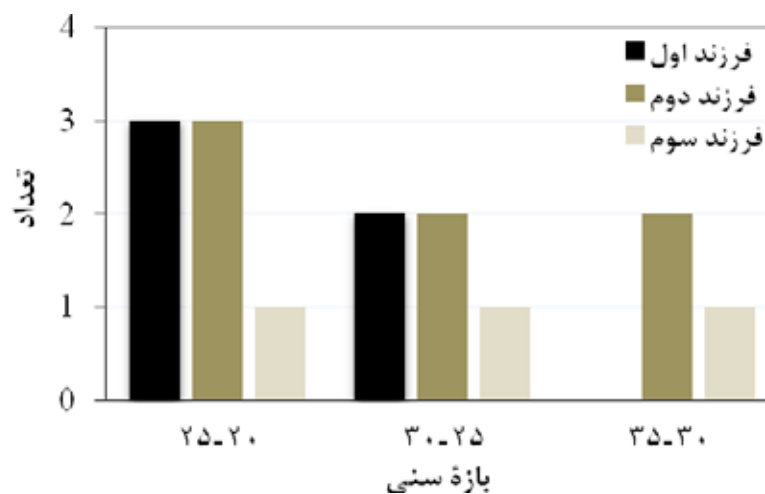
در این مطالعه ۱۵ نمونه پرده آمینوتیک به روش نمونه‌گیری تصادفی ساده بدون جایگزینی از میان مادران واجد شرایط انتخاب شد. رنج سنی مادران بین ۲۰ تا ۳۵ سال بود. پرده آمینوتیک پس از سزارین زنان باردار واجد شرایط مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های سطح شهر گرگان که به شیوه سزارین انتخابی زایمان کرده بودند تهیه شد.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

جهت بررسی اثر ضدباکتریایی کنسانتره پلاکت برای هر سوش باکتری سه رقت $1/5 \times 10^6$ ، $1/5 \times 10^7$ و $1/5 \times 10^8$ تهیه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر پلاکت مورد آزمون تهیه شده از سازمان انتقال خون به هر لوله اضافه شد. لوله چهارم را به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته و فقط باکتری درون آن تلقیح شد. به محض تهیه سوسپانسیون در ساعت اول از همه رقت‌ها و کنترل مثبت ۵ میکرولیتر برداشته و روی محیط مولر هینتون آگار (پلیت ۶ سانتی‌متری) کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار دادند و این کار برای ۲۴ ساعت به مدت هر ۲ ساعت یک‌بار ادامه داده شد و نتایج ۲۴ ساعت بعد مورد بررسی قرار گرفت [۱۳].

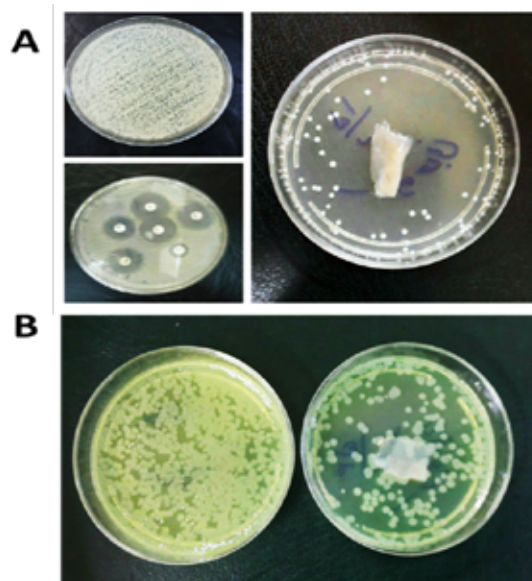
جهت بررسی اثر ضدباکتریایی غشای آمینوتیک ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شده از هر سویه باکتری به محیط مولر هینتون آگار ریخته شد و به روش متراکم و به طور کاملاً یکنواخت توسط سوآپ استریل بر سطح پلیت کشت داده شد. سپس در مرکز هر یک از پلیت‌ها یک قطعه از غشای آمینوتیک برش یافته (۲×۲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

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

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

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۲. مشخصات جمعیت‌شناختی اهداکنندگان پرده آمنیوتیک

**تصویر ۳. تأثیر پرده آمفوتریک**

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

جندی شاپور

مجله علمی پزشکی

استافیلوکوکوس اورئوس بتالاکتاماز مورد مطالعه به همراه سویه استاندارد که همگی نسبت به پنی‌سیلین مقاومت بودند نسبت به پرده آمفوتریک حساس بوده و جدایه‌های مقاوم و حساس به متی‌سیلین هم نسبت به پرده آمفوتریک حساسیت خوبی را نشان دادند. همچنین شش جدایه سودوموناس آئروژینوزای مولد بتالاکتاماز نیز همراه سویه استاندارد همگی نسبت به پرده آمفوتریک حساس بوده و تأثیر ضد میکروبی پرده آمفوتریک در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کنترل قطر هاله بیشتر همراه با کاهش رقت باکتری را نشان داده است (تصویر شماره ۳).

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

بررسی اثر ضدباکتریایی پرده آمفوتریک

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

به طور کلی از ۱۵ پرده آمفوتریک مورد مطالعه ۱۰ پرده آمفوتریک اثر ممانعت از رشد علیه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مولد بتالاکتاماز را نشان می‌دهد. در این مطالعه تمامی ۱۰ نمونه پرده آمفوتریک مؤثر تهیه‌شده از مادران اثر مشابهی داشتند و همگی قدرت ضد میکروبی خوبی را علیه جدایه‌های بالینی و سویه استاندارد نشان دادند. شش جدایه

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد ایجاد شده باکتری‌های مورد مطالعه در حضور پرده آمفوتریک و مقایسه آن با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک

نمونه	پرده آمفوتریک	ونکومايسين	ایمی‌پنم
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین مولد بتالاکتاماز	۲۱	۱۴.۳	-
استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین مولد بتالاکتاماز	۱۹.۶	۱۴.۳	-
استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد ۳۷۸۵۲	۱۹	۱۵	-
سودوموناس آئروژینوزای مولد بتالاکتاماز	۱۶.۲	-	۲۵
سودوموناس آئروژینوزای استاندارد ۲۵۹۲۳	۱۵	-	۲۱

جندی شاپور

مجله علمی پزشکی

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

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

در مطالعه مهدی سلطان دلال و همکاران نیز این اثر علیه سودوموناس آئروژینوزا و در مطالعه کیارگارد^۵ و همکاران نیز خاصیت ممانعت کنندگی پرده علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده بود که نتایج آن ها با نتایج به دست آمده در این تحقیق هم خوانی دارد [۱۸].

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

نتیجه گیری

نتیجه این مطالعه نشان دهنده این است که کنسانتره پلاکت در مقایسه با پرده آمینوتیک طیف اثر ضدباکتریایی محدودتری دارد، زیرا پرده آمینوتیک روی هر دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی مولد بتالاکتاماز اثر مهارکنندگی دارد. این در صورتی است که کنسانتره پلاکت تنها بر باکتری گرم مثبت یعنی استافیلوکوکوس اورئوس اثرگذار بود. نتایج بیان کننده این است که در رقت های $1/5 \times 10^6$ و $1/5 \times 10^7$ بهترین ساعت اثرگذاری کنسانتره پلاکت ساعت ۶ بوده و در رقت $1/5 \times 10^6$ ساعت ۸ بیشترین کاهش را در تعداد کلنی ها نشان داد. کمترین اثرگذاری نیز در ساعت ۱، ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ بوده است. همچنین نتایج نشان دهنده این است که تأثیر پرده آمینوتیک بر روی سودوموناس آئروژینوزا که گرم منفی است، کمتر از تأثیر آن بر روی استافیلوکوکوس

سودوموناس آئروژینوزا بیشتر بوده است. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در مقایسه با نوع حساس به متی سیلین حساسیت بیشتری نشان داده و دارای قطر هاله بزرگتری است. نتایج نشان دهنده این است که تأثیر پرده آمینوتیک بر همه سوش های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک ونکوماپسین بیشتر بود. این در حالی است که برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا شرایط متفاوت بوده و تأثیر آنتی بیوتیک ایمی پنم بیشتر از پرده آمینوتیک بوده است.

بحث

گسترش روزافزون مقاومت میکروبی باعث ایجاد چالشی جدی در حوزه درمان شده است به طوری که مسئله درمان بیماران و کنترل بیماری ها را تحت تأثیر قرار داده است. با وجود آنکه طیف گسترده ای از مواد با خاصیت آنتی میکروبیال در دسترس هستند، اما به دلیل بروز مقاومت باکتریایی در سال های اخیر، تلاش محققان در جهت کشف یک ماده آنتی باکتریال مؤثر در مدیریت و درمان عفونت های زخم و پس از جراحی ادامه دارد. مطالعه حال حاضر با هدف بررسی اثر ضدباکتریایی دو فرآورده بیولوژیکی شامل کنسانتره پلاکت و پرده آمینوتیک بر روی دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس صورت گرفت.

اورتس^۵ و همکاران، اثر ژل کنسانتره پلاکت انسانی را در درمان عفونت جراحی مفصل زانو بررسی کردند. این مطالعه بر روی ۱۶۵ بیمار مبتلا به استوارتریت که نیاز به جراحی داشتند، انجام شد. به این صورت که ۸۵ نفر تحت درمان با ژل پلاکتی قرار گرفتند و به نتایج مثبتی در این زمینه رسیدند [۱۵].

یوان^۶ و همکارانش نیز عفونت ناشی از استئومیلیت مزمن را که با آنتی بیوتیک درمان درمان نشده بود، با استفاده از کنسانتره پلاکت انسانی درمان کرده و به نتایج قابل قبولی در زمینه اثر آنتی باکتریال کنسانتره پلاکت انسانی دست پیدا کردند. طی این تحقیق اعلام شد که PRP به دلیل برخورداری از غلظت بالای فاکتورهای رشد و گلبول های سفید می تواند باعث تسریع فرایند التیام زخم و کاهش واکنش های التهابی شود که این دو مکانیسم نشان دهنده سودمندی استفاده از PRP در درمان زخم های مزمن است [۱۶].

موجن^۷ و همکاران، اثر آنتی باکتریال ژل کنسانتره پلاکت انسانی فعال شده با ترومبین را بر روی زخم پس از جراحی و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و از آن به عنوان یک استراتژی مؤثر در کنترل عفونت های پس از جراحی یاد کردند. نتایج به دست آمده در تحقیق آن ها با نتایج یافت شده در این پژوهش مشابه بوده است. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج موجن مطابقت دارد [۱۷].

5. Everts

6. Yuan

7. Moojen

8. Kija ergaarda

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

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

اصول اخلاقی تماماً در این مقاله رعایت شده است.

حامی مالی

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

مشارکت‌نویسندگان

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

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- [1] Maria-Neto S, de Almeida KC, Macedo ML, Franco OL. Understanding bacterial resistance to antimicrobial peptides: From the surface to deep inside. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1848(11 Pt B):3078-88. [DOI:10.1016/j.bbame.2015.02.017] [PMID]
- [2] Andersson DI, Hughes D, Kubicek-Sutherland JZ. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist Updat*. 2016; 26:43-57. [DOI:10.1016/j.drup.2016.04.002] [PMID]
- [3] Parolini O, Soncini M, Evangelista M, Schmidt D. Amniotic membrane and amniotic fluid-derived cells: Potential tools for regenerative medicine? *Regen Med*. 2009; 4(2):275-91. [DOI:10.2217/17460751.4.2.275] [PMID]
- [4] Feng G, Yu L. [Research progress of human amniotic membrane applications (Chinese)]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2014; 31(4):930-4. [PMID]
- [5] Sorrentino S, Studt JD, Medalia O, Tanuj Sapra K. Roll, adhere, spread and contract: Structural mechanics of platelet function. *Eur J Cell Biol*. 2015; 94(3-4):129-38. [DOI:10.1016/j.ejcb.2015.01.001] [PMID]
- [6] Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. *Jawetz melnick & adelbergs medical microbiology 26/E*. New York: McGraw Hill Professional; 2012. <https://books.google.com/books?id=OY3DUKbcopAC&q>
- [7] Microbiologyinfo. Beta lactamase test – principle, procedure, uses and interpretation [Internet]. 2019 [Updated 14 June 2019]. Available from: <https://microbiologyinfo.com/beta-lactamase-test/>
- [8] Ebrahimi M, Dadgar T, Koohsari H. Detection of β -lactamase activity in various clinical coagulase negative staphylococci and its correlation with drug resistance. Paper presented at: 19th International Congress of Microbiology of Iran. 4-6 September; Tehran, Iran. <https://civilica.com/doc/782605/>
- [9] Swenson JM, Spargo J, Tenover FC, Ferraro MJ. Optimal inoculation methods and quality control for the NCCLS oxacillin agar screen test for detection of oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(10):3781-4. [DOI:10.1128/JCM.39.10.3781-3784.2001] [PMID] [PMCID]
- [10] Sobhani Poor MH, Mansouri S, Saeidadel N. [Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Antibiotic Resistance Patterns of the Isolates from the Nose of Training Soldiers in Kerman in 2012 (Persian)]. *Iran J Med Microbiol*. 2014; 8(3):15-21. <https://ijmm.ir/article-1-348-fa.pdf>
- [11] Kalantar D, Mansouri S. Emergence of multiple β -lactamases produced by *Escherichia coli* clinical isolates hospitalized patient in Kerman, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2010; 3(4):137-45. <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=178917>
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 21th informational supplement [Internet]. 2011 [Updated Jan 2011]. Available from: https://www.aeciherj.org.br/publicacoes/cls_i.pdf
- [13] Abbasnia S, Teymori F, Moradpor M, Derakhshan M, Ghazvini K. [Evaluation of antibacterial effect of hand hygiene gel on different concentrations of bacteria (Persian)]. *Med J Mashhad Univ Med Sci*. 2017; 59(6):312-21. [DOI:10.1016/j.ejcb.2015.01.001]
- [14] Kjaergaard N, Hein M, Hyttel L, Helmig RB, Schønheyder HC, Uldbjerg N, et al. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001; 94(2):224-9. [DOI:10.1016/S0301-2115(00)00345-6] [PMID]
- [15] Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. *J Natl Med Assoc*. 2006; 98(3):398-402. [PMID]
- [16] Yuan T, Zhang C, Zeng B. Treatment of chronic femoral osteomyelitis with platelet-rich plasma (PRP): A case report. *Transfus Apher Sci*. 2008; 38(2):167-73. [DOI:10.1016/j.transci.2008.01.006] [PMID]
- [17] Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, Overvest EP, van Zundert A, Knape JT, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res*. 2008; 26(3):404-10. [DOI:10.1002/jor.20519] [PMID]
- [18] Soltan Dallal MM, Kalafi Z, Rastegar Lari A, Hosseini SK, Rahimi Foroushani A, Deilami Khiabani Z, et al. The effect of reduced bacterial dilution on human amniotic membrane antibacterial activity, in vitro. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 15(5):6-8.
- [19] Zare Bidaki M, Lessani T, Khaaie Z. [Evaluation of anti-bacterial effects of chorionic membranes in vitro (In Persian)]. *J Birjand Univ Med Sci*. 2012; 19(2):140-7. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=285385>

This Page Intentionally Left Blank
