مقاله پژوهشی

بررسی اثرات هم‌افزایی آنتی‌بیوتیک فسفومایسین و اسانس گیاه Citrus aurantifolia بر روی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوکوس ارئوس

بفرین زاهدی[۱]، جاوید اقبال[۲]، مینو زردشتی[۳]، نیما حسینی جزنی[۴]*

تاریخ دریافت 1393/12/25 تاریخ پذیرش 1394/02/25

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت و عامل ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌ها است. مقاومت به متی‌سیلین در این باکتری معمولاً با مقاومت به شمار متعددی از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها همراه است و شیوع بالای این ایزوله‌ها می‌تواند شکست‌های درمانی را موجب گردد. فسفومایسین ازجمله آنتی‌بیوتیک‌های مهارکننده بیوسنتز پپتیدوگلی کان است که در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های متعدد کاربرد دارد. اثرات ضد میکروبی اسانس Citrus aurantifolia بر روی استافیلوکوکوس های مقاوم به متی‌سیلین قبلاً نشان داده شده است. در این مطالعه برای اولین بار اثرات کاربرد توأم غلظت‌های تحت کشنده فسفومایسین و اسانسCitrus aurantifolia در تشدید اثرات ضد میکروبی یکدیگر در شرایط برون تنی بر روی ایزوله‌های بالینی مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوکوس ارئوس موردبررسی قرار گرفته است.

روش کار: ۲۳ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با روش‌های استاندارد از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری و شناسایی شدند. مقادیر حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده فسفومایسین با رقت‌های متوالی از آنتی‌بیوتیک در محیط کشت مایع در دامنه غلظت حدفاصل ۰/۲۵ - ۱۲۸ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر حداقل غلظت کشنده اسانس Citrus aurantifolia در دامنه غلظت ۱۰٪- ۰۰۰۷۸٪ حجمی از اسانس تعیین شد. به‌منظور بررسی اثرات سینرژیتیک غلظت‌های مختلفی از اسانس به محیط کشت مایع با روش رقیق‌سازی متوالی اضافه شد. سپس بالاترین غلظتی از فسفومایسین که از حداقل غلظت کشنده فسفومایسین برای هر ایزوله کمتر بود، به کلیه لوله‌ها اضافه شد و باکتری مورد آزمایش تلقیح شد. پس از طی زمان کافی حداقل غلظت کشنده آنتی‌بیوتیک در حضور اسانس با روش ذکرشده تعیین شد.

یافته‌ها: از ۲۳ ایزوله مقاوم به اگزاسیلین ۱۳درصد نسبت به تمامی غلظت‌های موردمطالعه از فسفومایسین حساس و ۸/۷درصد مقاوم بودند. میانگین حداقل غلظت بازدارنده در مورد سایر ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین با محاسبه میانگین SD±Min برابر با ۵۲/۹ ±۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و میانگین حداقل غلظت کشنده ۷۶/۱۱±۴۲/۱۵ تعیین شد. میانگین حداقل غلظت کشنده اسانس در مورد کلیه ایزوله‌ها برابر با ۴٪±۳٪تعیین شد. در ۷۷درصد ایزوله‌های تحت بررسی حالت سینرژیسم مشاهده شد و در ۲۳درصد ایزوله‌ها تأثیر سینرژیتیک اسانس و دارو به اثبات نرسید.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت بالای ایزوله‌های تحت بررسی در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعات مشابه، لزوم بررسی دقیق حساسیت آنتی بیوتیکی، برای ارائه الگوی درمانی مناسب ضروری به نظرمی رسد و نشان می‌دهد که فسفومایسین باید با احتیاط مورداستفاده قرار گیرد. هم‌چنین با توجه به اثرات سینرژیستیک اسانس و فسفومایسین کاربرد همزمان این دو ترکیب به‌عنوان مواد ضد میکروبی پس از انجام مطالعات تکمیلی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، فسفومایسین، حداقل غلظت مهارکننده رشد، حداقل غلظت کشنده، اسانس Citrus aurantifolia

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره چهارم، ص 333-327، تیر 1394

آدرس مکاتبه: بخش باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، جاده نازلو، ارومیه، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۶۴۲۳۴

Email: n_jazani@yahoo.com

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی، گروه زیست شناسی واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

[۲] استادیار گروه پیراپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

[۳] کارشناس آزمایشگاه میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[۴] استاد میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

مقدمه

جنس استافیلوکوکوس شامل کوکسی‌های گرم مثبت است که به شکل خوشه‌انگوری آرایش میابند. گونه‌های استافیلوکوکوس بر روی پوست و غشای مخاطی انسان و محیط پیرامون یافت می‌شوند. از میان گونه‌های متعدد این جنس گونه‌های ارئوس، اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس ازنظر بالینی اهمیت بیشتری دارند. استافیلوکوکوس ارئوس بیماری‌زاترین گونه است و حدود ۵۰-۲۰درصد افراد ناقل این باکتری در بینی خود هستند (۱). استافیلوکوکوس ارئوس به علت دارا بودن فاکتورهای متعدد بیماری‌زایی، توانایی بیماری‌زایی بالایی داشته و طیف وسیعی از بیماری‌ها را به شکل عفونت و مسمومیت غذایی، باکتریمی، اندوکاردیت، مننژیت، استئومیلیت حاد و آبسه‌های منتشر در تمام اعضا را ایجاد می‌کند. هم‌چنین استافیلوکوکوس اورئوس رایج‌ترین عامل ایجاد عفونت در زخم‌های پوستی و سوختگی است. این باکتری توانایی منحصربه‌فردی در مقاوم شدن به انواع مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها را دارا است. ایزوله‌های برخوردار از مقاومت دارویی چندگانه اغلب به انواع بیمارستانی تعلق داشته، می‌توانند منشأ عفونت‌های موردی یا اپیدمی‌های بیمارستانی شوند. مقاومت به متی‌سیلین در سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس یک شاخص مهم است، زیرا با مقاومت به تعدادی از دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها مرتبط است. استافیلوکوکوس های مقاوم به متی‌سیلین از عوامل مهم ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. شیوع بالای استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین می‌تواند استفاده از تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها را برای درمان عفونت‌های استافیلوککی غیرممکن کرده و یا باعث شکست درمان شود (۲،۱). با توجه به مقاومت بالای استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین به انواع متفاوتی از آنتی‌بیوتیک‌ها، لزوم طراحی و معرفی ترکیبات ضد میکروبی جدید برای کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها احساس می‌شود.

فسفومایسین ازجمله آنتی‌بیوتیک‌های مهارکننده پپتیدوگلی کان است. این آنتی‌بیوتیک یک آنتی‌بیوتیک وسیع الطیف است که آنزیم UDP-N-Acetyl glucosamine 3 enolypyrovyl transferase (MurA) را مهار می‌کند. آنزیم (MurA) درواقع باعث اتصال فسفوانول پیرووات (PEP) به گروه ۳-هیدروکسیل از UDP-N-Acetyl glucosamine می‌شود و ساختان استیل مورامیک اسید می‌شود. کارایی فسفومایسین در کنترل عفونت ناشی از استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین نشان داده شده است و نیز ثابت شده است که کاربرد فسفومایسین در رژیم‌های درمانی ترکیبی در عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین کارایی آنتی‌بیوتیک‌های دیگر از قبیل لینزولید، ماکرولیدها، وانکومایسین وتئکوپلانین را افزایش می‌دهد (۳-۶).

اسانس Citrus aurantifolia (لیمو) از خانواده روتاسه اثر عمیقی روی سلامت سلول‌های پوست از آن جمله جلوگیری از ظهور تغییرات سلولی در جهت سرطانی شدن و همچنین تأخیر پیری سلول‌ها دارد. هم‌چنین دارای اثرات خنک‌کنندگی بر روی پوست می‌باشد. اسانس لیمو دارای خاصیت ضدانگلی روی کرم‌های مختلف می‌باشد. بوی مطبوع اسانس لیموترش، به وجود سیترال مربوط است. این اسانس دارای اثر ضدباکتریایی قابل‌ملاحظه‌ای بر روی باکتری‌های متعلق به جنس‌های باسیلوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، گونه‌های سالمونلا و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشد. هم‌چنین این اسانس دارای طیف وسیعی از فعالیت ضدمیکروبی در مقابل قارچ‌ها و مخمرهاست. اسانس Citrus aurantifolia خصوصیت آنتی‌سپتیکی خوبی برای ضدعفونی کردن آب آلوده دارد. از شیره تازه این گیاه در طب سنتی برای ضدعفونی کردن آب‌های آلوده استفاده می‌شود (۷). اثرات این اسانس بر روی تعدادی از باکتری ازجمله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین قبلاً نشان داده شده است و هم‌چنین دارای اثر ضدالتهابی و ضدویروسی به‌ویژه در مقابل هرپس سیمپلکس ویروس‌های تیپ ۱ و ۲ می‌باشد. لیمونن به‌عنوان جزء اصلی این اسانس از رشد و تکثیر ویروس HIV-1 ممانعت می‌کند (۷).

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات هم‌افزایی آنتی‌بیوتیک فسفومایسین و اسانس گیاه Citrus aurantifolia بر روی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین استافیلوکوکوس ارئوس می‌باشد. در صورت تأیید اثرات هم‌افزایی این دو در شرایط آزمایشگاهی، می‌توان کاربرد موضعی این ترکیبات را در شرایط in vivo ارزیابی کرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین:

۲۳ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین موجود در کلکسیون میکروبی، گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی که از نمونه‌های بالینی ارسالی به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی بیمارستان‌های آموزشی- درمانی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه در فاصله زمانی تیرماه تا آذرماه ۱۳۹۰ جمع‌آوری شده بودند و با تست استاندارد آزمایشگاهی به‌عنوان استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سیلن تعیین هویت شده بودند، وارد مطالعه شدند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده فسفومایسین:

رقت‌های متوالی از آنتی‌بیوتیک فسفومایسین (Sigma-Aldrich) در محیط کشت مولرهینتون براث (BBL) در هشت لوله تهیه شد و هر یک از لوله‌ها با تعداد ۱/۵× ۱۰^۶ عدد باکتری تلقیح شده ولوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. دامنه غلظت آنتی‌بیوتیک برای تعیین حداقل غلت بازدارنده وکشنده در حدفاصل ۰/۲۵- ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر انتخاب شد. روز بعد لوله‌ها ازنظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفته و کمترین غلظتی از آنتی‌بیوتیک که باعث مهار رشد باکتری‌ها شده بود (فقدان کدورت) به‌عنوان حداقل غلظت باز دارنده (MIC) آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شد. هم‌چنین از لوله‌های فاقد کدورت پنج میکرولیتر بر روی محیط TSB(Merck) آگار کشت داده شد و حداقل غلظتی که پس از انکوباسیون شبانه مانع تشکیل کلنی باکتری در محیط کشت جامد می‌شد، به‌عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) در نظر گرفته شد. جهت حصول اطمینان از صحت نتایج، کلیه آزمایشات سه بار تکرار گردید. بر طبق مطالعات قبلی درصورتی‌که حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک برای هرایزوله استافیلوکوکوس اورئوس کمتر یا مساوی با ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر باشد، ایزوله حساس به فسفومایسین ودر صورتی که بیشتر از این مقدار باشد ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته می‌شود (۸).

تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده اسانس Citrus aurantifolia:

رقت‌های متوالی از غلظت ۲۰درصد حجمی اسانس Citrus aurantifolia (باریج اسانس) در محیط کشت مولرهینتون براث حاوی ۰/۰۰۲درصد توین ۸۰ (Sigma-Aldrich) در هشت لوله در دامنه غلظت ۱۰٪- ۰/۰۷۸٪ حجمی از اسانس تهیه شد و هر یک از لوله‌ها با تعداد ۱/۵× ۱۰^۶ عدد باکتری تلقیح شده ولوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. با توجه به این‌که اضافه نمودن اسانس خود باعث ایجاد کدورت در محیط کشت می‌شد، لذا تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) اسانس با بررسی کدورت ممکن نشد. بنابراین از کلیه لوله‌های تحت بررسی پنج میکرولیتر بر روی محیط TSB آگار کشت داده شد و حداقل رقتی که پس از انکوباسیون شبانه مانع تشکیل کلنی باکتری در محیط کشت جامد می‌شد، به‌عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) در نظر گرفته شد. جهت حصول اطمینان از صحت نتایج، کلیه آزمایشات سه بار تکرار گردید (۸).

تعیین اثر هم‌افزایی اسانس Citrus aurantifolia و آنتی‌بیوتیک فسفومایسین:

به‌منظور بررسی اثرات سینرژیستیک فسفومایسین و اسانس Citrus aurantifolia غلظت‌های مختلفی از اسانس به محیط کشت نوترینت برات با روش رقیق‌سازی متوالی اضافه شد. سپس غلظت تحت MBC (غلظت بلافاصله کمتر از غلظتی که می‌تواند باکتری را بکشد) از فسفومایسین به کلیه لوله‌ها اضافه شد. کلیه رقت‌ها با ۱/۵× ۱۰^۶ عدد باکتری تلقیح شده و در طول شب در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از طی زمان کافی MBC آنتی‌بیوتیک در حضور اسانس با روش ذکرشده تعیین شد (۸).

یافته‌ها

جداسازی ایزوله‌های مقاوم به اگزاسیلین استافیلوکوکوس ارئوس:

ایزوله‌های مقاوم به اگزاسیلین با فراوانی بیشتر به‌ترتیب از نمونه‌های زخم (۴۷،۸درصد)، ترشحات (واژن، پستان، چشم، درون شکم) (۳۰،۴درصد) ، خون (۱۳درصد) و مایع صفاق (۸،۶درصد) به دست آمدند.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده فسفومایسین:

از ۲۳ ایزوله مقاوم به اگزاسیلین (متی‌سیلین) ۳ ایزوله (۱۳درصد) نسبت به تمامی غلظت‌های موردمطالعه از فسفومایسین حساس و ۲ ایزوله (۸/۷درصد) مقاوم بودند. میانگین حداقل غلظت بازدارنده در مورد سایر ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) با محاسبه میانگین Mean SD± برابر با ۵۲/۹ ±۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و میانگین حداقل غلظت کشنده ۴۲/۱۵±۷۶/۱۱ تعیین شد. با در نظر گرفتن اینکه حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک برای هر ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس کمتر یا مساوی با ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر باشد، ایزوله حساس به فسفومایسین و درصورتی‌که بیشتر از این مقدار باشد ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته می‌شود. بر این اساس، درمجموع ۶۹/۵درصد ایزوله‌ها (۱۶ ایزوله) مقاوم به فسفومایسین و ۳۰/۴درصد (۷ ایزوله) حساس در نظر گرفته شدند.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده اسانس Citrus aurantifolia:

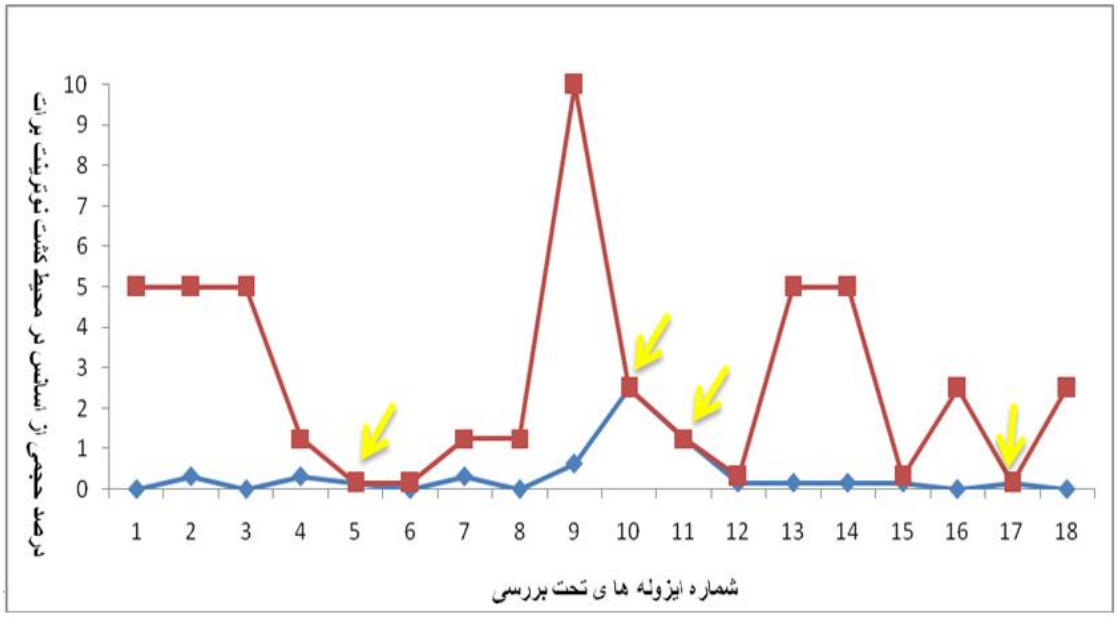
در مورد ۱۸ ایزوله مقاوم به اگزاسیلین (متی‌سیلین) که در آزمایش قبلی مقادیر MIC و MBC فسفومایسین برای آن‌ها قابل‌تعیین بود، حداقل غلظت کشنده اسانس تعیین شد. حداقل غلظت کشنده برای ۳ ایزوله ۱۰درصد نسبت حجمی/حجمی از اسانس، برای ۵ ایزوله ۵درصد ، برای ۴ ایزوله ۲/۵درصد، برای ۲

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

ایزوله ۰/۳۱۲درصد و برای ۴ ایزوله ۰/۱۵۶درصد بوده و در مورد هیچ‌یک از ایزوله‌ها ۰/۶۲۵درصد نبود. میانگین حداقل غلظت بازدارنده در مورد ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به دلیل ایجاد کدورت پس از اضافه کردن اسانس به لوله‌های آزمایش تعیین نشد. میانگین حداقل غلظت کشنده اسانس در مورد کلیه ایزوله‌ها با محاسبه SD Mean ± برابر با ۴٪±۳٪تعیین شد.

تعیین اثر هم‌افزایی اسانس Citrus aurantifolia و آنتی‌بیوتیک فسفومایسین:

از ۲۳ ایزوله مقاوم به متی‌سیلین ۵ ایزوله برای تعیین اثر سینرژیسم موردبررسی قرار نگرفتند. از ۱۸ ایزوله موردبررسی حالت سینرژیسم در ۱۴ ایزوله (۷۷درصد) مشاهده شد و در مورد ۴ ایزوله دیگر (۲۳درصد) تأثیر سینرژیتیک اسانس و دارو به اثبات نرسید (نمودار ۱).



نمودار (1): مقایسه اثرات سینرژیستیک اسانس Citrus aurantifolia در حضور غلظت‌های تحت MBC از آنتی‌بیوتیک فسفومایسن (منحنی آبی‌رنگ) در مقایسه با اثرات اسانس به‌تنهایی (منحنی قرمزرنگ) هم چنان‌که مشاهده می‌شود، در مورد ۴ ایزوله تحت مطالعه (۵ و ۱۰ و ۱۱ و ۱۷) اثرات سینرژیستیک بین اسانس و آنتی‌بیوتیک مشاهده نشد.

بحث

مطالعات قبلی تأثیر قابل‌توجه فسفومایسین را بر روی کوکسی‌های گرم مثبت از قبیل استافیلوکوکوس‌های حساس به متی‌سیلین، استرپتوکوکوس پنومونیه مقاوم به سفالوسپورین و پنی‌سیلین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و گونه‌های انتروکوکوس حتی سویه‌های مقاوم به وانکومایسین را نشان داده است (۹-۱۱). از طرفی این آنتی‌بیوتیک از راه‌های مختلف از قبیل خوراکی و تزریقی قابل تجویز بوده و علاوه بر تأثیر ضد باکتریایی، با مهار تولید سیتوکاین‌های پیش برنده التهاب اثر تنظیم‌کنندگی بر عمل کرد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها را از خود نشان می‌دهد. این آنتی‌بیوتیک پس از تجویز، به‌خوبی به بافت‌های مختلف بدن نفوذ کرده و در درمان انواع مختلفی از عفونت‌های موضعی و سیستمیک کاربرد دارد. در سال ۲۰۱۱ Shittu و همکاران و در همین سال Ching-Lan Lu و همکاران به‌ترتیب بر روی ۶۹ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس و ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین کار کردند و حساسیت تمامی آن‌ها نسبت به فسفومایسین را نشان دادند (۹،۱۰). ولی نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد که درمجموع ۶۹/۵درصد ایزوله‌ها (۱۶ ایزوله) مقاوم به فسفومایسین و ۳۰،۴درصد (۷ ایزوله) حساس بودند.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط جعفری و همکاران انجام شد ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس Citrus aurantifolia بر روی باکتری‌های بیماری‌زای منتقله از غذا موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده حضور بیش از ۵۰ ترکیب شیمیایی مختلف دراین اسانس با استفاده از روش GC-MS کروماتوگرافی بود. Alpha-terpineol و Gamma-terpinen با مقادیر بیشتری نسبت به سایر ترکیبات دراین اسانس حضور داشتند. اسانس فوق اثرات ضد باکتریایی قابل‌ملاحظه‌ای بر

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

روی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس وباسیلوس سوبتیلیس نشان داد. به‌طوری‌که با غلظت ۴ و ۸ میکروگرم در هر دیسک به‌ترتیب باعث مهار رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیدس وباسیلوس سوبتیلیس می‌شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات ضد میکروبی قابل‌توجه این اسانس بود و درنهایت استفاده از اسانس جهت پیشگیری و کاهش احتمال فساد مواد غذایی پیشنهاد شد (۱۱).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ توسط Aibinu و همکاران گزارش شد، اثرات Citrus aurantifolia در شکل‌های مختلف (آب‌میوه، اسانس و... در حلال‌های مختلف بر روی انواع مختلفی از باکتری‌ها بررسی شد. باکتری‌های بی‌هوازی و باکتری‌های گرم مثبت نسبت به کلیه ترکیبات استفاده‌شده حساس بودند، به‌طوری‌که حداقل غلظت مهارکننده رشد ترکیبات برای آن‌ها در دامنه 32mg/ml–128g/ml قرار داشت. در مورد قارچ‌ها اسانس از اثر ضد میکروبی قابل‌ملاحظه‌ای فقط بر روی آسپریژیلوس نیجر برخوردار بود و نیز کاندیدا آلبیکنس به کلیه ترکیبات تحت آزمایش حساس بود، به‌طوری‌که حداقل غلظت مهارکننده رشد ترکیبات برای آن‌ها در دامنه 256mg/ml–512mg/ml قرار داشت. حداقل غلظت مهارکننده رشد ترکیبات برای باکتری‌های گرم منفی در دامنه 64mg/ml–512mg/ml قرار داشت (۷). در مطالعه حاضر نیز اسانس Citrus aurantifolia در غلظت‌های مختلف از اثرات ضد باکتریایی بر روی کلیه ایزوله‌های تحت آزمایش برخوردار بود. ولی از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم امکان تعیین فعالیت سینرژیستیک اسانس و آنتی‌بیوتیک در مورد ایزوله‌های کاملاً مقاوم یا کاملاً حساس به آنتی‌بیوتیک فسفومایسین اشاره نمود (۵ ایزوله).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان با انجام مطالعات بیشتر و تکمیلی کاربرد همزمان این دو ترکیب را لااقل به‌عنوان مواد ضد میکروبی در فرمولاسیون ترکیبات موضعی پیشنهاد نمود.

References:

1. Baron EJ, Finegold SM. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. New York: Mosby company, St. Louis; 2007.
2. Chitsaz M. Evaluation of the rate of methicilin resistance in S.aureus strains isolated from patients and their sensitivity to antibiotics. Danshvar. 2005; 61.
3. Barbosa MD, Yang G, Fang J, Kurilla MG, Pompliano DL. Development of a whole-cell assay for peptidoglycan biosynthesis inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(4):943-6.
4. Van Heijenoort J. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. Glycobiology 2001;11(3):25R – 36R.
5. El Zoeiby A, Sanschagrin F, Levesque RC, Structure and function of the Mur enzymes: development of novel inhibitors. Mol Microbiol 2003; 47(1):1-12.
6. Kahan FM, Kahan JS, Cassidy PJ, Kropp H. The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). Ann N Y Acad Sci 1974; 235: 364–86.
7. Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of Citrus aurantifolia (Lime fruit) as used locally. Afr J Tradit Complement Altern Med 2006;4(2):185-90.
8. HosseiniJazani N, hadizadeh O, Farzaneh H, Moloudizargari M. Synergistic antibacterial effects of β-Chloro-L-alanine and phosphomycin on urinary tract isolates of E. coli. Biol J Micro 2013; 1 (4):1-6. (persian)
9. Shittu AO, Lin J. Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of Staphylococcus aureus in KwaZulu-Natal province, South Africa. BMC Infect Dis 2006; 28(6):125-9.
10. Lu CL, Liu CY, Huang UT, Liao CH, Teng LJ, Turnidge JD, Hsueh PR, Antimicrobial Susceptibilities of Commonly Encountered Bacterial Isolates to Fosfomycin Determined by Agar Dilution and Disk Diffusion Methods, Antimicrobial Agen Chem 2011;55(9): 4295–301.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

11. Jafari S, Esfahani S, Fazeli MR, Jamalifar H, Samadi M, Samadi N, et al. Antimicrobial Activity of Lime Essential Oil Against Food-borne Pathogens Isolated from Cream-filled Cakes and Pastries, Antimicrobial Activity of Lime Essential Oil Against Food-borne Pathogens Isolated from Cream-filled Cakes and Pastries. Int J Biological Chem 2011; 5: 258-65.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]

Original Article

EVALUATION OF THE SYNERGISTIC EFFECT OF PHOSPHOMYCIN AND CITRUS AURANTIFOLIA'S ESSENTIAL OIL ON METHICILIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES

Bafrin Zahedi[1], Javid Eghbal[2], Minoo Zartoshti[3], Nima Hosseini Jazani[4*]

Received: 15 Mar, 2015; Accepted: 10 May, 2015

Abstract

***Background & Aims*:** *Staphylococcus aureus* is a gram-positivecoccal bacteriumthat that can cause a range of infections. Methicillin resistance in these bacteria is often in companion with resistance to multiple antibiotics. High prevalence of these isolates can cause treatment failure. Phosphomycin is a peptidoglycan biosynthesis inhibitor that is used in treating infections caused by multi-drug resistant bacteria. The antimicrobial effects of Citrus aurantifolia's essential oil on methicillin resistant S.aureus have been shown previously. The aim of this study was to evaluate the synergistic effect of sub-MBC doses of Phosphomycin with Citrus aurantifolia's essential oil against methicillin-resistant *S.aureus*isolates.

***Materials & Methods*:** In this study, 23 clinical isolates of methicillin-resistant *S.aureus* were collected from clinical samples and these isolates were identified based on biochemical methods. Susceptibility of isolates to different antibiotics was tested by disk diffusion method. In order to determine the minimum inhibitory and bactericidal concentrations of phosphomycin and Citrus aurantifolia's essential oil, serial dilutions of antibiotic and essential oil were prepared in broth medium in concentrations ranging between 0.25-128mg/L and 0.078 -٪١٠, respectively. The amounts of minimum bactericidal concentrations for a mixture of dilutions of essential oil with sub-MIC doses of Phosphomycin were also determined.

***Results*:** Among 23 methicillin resistant isolates, 13% were sensitive to all investigated concentrations of phosphomycin and 87 % were resistant. The average amounts of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations for the other isolates were 56 ± 52.9 and 76.11±42.15 µ/ml, respectively. The average amounts of minimum bactericidal concentrations for the Citrus aurantifolia's essential oil was 3%±4%. Synergism has been shown in 77% of investigated isolates but not about other 23% of isolates.

***Conclusion*:** Due to the higher resistance of isolates tested in this study in comparison with others, it seems that there is a need for exact evaluation of susceptibility tests and *being cautious*in using of phosphomycin alone. Also regarding to the synergistic effect of phosphomycin and Citrus aurantifolia's essential oil on some methicillin resistant isolates, using the combination of them is advised as an effective antimicrobial agent.

***Keywords*:** *S.aureus*, phosphomycin, Minimum inhibitory concentration, Minimum bactericidal concentration, Citrus aurantifolia's essential oil

Address: Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Tel: +989143464234
Email: n_jazani@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(4): 333 ISSN: 1027-3727

[1]*M.Sc. Student of Microbiology, Department of Biology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran*
[2]*Assistant Professor, Department of Paramedical Sciences, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran*
[3]*Microbiology Lab Technician, Department Of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[4]*Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding author)*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2022-01-21]