

## ارزیابی اثر امواج فراصوت بر سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از محیط بیمارستان و مقایسه آنها با سویه های استاندارد

عنایت ا... کلانتر<sup>۱</sup>، افشین ملکی<sup>۲</sup>، مینا خسروی<sup>۳</sup>، سپیده محمودی<sup>۳</sup>

نویسنده مسئول: کردستان، سنندج، بلوار پاسداران، پردیس علوم پزشکی، دانشکده بهداشت، گروه بهداشت محیط [maleki43@yahoo.com](mailto:maleki43@yahoo.com)

دریافت: ۸۹/۰۲/۰۸ پذیرش: ۸۹/۰۴/۲۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس از باکتری های بیماری زای مهم هستند که طیف وسیعی از عفونت ها را ایجاد می کنند. هدف این مطالعه بررسی اثر امواج فراصوت به تنهایی و توأم با آنتی بیوتیک بر روی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک می باشد.

**روش بررسی:** این مطالعه با استفاده از یک سونوراكتور مجهز شده به یک مبدل صفحه ای ۴۲ کیلو هرتز با توان ۱۷۰ وات در مقیاس آزمایشگاهی انجام شده است. نمونه های آب از سه بیمارستان آموزشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تهیه و به روش سواب کشت داده شد. هم چنین الگوی حساسیت باکترهای مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک ها نیز بررسی شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که تمامی باکتری های مورد مطالعه تحت تاثیر امواج فراصوت کاهش غلظت داشتند و این روند کاهشی با افزایش زمان افزایش یافت.

**نتیجه گیری:** مشخص شد که سودوموناس آئروژینوزا (گرم منفی) در مقایسه با استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) نسبت به امواج فراصوت حساسترند. در ضمن کاربرد هم زمان امواج فراصوت و آموکسی سیلین موجب افزایش راندمان حذف باکتری ها در مقایسه با کاربرد مجزای امواج فراصوت گردید. هم چنین اختلاف قابل توجهی از لحاظ مقاومت در برابر امواج فراصوت بین سویه های استاندارد و سویه های به دست آمده از محیط ملاحظه نشد.

**واژگان کلیدی:** امواج فراصوت، آموکسی سیلین، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس

۱- دکترای میکروبیولوژی، دانشیار دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۲- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۳- کارشناس بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی کردستان

**مقدمه**

فاضلاب‌های بیمارستانی به خاطر وجود تعداد زیاد میکروارگانیسم‌های پاتوژن، فرصت طلب و باقی مانده‌های دارویی و آزمایشگاهی در مقایسه با سایر فاضلاب‌های شهری تهدیدی برای محیط زیست و بهداشت عمومی تلقی می‌شوند. لذا جهت تامین بهداشت جامعه و جلوگیری از آلودگی محیط زیست، این گونه فاضلاب‌ها بایستی طبق ضوابط فنی و بهداشتی جمع‌آوری و با روش مناسب تصفیه، گندزدایی و دفع شوند. با این حال به دلیل استفاده‌های بی‌رویه و نادرست انواع مواد گندزدا و ضدعفونی‌کننده و بروز سویه‌های مقاوم در این گونه مراکز، علاوه بر ایجاد مشکلات خاص از جمله عفونت‌های بیمارستانی که از معضلات بسیار مهم بهداشتی به شمار می‌آید (۱ و ۲)، مشکلاتی از لحاظ عملیات تصفیه و حصول اطمینان از پسابی سالم و عاری از عوامل میکروبی ایجاد شده است. لذا گندزدایی این نوع از فاضلاب‌ها و نگاه ویژه به روش‌های نوین و کارآمد گندزدایی همواره مورد توجه بوده است و باعث کاهش عفونت‌های بیمارستانی می‌شود. بنا بر تخمین سازمان جهانی بهداشت، روزانه از هر ۱۰ بیماری که در بیمارستان‌ها پذیرش می‌شوند، یک نفر به عفونت بیمارستانی مبتلا می‌شود و تقریباً ۱۰ درصد بیماران مبتلا جان خود را از دست می‌دهند و هزینه‌ای که این بیماران جهت درمان متحمل می‌شوند، سه برابر هزینه بیمارانی است که به عفونت بیمارستانی مبتلا نشده‌اند (۲).

در طی سال‌های اخیر کاربرد امواج فراصوت به عنوان یک فناوری کارآمد و پر قدرت در زمینه‌های مختلف علوم مهندسی محیط از جمله گندزدایی آب و فاضلاب مورد توجه قرار گرفته است. امواج فراصوت از طریق مکانیسم‌های فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی باعث غیر فعال شدن باکتری‌ها می‌گردد. در طی انفجار حباب‌ها مقدار زیادی انرژی تولید می‌شود که فشارها و گرادیان‌های فشار حاصل از آن به طریق مکانیکی باعث تضعیف و در نتیجه تخریب دیواره سلولی باکتری‌ها می‌شود. البته اثر رادیکال‌های تولیدی بر روی عوامل

بیولوژیکی نیز وجود دارد. این رادیکال‌ها به ساختار شیمیایی دیواره سلول باکتریایی حمله کرده و باعث تضعیف و تخریب دیواره سلولی می‌گردند (۳ و ۴). اما عمده‌ترین اثر برای از بین بردن عوامل بیولوژیکی، اثرات مکانیکی است که به علت انفجار حباب‌ها ایجاد می‌شود. غشای سلولی ارگانیسم‌ها در اثر شدت ایجاد شده متلاشی می‌شود. این اثرات شامل تخریب کامل یا مرگ میکروارگانیسم‌ها و موجودات زنده بزرگ‌تر و پارگی و اضمحلال غشای سلول است که موجب مرگ سلول می‌گردد (۵). از سوی دیگر کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها جدای از ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی به دلیل خواص ضد میکروبی آنها همواره مد نظر بوده است. لذا با توجه به این که امواج فراصوت و آنتی‌بیوتیک‌ها هر دو موجب از بین رفتن عوامل میکروبی می‌گردند، این احتمال وجود دارد که کاربرد توأم آنها بتواند موجب اثرات مطاعف‌گردد، به صورتی که سویه‌های مقاوم حساسیت بیش‌تری نسبت به امواج فراصوت پیدا کنند و راندمان حذف آنها افزایش یابد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثر امواج فراصوت به تنهایی و توأم با آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک که از مهم‌ترین و شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی بوده و نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان داده است، می‌باشد (۶ و ۷).

**مواد و روش‌ها**

این تحقیق یک مطالعه تجربی - کاربردی است که مقیاس آزمایشگاهی و در سال ۱۳۸۷ در دانشکده‌های بهداشت و پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام گردید. با توجه به هدف مطالعه روش کار شامل دو بخش است. در بخش اول کار بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از محیط بیمارستان انجام گردید بدین صورت که ابتدا نمونه آب از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های سنندج (بخش سوختگی، دیالیز، اتاق عمل، تعویض عضو و...) جمع‌آوری و جهت آزمایش‌های

## یافته ها

در این مطالعه کارایی امواج فراصوت بر تخریب باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس و هم چنین اثر این امواج در ثمر بخشی و ارتقای اثر آموکسی سیلین در نابودی سویه های مقاوم به این آنتی بیوتیک بررسی شده است. جدول ۱ نتایج اثر امواج فراصوت را بر روی سویه های به دست آمده از محیط و سویه های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس در طی ۱۲۰ دقیقه امواج تابی در مقابل غلظت های مختلفی از هر یک از باکتری های مورد نظر نمایش می دهد. همان گونه که از جدول مشخص است تاثیر امواج فراصوت بر کاهش تعداد سودوموناس آئروژینوزا بیش تر از استافیلوکوکوس اورئوس است. به طوری که بعد از ۱۲۰ دقیقه راندمان حذف سودوموناس آئروژینوزا ۸۲ درصد و برای استافیلوکوکوس اورئوس ۶۹ درصد حاصل شد. نکته قابل توجه دیگر اثر زمان فرآیند و غلظت باکتری در راندمان حذف می باشد. همان طور که در جدول ۱ بر می آید اثر باکتری کشی امواج فراصوت با افزایش زمان تابش افزایش یافته است به طوری که به ترتیب برای باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت اولیه  $10^8$  CFU/mL در زمان ۳۰ دقیقه فرآیند، از ۱۸/۱ درصد و ۱۵ درصد به ۶۵ درصد و ۵۶ درصد در زمان ۱۲۰ دقیقه رسیده است. با توجه به این که مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها متفاوت بوده و این مقاومت ممکن است حساسیت باکتری را در مقابل امواج فراصوت تحت الشعاع قرار دهد، مقاومت باکتری های مورد مطالعه در حضور نه آنتی بیوتیک مختلف ارزیابی شد و مشخص گردید که باکتری های مورد مطالعه نسبت به کوتریموکسازول، آمپی سیلین، آموکسی سیلین و توبرامایسین مقاومت دارند و در نهایت اثر آموکسی سیلین به همراه امواج فراصوت بررسی شد و نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل نشان داد که وقتی از آنتی بیوتیک همزمان با امواج فراصوت استفاده می شود راندمان حذف باکتری ها بیش از زمانی است که از فرایند التراسونولیز به تنهایی استفاده می گردد.

لازم (بررسی درجه حرارت، میزان کلر و تعیین pH آب و کشت) به دانشکده بهداشت و پزشکی انتقال یافت. سپس توسط لوپ بر روی محیط مک کانکی و آگار خون کشت داده شد. به منظور شناسایی میکروارگانیسم های رشد کرده روی محیط های کشت، از رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی استفاده شد (۸ و ۹). با توجه به روش های استاندارد، آزمایش اکسیداز برای باکتری های گرم منفی و آزمایش کاتالاز برای باکتری های گرم مثبت انجام شد. به منظور تشخیص جنس باکتری خانواده انتروباکتریاسه تست های افتراقی انجام گردید (۹). بعد از شناسایی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس، غلظت های  $10^2$ ،  $10^4$ ،  $10^6$  و  $10^8$  از هر کدام از باکتری ها تهیه و در زمان های مختلف (شامل ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه) و در حضور شاهد تحت تاثیر امواج فراصوت قرار گرفت. منبع تابش امواج فراصوت یک دستگاه سونوراکتور (Codyson CD - 4820, China) مجهز شده به یک مبدل صفحه ای ۴۲ کیلو هرتز با توان ۱۷۰ وات در مقیاس آزمایشگاهی بود. به منظور تعیین نوع آنتی بیوتیک مورد استفاده تست آنتی بیوگرام با استفاده از ۹ دیسک آنتی بیوتیک (شامل آمیکاسین، کوتریموکسازول، آمپی سیلین، تتراسایکلین، آموکسی سیلین، کربونیسیلین، سیپروفلاکسین، ونکومایسین و توبرامایسین) استفاده شد و در نهایت آموکسی سیلین انتخاب و با استفاده از ویال یک گرمی آن دوزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ میکروگرم از آنتی بیوتیک تهیه شد و به صورت مجزا و همراه با امواج فراصوت به مدت ۱۲۰ دقیقه اثر آن بر بقای باکتری های مورد نظر سنجیده شد. در بخش دوم ابتدا سوش های سودوموناس آئروژینوزا (PTCC ۱۰۷۴) و استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC ۱۱۱۲) از مرکز کلکسیون فارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی ایران (سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران) تهیه و طبق دستور العمل استاندارد کشت داده شد. سپس کلیه مراحل بررسی تاثیر امواج فراصوت و آنتی بیوتیک مطابق بخش اول بر روی سوش های استاندارد انجام گردید.

## بحث و نتیجه گیری

طبق جدول ۱ مشخص است که تاثیر امواج فراصوت بر کاهش تعداد سودوموناس آئروژینوزا بیش تر از استافیلوکوکوس اورئوس است. به طوری که بعد از ۱۲۰ دقیقه امواج تابی راندمان حذفی برابر ۸۲ درصد برای سودوموناس آئروژینوزا و ۶۹ درصد برای استافیلوکوکوس اورئوس ۶۹ درصد حاصل گردید.

این نتایج با یافته های ویلامیل و همکارانش به نوعی هم خوانی دارد زیرا آنها نیز مشاهده کردند که سودوموناس فلئوروسنس (باکتری گرم منفی) در مقابل امواج فراصوت خیلی حساس تر از استرپتوکوکوس ترموفیلوس (باکتری گرم مثبت) است (۱۰).

نتایج مشابه دیگری نیز در خصوص مقاومت بیش تر باکتری های گرم مثبت نسبت به امواج فراصوت توسط الایجر بیان شده است (۱۱). علت این اختلاف مربوط به ویژگی های دیواره سلولی باکتری است. باکتری های گرم مثبت معمولا دارای یک لایه متراکم، محکم و ضخیمی از لپیدوگلیسین در مقایسه با باکتری های گرم منفی هستند که مقاومت بالاتری را در مقابل امواج فراصوت در باکتری های گرم مثبت باعث می شود (۱۲). با این حال اعتقاد بر این است که اثر امواج فراصوت بر باکتری های گرم منفی و مثبت هنوز به طور کامل روشن نیست (۱۰). حتی بعضی از محققین اختلاف محسوسی را در رابطه با تاثیر امواج فراصوت بین باکتری های گرم مثبت و

جدول ۱: درصد حذف باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس توسط فرایند اولتراسونولیز تحت شرایط متفاوت غلظت و زمان فرآیند

نوع باکتری	غلظت باکتری CFU/mL	زمان تماس (دقیقه)			
		صفر	۳۰	۶۰	۹۰
سودوموناس آئروژینوزا (جدا شده از بیمارستان)	۱۰ <sup>۲</sup>	صفر	۳۵	۵۸	۷۳
	۱۰ <sup>۴</sup>	صفر	۳۲	۵۳	۶۵
	۱۰ <sup>۶</sup>	صفر	۲۲/۱	۴۰	۵۹
	۱۰ <sup>۸</sup>	صفر	۱۸/۱	۳۲	۵۵
سودوموناس آئروژینوزا (سوش استاندارد)	۱۰ <sup>۲</sup>	صفر	۳۵/۱	۶۰	۷۵
	۱۰ <sup>۴</sup>	صفر	۳۰	۵۲	۶۶
	۱۰ <sup>۶</sup>	صفر	۲۳/۱	۳۷	۵۵
	۱۰ <sup>۸</sup>	صفر	۲۰	۳۱	۵۱
استافیلوکوک اورئوس (جدا شده از بیمارستان)	۱۰ <sup>۲</sup>	صفر	۳۰	۴۵	۵۴
	۱۰ <sup>۴</sup>	صفر	۲۳/۱	۴۱	۴۹
	۱۰ <sup>۶</sup>	صفر	۱۸	۳۰	۴۷
	۱۰ <sup>۸</sup>	صفر	۱۵	۳۸	۴۳
استافیلوکوک اورئوس (سوش استاندارد)	۱۰ <sup>۲</sup>	صفر	۲۹	۴۳	۵۵
	۱۰ <sup>۴</sup>	صفر	۲۲	۳۹/۱	۴۸
	۱۰ <sup>۶</sup>	صفر	۱۹/۱	۳۰	۴۶
	۱۰ <sup>۸</sup>	صفر	۱۵/۱	۲۶	۴۱

در طی تحقیقات خود چنین روندی را مشاهده نمودند (۱۳). در هر حال رابطه مستقیم اثر زمان تماس و درصد حذف باکتری منطقی بوده و هر چقدر که زمان مواجهه عامل میکروبی با عامل باکتری کش بیش تر باشد، قطعا فرصت برای تاثیر عامل ضد میکروبی افزایش یافته و راندمان حذف بیش تر می شود. به همین ترتیب نتایج حاصل از اثر غلظت بر راندمان حذف باکتری های مورد بررسی نشان داد با کاهش غلظت باکتری، راندمان حذف افزایش می یابد. زیرا وقتی تعداد باکتری ها کم تر می شوند احتمال این که بیش تر در معرض تابش امواج فراصوت قرار گیرند، افزایش می یابد و بنابراین درصد تخریب آنها بیش تر خواهد شد. بنابراین ملاحظه می شود که با کاهش غلظت از  $10^8$  CFU/mL به  $10^2$  CFU/mL در طی ۱۲۰ دقیقه، راندمان حذف به ترتیب برای باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس از ۶۵ درصد به ۸۲ درصد و از ۵۶ درصد به ۶۹ درصد افزایش یافت. از آنجایی که این احتمال وجود دارد که مقاومت باکتریایی یک نوع باکتری در مقابل اثرات امواج فراصوت متفاوت باشد، کلیه مراحل آزمایش ها مشابه آنچه که در مورد باکتری های سودوموناس

منفی مشاهده نکردند. در این راستا اسکر با اثر امواج فراصوت را روی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی (گرم منفی) و باکتری های استافیلوکوکوس آرئوس و باسیلوس سوبتیلیس (گرم مثبت) بررسی کردند و اختلافی از لحاظ تاثیر گرم مثبت یا منفی بودن باکتری در میزان کارایی فرایند التراسونولیز مشاهده نکردند (۱۳). آنها استدلال کردند که علت اصلی تخریب باکتری ها مربوط به تاثیر امواج فراصوت بر غشای سیتوپلاسمی است و دیواره سلولی کم تر متاثر می گردد (۱۳). لذا بین باکتری های گرم مثبت و منفی اختلاف محسوسی مشاهده نمی شود.

از سایر نکات قابل استنتاج از جدول ۱ تاثیر زمان امواج تایی و غلظت باکتری در راندمان حذف می باشد و مشخص است که اثر باکتری کشی امواج فراصوت با افزایش زمان تابش افزایش یافته است به طوری که به ترتیب برای باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس آرئوس با غلظت اولیه  $10^8$  CFU/mL در زمان ۳۰ دقیقه فرایند، از ۱۸/۱ درصد و ۱۵ درصد به ۶۵ درصد و ۵۶ درصد در زمان ۱۲۰ دقیقه رسیده است. این نتایج با یافته های اسکر با مطابقت دارد، به طوری که آنها نیز

جدول ۲: درصد حذف باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس توسط فرایند اولتراسونولیز در حضور آنتی بیوتیک آموکسی سیلین (مدت فرایند ۱۲۰ دقیقه)

نوع باکتری	غلظت باکتری CFU/mL	دوز آنتی بیوتیک (میکروگرم)				
		صفر	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰
سودوموناس آئروژینوزا (جدا شده از بیمارستان)	$10^2$	۸۲	۸۶	۹۱	۹۵	۹۸
	$10^4$	۷۶	۸۱	۸۸	۹۲	۹۷
	$10^6$	۷۱	۷۹	۸۵	۸۸	۹۶
	$10^8$	۶۵	۷۹	۸۳	۸۵	۹۳
استافیلوکوک اورئوس (جدا شده از بیمارستان)	$10^2$	۶۹	۷۲	۷۸	۸۵	۹۵
	$10^4$	۶۳	۶۹	۷۵	۸۱	۸۹
	$10^6$	۵۹	۶۶	۷۱	۷۷	۸۲
	$10^8$	۵۶	۶۱	۶۵	۷۰	۷۴

آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از محیط انجام شد بر روی سوش های استاندارد باکتری های ذکر شده اجرا گردید و نتایج آن در جدول ۱ ارایه شده است. نکته قابل توجه عدم وجود اختلاف محسوس و قابل توجه در راندمان حذف باکتری بین سوش های استاندارد و سوش های محیطی است. هر چند که نوع محیطی نسبت به بعضی از آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان داده است متنها بروز این مقاومت تاثیری بر کارایی امواج فراصوت در اضمحلال باکتریایی ندارد. با توجه به این که ایجاد مقاومت یک خصوصیت ژنتیکی و مربوط به پلاسمید است (۱۴). بنابراین چنین استنباط می گردد که مکانیسم های منجر به ایجاد مقاومت دارویی یا به عبارتی دیگر مقاوم شدن باکتری تغییری در میزان حساسیت باکتری در برابر امواج فراصوت را سبب نمی شود.

با توجه به منشا ژنتیکی بروز مقاومت در باکتری ها، حساسیت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک های مختلف متفاوت است، بدین منظور مقاومت باکتری های مورد مطالعه در حضور نه آنتی بیوتیک مختلف ارزیابی شد و مشخص گردید که باکتری های مورد مطالعه نسبت به کوتریموکسازول، آمپی سیلین، آموکسی سیلین و توبرامایسین مقاومت دارند و نهایتا اثر آموکسی سیلین به همراه امواج فراصوت بررسی شد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که وقتی از آنتی بیوتیک همزمان با امواج فراصوت استفاده می شود راندمان حذف باکتری ها بیش از زمانی است که از امواج فراصوت به تنهایی استفاده می گردد که به دلیل ایجاد اثرات سینرژیکی می باشد. نتایج آزمایشات التراسونولیز بر روی سویه های استاندارد باکتری های مذکور عدم وجود اختلاف قابل توجه در راندمان حذف بین سوش های استاندارد و سوش های محیطی را نشان داد لذا مشخص شد که مقاومت باکتریایی تاثیری بر کارایی امواج فراصوت در اضمحلال باکتری ندارد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مدیریت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شده است. لذا بدین وسیله از مدیریت پژوهشی دانشگاه و کلیه عزیزانی که همکاری و مساعدت لازم را در اجرای این پروژه داشته اند، تشکر و قدردانی می شود.

آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از محیط انجام شد بر روی سوش های استاندارد باکتری های ذکر شده اجرا گردید و نتایج آن در جدول ۱ ارایه شده است. نکته قابل توجه عدم وجود اختلاف محسوس و قابل توجه در راندمان حذف باکتری بین سوش های استاندارد و سوش های محیطی است. هر چند که نوع محیطی نسبت به بعضی از آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان داده است متنها بروز این مقاومت تاثیری بر کارایی امواج فراصوت در اضمحلال باکتریایی ندارد. با توجه به این که ایجاد مقاومت یک خصوصیت ژنتیکی و مربوط به پلاسمید است (۱۴). بنابراین چنین استنباط می گردد که مکانیسم های منجر به ایجاد مقاومت دارویی یا به عبارتی دیگر مقاوم شدن باکتری تغییری در میزان حساسیت باکتری در برابر امواج فراصوت را سبب نمی شود.

با توجه به منشا ژنتیکی بروز مقاومت در باکتری ها، حساسیت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک های مختلف متفاوت است، بدین منظور مقاومت باکتری های مورد مطالعه در حضور نه آنتی بیوتیک مختلف ارزیابی شد و مشخص گردید که باکتری های مورد مطالعه نسبت به کوتریموکسازول، آمپی سیلین، آموکسی سیلین و توبرامایسین مقاومت دارند و نهایتا اثر آموکسی سیلین به همراه امواج فراصوت بررسی شد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که وقتی از آنتی بیوتیک همزمان با امواج فراصوت استفاده می شود راندمان حذف باکتری ها بیش از زمانی است که از فرایند التراسونولیز به تنهایی استفاده می گردد (جدول ۲). که علت آن افزایش انتشار آنتی بیوتیک از لایه لیپوساکاریدی دیواره سلولی و نفوذ به درون سلول در مواجهه با امواج فراصوت بیان شده است. نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است به طوری که جانسن اثر ترکیبی امواج فراصوت با فرکانس ۷۰ کیلوهرتز را به همراه آنتی بیوتیک جنتامایسین جهت کاهش اثرشیاکلی بررسی کرد و در مدت ۲ ساعت ۹۷ درصد کاهش در تعداد باکتری را مشاهده نمود (۱۵). در مطالعه ای دیگر ردیسک افزایش میزان مرگ و میر باکتری

### منابع

- Weinstein RA. Hospital acquired infections, In: Harrison principles of internal medicine. 16th ed. New York: McGraw Hill; 2005.
- Eriksen HM, Iversen BG, Aavitsland P. Prevalence of nosocomial infections in hospital in Norway 2002 and 2003. *Journal of Hospital Infection*. 2005;60:40-45.
- Mason TJ, Joyce E, Phull SS, Lorimer JP. Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2003;10:319-23.
- Mason TJ, Phull SS. Uses of ultrasound in the biological decontamination of water. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2002;10:234-39.
- Phull SS, Newman AP, Lorimer JP, Pollet B, Mason TJ. The development and Evaluation of ultrasound in the Biological treatment of water. *Ultrasonics Sonochemistry*. 1997;4:157-64.
- Delissalde F, Carlos F. Comparison of antibiotic susceptibility and plasmid content, between biofilm producing and non producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2004;24:405-408.
- Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997;10:505-20.
- Baron J, Finglode S. Methods for identification of etiologic agents of infectious diseases. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, editors. *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*. 10th ed. New York: Mosby Inc; 1996.
- APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington DC: APHA; 2005.
- Villamiel M, De Jong P. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in trypticase soy broth and total bacteria in milk by continuous flow ultrasonic treatment and conventional heating. *Journal of Food Engineering*. 2000;45:171-79.
- Alliger H. Ultrasonic disruption. *American Laboratory*. 1975;10:75-85.
- Piyasena P, Mohareb E, McKellar RC. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;87:207-16.
- Scherba G, Weigel RM, O'Brien WD. Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*. 1991;57 (7):2079-84.
- Todar K. Bacterial resistance to antibiotics. 2008 [cited 15 Dec 2009]. Available from: <http://www.textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html>.
- Johnson LL, Peterson RV, Pitt WG. Treatment of bacterial biofilms on polymeric biomaterials using antibiotics and ultrasound. *Journal of Biomaterials Science*. 1998;9(11):1177-85.
- Rediske AM, Rapoport N, Pitt WG. Reducing bacterial resistance to antibiotics with ultrasound. *Letters in Applied Microbiology*. 1999;28(1):81-84.
- Mason TJ. Developments in ultrasound-Non-medical. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2007;93:166-75.

## **Evaluation of Ultrasound Waves Effect on Antibiotic Resistance *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus* Isolated from Hospital and their Comparison with Standard Species**

**Kalantar E. <sup>1</sup>, \*Maleki A. <sup>2</sup>, Khosravi M. <sup>2</sup>, Mahmodi S. <sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Kurdistan, Iran

<sup>2</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Kurdistan, Iran

Received; 28 April 2010 Accepted; 19 July 2010

### **ABSTRACT**

**Backgrounds Aand Objectives:** *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* are important pathogens that produce widespread infections. Purpose of this study was to evaluate the antimicrobial effect of ultrasonic irradiation (US) alone and in combination with antibiotic on antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

**Materials and Methods:** In this study ultrasonic irradiation (US) in a laboratory-scale batch sonoreactor with low frequency (42 kHz) plate type transducer at 170 W of acoustic power was used. The Water samples, were taken from different wards of the 3 teaching hospitals which were affiliated to the Kurdistan University of Medical Sciences to isolate *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* and also to determine their antimicrobial susceptibility pattern.

**Results:** Our results showed that *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were affected by the ultrasound and the bactericidal effect increased with time.

**Conclusion:** It was found that *P. aeruginosa* was more susceptible to the ultrasonic treatment than *S. aureus*. The combination of US with an antibiotic (amoxicillin) enhanced killing of both bacteria over the use of US alone. There were no differences in resistance to ultrasound between isolated strains and standard strains from persian type culture collection.

**Key words:** Ultrasonic waves, Amoxicillin, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

---

**\*Corresponding Author:** *maleki43@yahoo.com*

**Tel:** +98 871 6626969 **Fax:** +98 871 6626969