

مقایسه اثربخشی ضد عفونی کننده‌ها بر روی باکتری‌های سودوموناس آیروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و انتروباکتر آیروژینوزا در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه

فهیم امینی^۱، مسعود یونسیان^۲، محمد هادی دهقانی^۳، نیما حسینی جزنی^۴، رامین نبی زاده نودهی^۵، معصومه مقدم ارجمند^۶
نویسنده مسئول: تهران، میدان انقلاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه بهداشت محیط dehghanihadi@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۰۵/۲۳ پذیرش: ۹۰/۰۸/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: عفونت بیمارستانی از علل مرگ‌ومیر، ناخوشی، اتلاف هزینه‌ها و افزایش مدت اقامت بیماران در بیمارستان‌هاست. استفاده صحیح و اصولی از ضد عفونی کننده‌ها و گندزداها نقش مهمی در کاهش این عفونت‌ها دارند. در مطالعه حاضر اثربخشی ضد عفونی کننده‌ها بر روی باکتری‌های مسئول عفونت‌های بیمارستانی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه در مقیاس آزمایشگاهی در محیط بیمارستان امام خمینی ارومیه انجام شد. در این مطالعه اثر ضد میکروبی ضد عفونی کننده‌های دسکوسید، کورسولکس بیسیک، میکروباک فورت و پرسیدین ۱٪ بر روی باکتری‌های عامل عفونت بیمارستانی از قبیل انتروباکتر آیروژینوزا (NCTC 1006) 1221، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (PTCC:1435(Cip81.55) و سودوموناس آیروژینوزا سویه PAOI، مورد بررسی قرار گرفتند. حساسیت باکتری‌ها از طریق حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ماده ضد عفونی کننده تعیین گردید. در مرحله بعد غلظت ضد عفونی کننده‌ها طبق پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده آماده و اثر ضد میکروبی مواد نام برده در غلظت‌ها و زمان‌های مشخص مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: دسکوسید، میکروباک فورت و کورسولکس بیسیک در تمام غلظت‌های پیشنهادی اثر مهارکنندگی خوبی بر روی باکتری‌های انتروباکتر آیروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سودوموناس آیروژینوزا داشته است که از این جهت با دستورالعمل شرکت سازنده مطابقت دارد. ولی پرسیدین ۱٪ در رقت مصرفی (V/V) ۲ و ۴ درصد و زمان تماس ۵ دقیقه نتوانست رشد این باکتری‌ها را مهار نماید. بنابراین ادعای شرکت سازنده را رد می‌کند. ولی در غلظت ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب با زمان تماس ۱۵ و ۳۰ دقیقه رشد هر سه نوع باکتری را مهار نموده که با ادعای شرکت سازنده مطابقت دارد.

نتیجه گیری: در این مطالعه قدرت مواد ضد عفونی کننده با روش Micro-dilution توصیه شده توسط NCCLS تعیین گردید. ضعیف‌ترین ضد عفونی کننده (بالاترین MIC) جهت مهار هر سه باکتری کورسولکس بیسیک تعیین شد. ولی براساس پروتکل شرکت سازنده در بین هر ۴ ماده ضد عفونی کننده فقط پرسیدین ۱٪ در رقت مصرفی ۲ و ۴ درصد و زمان تماس ۵ دقیقه (براساس غلظت‌های سازنده) نتوانست رشد انتروباکتر آیروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سودوموناس آیروژینوزا را مهار نماید.

واژگان کلیدی: ضد عفونی کننده، بیمارستان، انتروباکتر آیروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سودوموناس آیروژینوزا

- ۱- کارشناس ارشد بهداشت محیط، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۲- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۳- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۴- دکترای میکروبیولوژی، دانشیار دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۵- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۶- کارشناس ارشد بهداشت محیط، مربی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه

امروزه عفونت‌های بیمارستانی به عنوان یک مشکل عمده جهانی مطرح هستند. به طور کلی میزان شیوع عفونت‌های بیمارستانی بسته به نوع بیمار، نوع عمل جراحی و استفاده از دستگاه‌های مختلف جراحی بین ۹/۹ - ۳/۵٪ تخمین زده شده است (۳-۱). عفونت‌های بیمارستانی به عنوان عفونت کسب شده در بیمارستان یا عفونت‌های مرتبط با بیمارستان نیز مطرح هستند و شامل عفونت‌هایی می‌شوند که در هنگام پذیرش بیمار در بیمارستان وجود نداشته بلکه در طول دوره اقامت بیمار در بیمارستان به وجود آمده است. در یک مرکز بهداشتی و درمانی، منابع عفونت ممکن است پرسنل، بیماران و یا محیط بی‌جان باشد. بنابراین عوامل بیماری‌زا قادر خواهند بود از این منابع و از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم به یک میزبان جدید منتقل شوند (۴ و ۵). هدف اصلی از به‌کارگیری گندزداها و ضد عفونی کننده‌ها در محیط‌های بیمارستانی، کاهش خطر ابتلا به عفونت‌های بیمارستانی است (۶ و ۷). چون محیط بیمارستان به عنوان مخزنی برای پاتوژن‌های بیمارستانی است و به احتمال زیاد بروز بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی به علت استفاده نامناسب و ناکافی از مواد گندزدا و ضد عفونی کننده است (۷ و ۸).

عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان از علل مهم مرگ‌ومیر هستند. نشان داده شده است که بهداشت محیط و شیوه‌های مناسب گندزدایی می‌تواند در کنترل عفونت بیمارستانی موثر باشد. زمانی که سطوح محیطی و وسایل پزشکی و جراحی می‌تواند به عنوان منابع عفونت‌زا برای میزبان حساس در بیمارستان مطرح باشد، باید در انتخاب، به کارگیری و کنترل اثربخشی مواد ضد عفونی کننده تاکید نمود (۹ و ۱۰). با توجه به اهمیت ضد عفونی نمودن در پیش‌گیری از عفونت‌های بیمارستانی، گاهی این شرکت‌ها در معرفی محصولات خود اغراق نموده و باعث می‌شود که کارشناسان بهداشت محیط بیمارستان‌ها بسته به نوع محصول و سطوح گندزدایی آن، بدون آزمایش این محصولات را به عنوان استریل کننده‌های سرد

برای استریل تجهیزات پزشکی خیلی حساس (آندوسکوپ‌ها، برونکوسکوپ‌ها و لاپاراسکوپ‌ها و ...) که با بافت‌های استریل بدن تماس دارند به کار ببرند. اگر این محصولات کارایی و اثربخشی توصیه شده که در دستورالعمل شرکت سازنده به آن اشاره می‌شود را نداشته باشند، زیان‌های جبران‌ناپذیری متوجه بیمار و پرسنل بیمارستان خواهد شد (۱۳-۱۰). در سال ۱۳۸۵ یوسفی مشعوف و همکاران در بیمارستان‌های آموزشی همدان در خصوص میزان اثربخشی ضد عفونی کننده‌های رایج بر روی استافیلوکوک اپیدرمیس و پseudomonas آیروزینوزا به این نتیجه رسیدند که در بین مواد گندزدا و ضد عفونی کننده‌های رایج (سایدکس، هیپوکلرید سدیم، کریولین ۲/۵ درصد، هایژن ۱ درصد، بتادین، اتانول ۷۰ درصد، ساولون ۳/۲ درصد، کلرهگزیدین ۱ درصد)، کریولین و سایدکس از موثرترین ترکیبات هستند (۱۴). لاکتیک‌اوا و همکاران در سال ۲۰۰۵ در خصوص اثربخشی پروکسید و پداکس (Pedox) بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی کار تحقیقاتی انجام دادند. این آزمایش که به صورت رقیق‌سازی انجام شد نشان داد که پروکسید و پداکس در غلظت‌های ۰/۱ درصد و ۲ درصد و زمان تماس ۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر روی باکتری‌های فوق موثراند (۱۵).

به خاطر عدم توجه به استانداردها و دستورالعمل‌های لازم برای بعضی فاکتورها، از قبیل معیارهای استفاده از مواد شیمیایی، مشخصات برجسب‌های محصولات موجود و کمبود پرسنل آموزش دیده باعث پیدا شدن سویه‌های باکتریایی مقاوم در برابر ضد عفونی کننده‌ها شده است (۱۶). بنابراین با توجه به اهمیت استفاده مناسب و به جا از این ترکیبات در بخش‌های مختلف بیمارستانی و مطابق با استانداردهای موجود به منظور پیشگیری از عفونت‌ها، این مطالعه در بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه انجام گردید. در مطالعه حاضر اثر ضد باکتریایی چهار ضد عفونی کننده دسکوسید، میکروباک فورت، کورسولکس بیسیک و پرسیدین ۱٪ که توسط چند

انجام آزمایش‌های بعدی در محیط اسکیمدمیلک گلیسرول دار در منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جنس این باکتری همان باکتری‌هایی است که در کاتالوگ شرکت سازنده به آنها اشاره شده است. مواد ضد عفونی‌کننده‌ای که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند، عبارتند از: کورسولکس بیسیک (Korsolex basic)، میکروباک فورت (Mikrobac forte)، پرسیدین ۱٪ (Percidine 1%) و دسکوسید (Descocid) هستند که ترکیبات موثر این مواد در جدول ۱ نشان داده شده است:

در حال حاضر در اروپا و حتی در سایر نقاط جهان هماهنگی لازم در خصوص ارزیابی و آزمایش‌گندزداها و ضد عفونی‌کننده‌ها وجود ندارد و از تکنیک‌های بسیار متفاوت برای ارزیابی استفاده می‌شود (۱۷). در پرورش‌های شرکت سازنده، اشاره‌ای به نوع آزمایش‌ها مربوط به بررسی قدرت اثر بخشی گندزداها و ضد عفونی‌کننده‌ها نشده است. بنابراین در این مطالعه مطابق استانداردهای موجود، تعیین حساسیت باکتری‌های جداسازی شده نسبت به مواد ضد عفونی‌کننده فوق با روش اصلاح شده میکرو دیلوشن (Micro Dilution) توصیه شده توسط National Clinical Committee Laboratory Standards (NCCLS) و از طریق تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration) ماده ضد میکروبی صورت گرفت.

طریقه تهیه دانسیته باکتری

تعداد چند کلنی (۵-۳ کلنی) خالص توسط سوآب استریل از یک پلیت حاوی کشت تازه باکتری انتخاب شدند. کلنی‌ها به یک لوله محتوی ۴-۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی منتقل گردیدند هنگام حل شدن این کلنی‌ها در داخل محلول سرم فیزیولوژی کدورت ایجاد می‌شود و از طریق مقایسه کدورت ایجاد شده و مقایسه چشمی آن با کدورت استاندارد نیم مک فارلند دانسیته باکتری تعیین شد (مطابق شکل ۱). در صورت کدر بودن لوله حاوی کلنی باکتری نسبت به لوله استاندارد، سرم فیزیولوژی و

شرکت برای استفاده در این بیمارستان عرضه می‌گردد، مورد بررسی قرار گرفته و نیز اثرات آنها از جهت تاثیر بر روی انتروباکتر آیروژینوزا، 1221(NCTC 10006) استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (PTCC:1435(Cip81.55) و سودوموناس آیروژینوزا سویه PAO1 مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر که از نوع کاربردی و تحلیلی-توصیفی است در سال ۱۳۸۹ در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام گردید. ۶۹۶ نمونه در این آزمایشگاه مورد آزمایش قرار گرفتند.

طریقه پیدا کردن حجم نمونه:

۱. مطابق حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) ماده گندزدا:

۶۰۰ نمونه = تعداد ضد عفونی‌کننده (۴) × تعداد باکتری (۳) × نمونه یا تعداد رقت (۲۵) × دوبرار تکرار

۲. مطابق کاتالوگ شرکت سازنده:

تعداد غلظت پیشنهادی شرکت سازنده هر ماده ضد عفونی‌کننده × تعداد باکتری مورد مطالعه × ۲ بار تکرار

• میکروباک فوت (۴ غلظت توسط شرکت سازنده پیشنهاد شده است).

• کورسولکس بیسیک (۳ غلظت توسط شرکت سازنده پیشنهاد شده است).

• پرسیدین ۱٪ (۴ غلظت توسط شرکت سازنده پیشنهاد شده است).

• دسکوسید (۵ غلظت توسط شرکت سازنده پیشنهاد شده است).

محیط کشت‌های مصرف شده مولر هیتتون آگار، مولر هیتتون برات و اسکیمدمیلک گلیسرول بوده که از شرکت مرک تهیه و نمونه سوش‌های استاندارد به صورت آمپول‌های لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه گردید. ایزوله‌های استاندارد از گونه‌های باکتری‌ها پس از احیا تا زمان

جدول ۱: مواد ضدعفونی‌کننده مورد مطالعه و ترکیبات موثر آنها

| ترکیبات موثر | ماده ضدعفونی‌کننده |
|--|--------------------|
| بنزالکونیم کلراید، لاریل آمین دی پروپیلن دی آمین | میکروباک فوت |
| گلوتار آلدئید، دی متانول (اتیلن دی اکسی) | کورسولکس بیسیک |
| پراستیک اسید، هیدروژن پروکساید و دیگر ترکیبات با اثر سینرژیک | پرسیدین ۱٪ |
| کواتس (QACs)، اسید فرمیک و اسید بنزویک | دسکوسید |

در صورت شفاف بودن، کلنی باکتری به آن اضافه گردید. بعد از مساوی شدن کدورت هر دو لوله (مشاهده از طریق مقایسه چشمی) در این حالت ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده که حاوی سرم فیزیولوژی و کلنی باکتری است، دارای $10^8 \times 1/5$ CFU/mL دانسیته باکتری است.

تهیه رقت‌های ماده ضدعفونی‌کننده ابتدا ۲۵ لوله استریل شماره‌گذاری شد و با سمپلر ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون براث (این محیط کشت به صورت مایع است) به تمام لوله‌ها منتقل شد. در مرحله دوم ۱ میلی‌لیتر ماده ضدعفونی‌کننده خالص (بدون رقیق شدن) به لوله اول ریخته شد. در این حالت حجم لوله شماره ۱، دو میلی‌لیتر شد (۱ mL محیط براث + ۱ mL ضدعفونی‌کننده) و غلظت ضدعفونی‌کننده در لوله اول ۵۰٪ شد. برای تهیه رقت‌های سری مطابق شکل ۲، ۱ میلی‌لیتر از محتویات لوله اول را پس از مخلوط شدن کامل، به لوله شماره ۲ منتقل (غلظت در لوله دو ۲۵٪ شد) و دوباره از لوله ۲، ۱ میلی‌لیتر به لوله ۳ (غلظت ۱۲/۵٪) منتقل گردید (شکل ۴) و به همین روش تا لوله شماره ۲۴ (غلظت $10^{-5} \times 0/59$) ادامه داده شد و از لوله شماره ۲۴ یک میلی‌لیتر دور ریخته شده و به لوله شماره ۲۵ ضدعفونی‌کننده وارد نشد و به عنوان لوله کنترل یا شاهد لحاظ گردید. در مرحله سوم چون مطابق استاندارد NCCLS، $10^6 \times 1/5$ CFU/mL دانسیته باکتری برای هر یک از لوله‌ها لازم است بنابراین به تمام ۲۵ لوله آزمایش، مقدار ۱۰ میکرولیتر (معادل $10^6 \times 1/5$ CFU/mL) دانسیته باکتری تلقیح شده و سپس در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اتوگذاری گردیدند. در شکل ۳ تعیین MIC به روش ماکرو از طریق مقایسه چشمی نشان داده شده است.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC)

روز بعد لوله‌ها به طور چشمی از نظر کدورت مورد بررسی قرار گرفتند و بالاترین رقت لوله‌ای که باعث مهار رشد باکتری‌ها شود به عنوان حداقل غلظت مهارکننده (MIC) در نظر گرفته شد. این آزمایش با مشاهده کدورت لوله‌ها تعیین می‌شود یعنی اولین لوله شفاف قبل از لوله‌های حاوی کدورت، به عنوان (MIC) در نظر گرفته می‌شود.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

در مرحله بعد از کلیه لوله‌ها (فاقد کدورت و دارای کدورت)

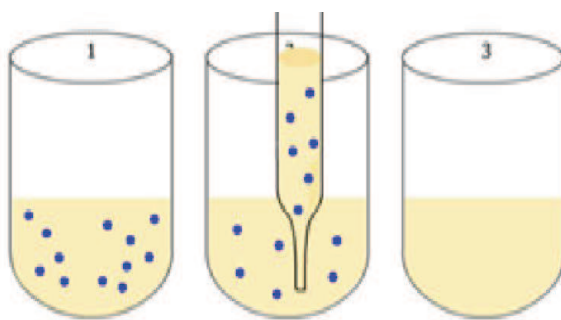
در صورت شفاف بودن، کلنی باکتری به آن اضافه گردید. بعد از مساوی شدن کدورت هر دو لوله (مشاهده از طریق مقایسه چشمی) در این حالت ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده که حاوی سرم فیزیولوژی و کلنی باکتری است، دارای $10^8 \times 1/5$ CFU/mL دانسیته باکتری است.

تهیه رقت‌های ماده ضدعفونی‌کننده

ابتدا ۲۵ لوله استریل شماره‌گذاری شد و با سمپلر ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون براث (این محیط کشت به صورت مایع است) به تمام لوله‌ها منتقل شد. در مرحله دوم ۱ میلی‌لیتر ماده ضدعفونی‌کننده خالص (بدون رقیق شدن) به لوله اول ریخته شد. در این حالت حجم لوله شماره ۱، دو میلی‌لیتر شد (۱ mL محیط براث + ۱ mL ضدعفونی‌کننده) و غلظت ضدعفونی‌کننده در لوله اول ۵۰٪ شد. برای تهیه رقت‌های سری مطابق شکل ۲، ۱ میلی‌لیتر از محتویات لوله اول را پس از مخلوط شدن کامل، به لوله شماره ۲ منتقل (غلظت در لوله دو ۲۵٪ شد) و دوباره از لوله ۲، ۱ میلی‌لیتر به لوله ۳ (غلظت ۱۲/۵٪) منتقل گردید (شکل ۴) و به همین روش تا لوله شماره ۲۴ (غلظت $10^{-5} \times 0/59$) ادامه داده شد و از لوله شماره ۲۴ یک



شکل ۱: مقایسه کدورت ۰/۵ تا ۳ مک فارلند



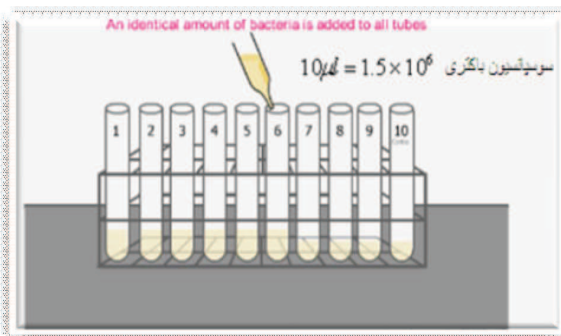
شکل ۲: نحوه رقیق سازی سری مواد ضد عفونی کننده

به ترتیب (۳-۵، ۳-۵ و ۲۰ و ۱۵) دقیقه، برای دسکوسید غلظت مصرفی (۳، ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵) درصد و مدت زمان مجاورت به ترتیب (۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۲۴۰) دقیقه، برای میکروباک فورت غلظت مصرفی (۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵) درصد، زمان تماس به ترتیب (۵، ۳۰، ۶۰ و ۲۴۰) دقیقه و برای کورسولکس بیسیک غلظت‌های (۲، ۳، ۴) درصد تماس به ترتیب ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه، تهیه و مورد بررسی قرار گرفتند.

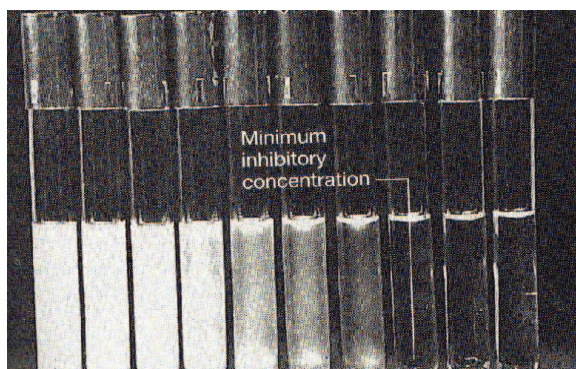
هنگام آزمایش برای تهیه غلظت ۰/۵ مک فارلند باکتری، مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (معادل $10^6 \times 1/5$ CFU/mL) را توسط سمپلر به لوله‌های استریل محتوی ۱ میلی لیتر محیط مولر هیتون برات (که قبلاً غلظت خواسته شده مواد ضد عفونی کننده مطابق پروتکل شرکت سازنده به این لوله اعمال گردیده است) منتقل گردیدند. پس از سپری شدن زمان تاثیر ماده ضد عفونی کننده (مطابق دستورالعمل شرکت سازنده)، یک لوپ از محتویات داخل لوله به محیط مولر هیتون آگار کشت

مقدار ۵ میکرولیتر نمونه بر روی محیط مولر هیتون آگار کشت مجدد شده و اگر پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه $99/9\%$ باکتری‌ها رشد نمودند (یعنی عدم رشد یا رشد کمتر از ۱۵ کلنی) آن رقت به عنوان حداقل رقت کشنده (MBC) در نظر گرفته می‌شود. باید به این نکته توجه داشته باشیم (MBC) قبل از لوله (MIC) است. اگر تعداد کلنی تشکیل شده، در لوله‌ای که به عنوان (MIC) تعیین شده است بیشتر از ۱۵ کلنی باشد، آن لوله به عنوان MBC لحاظ نمی‌شود و لوله قبل از آن به عنوان MBC لحاظ می‌گردد ولی اگر تعداد کلنی کمتر از ۱۵ شد لوله‌ای که به عنوان (MIC) در نظر گرفته شده است به عنوان MBC نیز لحاظ می‌گردد (۱۲-۱۴).

در شکل ۴، MBC به روش ماکرو نشان داده شده است. در بررسی دوم رقت‌ها مطابق دستورالعمل شرکت سازنده توسط سرم فیزیولوژی یا آب مقطر استریل برای پرسیدین ۱٪ رقت مصرفی (۲، ۴، ۱۰ و ۲۰) درصد و مدت زمان مجاورت



شکل ۳: اضافه نمودن ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری به لوله‌ها



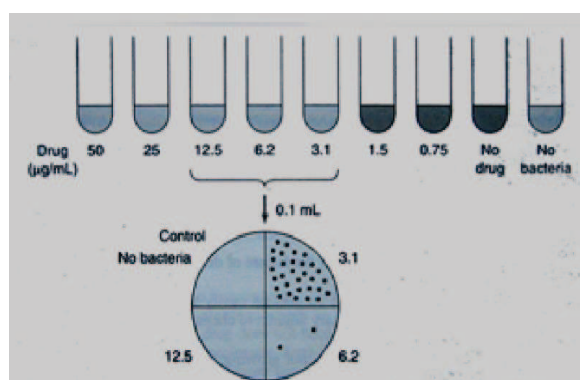
شکل ۴: روش تعیین MIC به روش ماکرو از طریق مقایسه چشمی

یافته‌ها

در مرحله اول تحقیق (MIC) و (MBC) ضد عفونی کننده‌ها بر روی باکتری‌های مورد آزمایش به صورت زیر است.

– **دسکوسید:** در تعیین MIC دسکوسید بر روی سودوموناس آیروژینوزا سویه PAO1 چون کدورت از لوله ۱۹ شروع شد. بنابراین لوله قبل آن یعنی لوله ۱۸ با غلظت $(3.8 \times 10^{-5} (V/V) \%)$ آن به عنوان MIC لحاظ شد و چون تعداد کلنی کمتر از ۱۵ شد. بنابراین $MBC=MIC$ در نظر گرفته شد. در خصوص انتروباکترآیروژینوزا (NCTC10006) (1221) ملاحظه شد که کدورت از لوله شماره ۲۱ با غلظت $(0.000047 (V/V) \%)$ شروع شده است. لوله قبل از لوله شماره ۲۱ یعنی لوله شماره ۲۰ با غلظت $(0.000095 (V/V) \%)$ درصد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) دسکوسید در نظر گرفته شد. با بررسی

مجدد شدند. این پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و نتایج آن روز بعد مورد بررسی قرار گرفتند. به طور کلی هرگاه مقادیر مربوط به MIC و MBC عدد کوچکی باشند به معنای آن است که ماده ضد عفونی کننده به شدت موثر است و بالا رفتن این دو کمیت به معنای آنست که باکتری مورد نظر نسبت به ماده ضد عفونی کننده در حال مقاوم شدن هستند، زیرا در این حالت مقدار بیشتری از ماده ضد عفونی کننده لازم است تا باکتری را بکشد. کلیه آزمایش‌ها براساس روش‌های ارایه شده در منابع معتبر علمی انجام گردید (۲۰-۱۷).



شکل ۵: تعیین MBC به روش ماکرو

بحث

برای انتروباکتر آیروژینوزا (NCTC10006) 1221 کدورت از لوله شماره ۱۷ با غلظت $(V/V) 0/000076$ شروع شد. لوله قبل از آن یعنی لوله شماره ۱۶ با غلظت $(V/V) 0/000152$ به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) میکروباک فورت در نظر گرفته شد و تعیین گردید که MBC با MIC برابر است. برای استافیلوکوک اپیدرمیدیس (PTCC:1435(Cip81.55) در لوله شماره ۲۴ نیز بر روی محیط کشت آگار رشدی مشاهده نگردید بنابراین MIC و MBC تعیین نشد.

- **کورسولکس بیسیک:** برای باکتری سودوموناس آیروژینوزا PAO1 کدورت از لوله ۱۲ شروع شد بنابراین MIC برابر غلظت لوله ۱۱ با غلظت $(V/V) 0/049$ درصد است. چون تعداد کلنی تشکیل شده در لوله ۱۱ کمتر از ۱۵ کلنی است. بنابراین $MBC=MI$ است. برای انتروباکتر آیروژینوزا (NCTC10006) در بررسی لوله‌هایی که به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند، ملاحظه شد، کدورت از لوله شماره ۱۴ با غلظت $(V/V) 0/00610$ درصد شروع شده است. لوله قبل از آن که لوله شماره ۱۳ با غلظت $(V/V) 0/01220$ درصد به عنوان حداقل غلظت، غلظت مهارکنندگی (MIC) کورسولکس بیسیک در نظر گرفته شد. با بررسی پلیت‌ها مشخص شد حداقل غلظت کشندگی (MBC) لوله شماره ۱۳ با غلظت ضد عفونی کننده $(V/V) 0/01220$ درصد است (تعداد کلنی کمتر از ۱۵ عدد) بنابراین مقادیر مربوط به MBC با MIC برابر است.

برای استافیلوکوک اپیدرمیدیس (PTCC:1435(Cip81.55) کدورت از لوله شماره ۱۸ با غلظت $(V/V) 0/000038$ شروع شده است. لوله قبل از آن یعنی لوله شماره ۱۷ با غلظت $(V/V) 0/000076$ درصد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) کورسولکس بیسیک در نظر گرفته شد. با بررسی پلیت‌ها مشخص شد حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای کورسولکس بیسیک، لوله شماره ۱۷ با غلظت ضد عفونی کننده $(V/V) 0/000076$ درصد است (تعداد کلنی کمتر از ۱۵ عدد)

پلیت‌ها مشخص شد حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای دسکوسید لوله شماره ۲۰ با غلظت گندزدا $(V/V) 0/000095$ درصد است (تعداد کلنی کمتر از ۱۵ عدد) بنابراین مقادیر مربوط به MBC با MIC برابر است. برای استافیلوکوک اپیدرمیدیس (PTCC:1435(Cip81.55) در لوله شماره ۲۴ کدورتی در لوله‌ها مشاهده نشد و رشدی نیز بر روی محیط کشت آگار مشاهده نگردید بنابراین MIC و MBC تعیین نشد.

- **پرسیدین ۱٪:** برای باکتری سودوموناس آیروژینوزا PAO1 کدورت از لوله ۱۹ شروع شد بنابراین MIC برابر غلظت لوله ۱۸ $(V/V) 38 \times 10^{-5}$ درصد است. چون تعداد کلنی تشکیل شده در لوله ۱۸ کمتر از ۱۵ کلنی است. بنابراین $MBC=MIC$ است.

برای انتروباکتر 1221(NCTC10006) کدورت از لوله شماره ۲۰ با غلظت $(V/V) 0/000095$ شروع شده است. لوله قبل از لوله شماره ۲۰ که لوله شماره ۱۹ با غلظت $(V/V) 0/00019$ درصد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) پرسیدین ۱٪ در نظر گرفته شد. با بررسی پلیت‌ها مشخص شد حداقل غلظت، غلظت کشندگی (MBC) برای پرسیدین ۱٪، لوله شماره ۱۹ با غلظت ضد عفونی کننده $(V/V) 0/00019$ درصد است. (تعداد کلنی کمتر از ۱۵ عدد) بنابراین مقادیر مربوط به MBC با MIC برابر است. در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس لوله قبل از لوله شماره ۲۱ یعنی لوله شماره ۲۰ با غلظت $(V/V) 0/000095$ درصد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی MIC دسکوسید در نظر گرفته شد و مقادیر مربوط به MBC با MIC برابر گردید.

- **میکروباک فورت:** برای باکتری سودوموناس آیروژینوزا PAO1 کدورت از لوله ۱۶ با غلظت $(V/V) 0/0015$ شروع شد بنابراین MIC برابر غلظت لوله ۱۵ با غلظت $(V/V) 0/00305$ درصد شد. چون تعداد کلنی تشکیل شده در لوله شماره ۱۵ کمتر از ۱۵ کلنی تعیین گردید، بنابراین $MBC=MIC$ شد.

جدول ۲: مقادیر MIC و MBC برای مواد ضد عفونی کننده مورد مطالعه

| ضد عفونی کننده‌ها | سودوموناس آیروژینوزا PAO1 | | انتروباکتر آیروژینوزا 1221(NCTC10006) | | ستافیلوکوکوس اپیدرمیدیس PTCC:1435 | |
|-------------------|------------------------------|------------------------|--|-----------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| پرسیدین ۱٪ | 38×10^{-5} | 38×10^{-5} | 19×10^{-5} | 19×10^{-5} | $9/5 \times 10^{-5}$ | $9/5 \times 10^{-5}$ |
| دسکوسید | 38×10^{-5} | 38×10^{-5} | $9/5 \times 10^{-5}$ | $9/5 \times 10^{-5}$ | - | - |
| میکروباک فورت | 30.5×10^{-5} | 30.5×10^{-5} | 152×10^{-5} | 152×10^{-5} | - | - |
| کورسولکس بیسیک | 40.48×10^{-5} | 40.48×10^{-5} | 1220×10^{-5} | 1220×10^{-5} | 76×10^{-5} | 76×10^{-5} |

نتیجه گیری

نتیجه بدست آمده از این مطالعه نشان داد که ضعیف‌ترین ضد عفونی کننده (بالاترین MIC) جهت مهار سودوموناس کورسولکس بیسیک و موثرترین ضد عفونی کننده در این خصوص پرسیدین ۱٪ و دسکوسید شد. موثرترین ضد عفونی کننده جهت مهار استافیلوکوکوس میکروباک فورت و دسکوسید و ضعیف‌ترین ضد عفونی کننده (بالاترین MIC) کورسولکس بیسیک است. در خصوص انتروباکتر آیروژینوزا ضعیف‌ترین ضد عفونی کننده (بالاترین MIC) کورسولکس بیسیک شد و موثرترین عفونی کننده جهت مهار انتروباکتر دسکوسید و پرسیدین ۱٪ شد. براساس پروتکل شرکت سازنده براساس نتایج جدول ۳ در بین هر ۴ ماده ضد عفونی کننده فقط پرسیدین ۱٪ در رقت مصرفی ۲ و ۴ درصد و زمان تماس ۵ دقیقه نتوانست رشد انتروباکتر آیروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و سودوموناس آیروژینوزا را مهار نماید که پیشنهاد شرکت سازنده را رد می‌کند ولی برای شرایط استریل در غلظت ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب زمان تماس ۳۰ و ۱۵ دقیقه رشد هر سه باکتری را مهار نمود.

بنابراین مقادیر مربوط به MBC با MIC برابر است. به طور کلی مقادیر MIC و MBC برای مواد ضد عفونی کننده مورد مطالعه در جدول ۲ ارایه شده است.

در مرحله دوم دسکوسید، میکروباک فورت و کورسولکس بیسیک در سوسپانسیون با غلظت ۰/۵ مک فارلند در تمام غلظت‌های پیشنهادی شرکت سازنده اثر مهارکنندگی خوبی بر روی باکتری‌های عفونت بیمارستانی از قبیل انتروباکتر آیروژینوزا 1221(NCTC 10006)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس PTCC:1435(Cip81.55) و سودوموناس آیروژینوزا داشت که با دستورالعمل شرکت سازنده مطابقت دارد. مطالعات انجام شده نشان داد که پرسیدین ۱٪ در رقت مصرفی (V/V) ۲ و ۴ درصد و زمان تماس ۵ دقیقه نتوانسته رشد انتروباکتر آیروژینوزا 1221(NCTC 10006)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس PTCC:1435(Cip81.55) و سودوموناس آیروژینوزا PAO1 را مهار نماید که پیشنهاد شرکت سازنده را رد می‌کند ولی در غلظت ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب زمان تماس ۳۰ و ۱۵ دقیقه رشد هر سه نوع باکتری فوق را مهار نمود که در این غلظت‌ها و زمان تماس با دستورالعمل شرکت سازنده مطابقت داشت.

جدول ۳: تاثیر ضد عفونی کننده‌ها (غلظت و زمان اشاره شده طبق کاتالوگ شرکت سازنده است) بر روی سودوموناس آیروژینوزا، انتروباکتر آیروژینوزا (NCTC 10006) 1221 استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (Cip81.55) (PTCC:1435)

| ضد عفونی کننده | زمان تماس (دقیقه) | غلظت مصرفی (V/V) % | | | | | | | |
|----------------|-------------------|-----------------------|-----|---|----|----|-------|----|----|
| | | ۰/۲۵ | ۰/۵ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۱۰ | ۲۰ |
| دسکوسید | ۵ | | | | | ** | | | |
| | ۱۵ | | | | - | | | | |
| | ۳۰ | | | - | | | | | |
| | ۶۰ | | - | | | | | | |
| | ۲۴۰ | - | | | | | | | |
| میکروباک فورت | ۵ | | | | | | | | |
| | ۳۰ | | | - | | | | | |
| | ۶۰ | | - | | | | | | |
| | ۲۴۰ | - | | | | | | | |
| کورسولکس بیسیک | ۱۵ | | | | | | - | | |
| | ۳۰ | | | | | | | | |
| | ۶۰ | | | | | | | | |
| پرسیدین ۱٪ | ۴ | | | | ++ | | +++** | | |
| | ۱۵ | | | | | | | | - |
| | ۳۰ | | | | | | | | - |

× علامت (-) نشان دهنده عدم رشد کلنی هر سه باکتری در زمان تماس و غلظت مذکور است.
×× علامت (++) نشان دهنده رشد فراوان کلنی هر سه باکتری در زمان و غلظت گفته شده است.

تشکر و قدردانی

کلیه همکاران محترم در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به پاس مساعدت‌های لازم و صمیمانه جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

این مقاله از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران استخراج گردیده است. همچنین این مقاله در قالب طرح تحقیقاتی با کد ۱۴۹۳۸-۲۷-۰۳-۹۰ و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردیده است. نویسندگان این مقاله بدینوسیله از

منابع

- 1.1. Hollenbeak CS, Murphy D, Dunagan WC, Fraser VJ. Nonrandom selection and the attributable cost of surgical-site infections. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002;23:177-82.
2. Whitehouse JD, Friedman D, Kirkland KB, Richardson WJ, Sexton DJ. The impact of surgical-site infections following orthopedic surgery at a community hospital and a university hospital. Adverse quality of life, excess length of stay, and extra costs. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002; 23:183-9.
3. Kampf G, Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:863-93.
4. Ayliffe GAJ et al. Control of hospital infection. A practical handbook, 3rd ed. London, Chapman & Hall. 1999:275-350.
5. Lowrence CA, Block SS, EDS. Disinfection, sterilization, and preservation Philadelphia: Lea Febiger. 1996:517-531.
6. Farzaneh L, Morteza M, Mohammad R, Nahaei V, Amin O, Navid A. Antibacterial Activity of Germicide-PA: A Persulfate Based Detergent/Disinfectant on Some Hospital Isolates. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences.* Autumn 2006;2(4):225-230.
7. Johnsons J. History of Medical Product sterilization, New York. 1995.
8. William A, Rutala PH, David J, Weber, MD. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. and the H Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). 2008:125-198
9. Uttley A, Simpson R. Audit of bronchoscope disinfection: a survey of procedures in England and Wales and incidents of mycobacterial contamination. *J. Hosp. Infect.* 1994;26:301-8.
10. Zaidi M, Angulo M, Sifuentes-Osornio J. Disinfection and sterilization practices in Mexico. *J. Hosp. Infect.* 1995;31:25-32.
11. Marcia Aparecida G, Anita T, Marly Paiva N, Katia Regina N. Disinfectant and antibiotic activities. A comparative analysis in Brazilian hospital bacterial isolates. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2000; 31:193-199
12. Hashemian F, Yousefi Mashouf R, Mani Kashani Kh. Investigation of surgical sites infection. *J. Hamadan University.* 2001;19(1):39-42 (In Persian).
13. Yousefi Mashouf R, Falah M, Hajia M. Evaluation of efficacy of antiseptic and disinfectants in hospitals of Hamadan. *J. Hamadan University.* 1383; 42-56 (In Persian).
14. Yousefi Mashouf R, Nazari M, Samarghandi M, Shams M. Evaluation of efficacy of the current disinfectants on staphylococcus epidermidis and Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitals of Hamadan. *J. Tabib shargh.* 2006;8(4): 287-296 (In Persian).
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standard for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standards M2-A7. NCCL, Villanova, PA, USA. 2000;89-123.
16. LaktiCova K, Ondrasovic M, OndrasoviCova O, Smirjakova S, Kaskova A. The Testing Of The Efficacy Of Selected Disinfectants Under Laboratory Conditions and Ecological Aspects Of Their Application Concerning Environmental Impacts. *Folia Veterinaria.* 2005;43(3):54-56.
17. Reybrouc G. International standardization of disinfectant testing: is it possible *J. Hospital Infection.* 1991;18(1):280-288.
18. Dseeter Rosario L, Cecilio M. Microbiological efficacy of Chlorhexidine: In Vitro Study on 400 bacterial isolates from four Metromanila hospital. *Phil J Microbiol Infect Dis.* 1999;12(1):7-13.
19. Majtan V, Majtanova L. Antibacterial efficacy of disinfectants against some gram negative bacteria. *Cent Eur J Public Health.* 2002; 10:104-106.
20. Louisiana State University Health Sciences Center. New Orleans Department of Microbiology, Immunology and Parasitology Last Modified. 2002:57-58.
21. William A. Rutala and David J. Disinfection and Sterilization in Health Care Facilities: What Clinicians Need to Know? *Health Care Epidemiology* 2004;(38):702-708.
22. Millns B, Martin M, Field E. The sensitivity to chlorhexidine and cetyl pyridinium chloride of

staphylococci on the hands of dental students and theatre staff exposed to these disinfectants. J. Hospital Infection. 1994;26(2):99-104.

23. Rosario L. Microbiological efficacy of Chlorhexidine: An In Vitro Study on 400 Bacterial Isolates from Four Metro Manila Hospital. Phil J Microbiol Infect Dis 1998. 12(1):7-13.

Comparison of Antiseptics' Efficacy on *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Epidermidis* and *Enterobacter Aeruginosa* in Hospital of Imam Khomeini (Urmia)

Fahim Amini¹, Masood Yunesian², *Mohammad Hadi Dehghani¹, Nima Hosseini Jazani², Ramin Nabizadeh Nodehi¹, Maasoumeh Moghaddam Arjomandi¹

¹Department of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Uremia University of Medical Sciences, Uremia, Iran

²Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 13 September 2011

Accepted: 12 November 2011

ABSTRACT

Background and Objectives: Nosocomial infection is the cause of deaths, morbidity, higher costs and increased length of stay in hospitals. Correct and appropriate use of antiseptic and disinfectants play an important role in reducing infections. In this study the efficacy of antiseptics on bacteria causing hospital infections has been studied.

Materials and Methods: This study was conducted in the laboratory of Imam Khomeini Hospital of Uremia. In this study the Antimicrobial activity of Descocid, Korsolex basic, Mikrobac forte and persidin 1% was studied against bacteria causing hospital infections such as *Enterobacter aeruginosa* 1221 (NCTC 10006), *Staphylococcus epidermidis* (PTCC: 1435 (Cip81.55) and *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1. Sensitivities of bacteria were determined by Minimum inhibitory Concentration (MIC) and Minimum bactericidal Concentration (MBC) antiseptics. In the second stage, the concentration of antiseptics was prepared according to the manufacturer's suggested protocol and the effect of antimicrobial agents were studied at the certain concentration and contact time.

Result: All disinfectants (Descocid, Korsolex basic, Mikrobac forte) concentration and contact time, Accordance with the manufacturer's brochure, had inhibitory effect on all bacteria. That this is consistent with the manufacturer's brochure. Persidin one percent in concentration of from 2 and 4

V/V % and exposure time 5 minutes could not inhibit the growth of bacterial. But at concentrations of 10 and 20% respectively 15 and 30 minutes exposure time, all three types of bacteria can be inhibited, which is consistent with the manufacturer's claims.

Conclusion: In this study, the efficacy of antiseptics was determined with the Micro-dilution method recommended by the NCCLS. Korsolex basic, weakest antiseptics (the highest MIC) for the inhibition of three bacteria was determined. But Between all four antiseptics (according to manufacturer concentration), Only one percent Percidine 2 and 4 V/V % in consumer dilution and 5 minutes exposure time failed to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* and *Enterobacter aeruginosa*.

Keywords: Antiseptics, Hospital, *Enterobacter aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*

*Corresponding Author: dehghanihadi@yahoo.com

Tel: +98 21 66954234, Fax: +98 21 66419984