

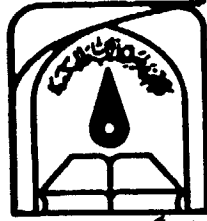
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۳۹۸۸
م ۸
کتابخانه
کاشف ۸۵

۳۸۴۷۲

۱۳۸۰ / ۱۰ / ۱۱

مرکز اطلاعات مدرک علمی ایران
تقسیم مدرک



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته باکتری شناسی

عنوان

اثر کاربرد همزمان امواج فراصوت و سفتازیدیم بر رشد
و فاگوسیتوز پseudomonas اتروژینوزا

نگارش

نسیم کاشف

015475

استاد راهنما

دکتر قربان بهزادیان نژاد

۳۸۹۷۲

استاد مشاور

دکتر منیژه مختاری

شهریور ۱۳۸۰

۳۸۹۷۲

«فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان نامه کارشناسی ارشد خانم/آقای نسیم کاشف رشته: باکتری شناسی
تحت عنوان: اثر کاربرد همزمان اولتراسوند و سفتازیدیم بر رشد و فاگوسیتوز پسمودوموناس آئروژینوزا
تقدیم می شود. اینجانبان نسخه نهائی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه
کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

جناب آقای دکتر قربان بهزادیان نژاد (استاد راهنما)



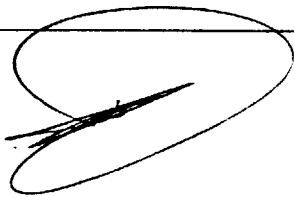
سرکار خانم دکتر منیژه مختاری (استاد مشاور)




جناب آقای دکتر عباس رضایی (نماینده شورای تحصیلات تکمیلی)



جناب آقای دکتر عادل رجبی (استاد ناظر)



جناب آقای دکتر مرتضی ستاری (استاد ناظر)





تاریخ:

پیوست:

آیین‌نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)‌های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱. در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مرکز نشر دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲. در صفحه سوم (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کنید:

«کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **باکتری‌شناسی** است. که در سال ۱۳۸۰ در دانشکده **علوم پزشکی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر **قربان بهزادیان‌نژاد** و مشاوره سرکار خانم دکتر **منیژه مختاری** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳. به منظور جبران بخشی از هزینه‌های نشریات دانشگاه تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند، دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴. در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵. دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶. اینجانب **نسیم کاشف** دانشجوی رشته **باکتری‌شناسی** مقطع **کارشناسی** - ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضاء

تقدیم به:

پدر و مادر عزیز و مهربانم،

که دریای بی‌کران محبت و سرچشمهٔ ایثار و عطاقتند و
فداکاریهای بی‌دریغشان برایم پشتوانه محکمی در رویارویی با
مشکلات می‌باشد.

خواهران و برادر عزیزم،

که همواره مشوق من در طول تحصیل بوده‌اند.

به نام آن که هستی از لوست

اکنون که به لطف پروردگار یکتا تدوین این مجموعه به اتمام رسید، برخورد واجب می‌دانم، مراتب تقدیر و سپاس خویش را از سرورانی که در تکمیل و تدوین آن راهنمایی و مساعدت نموده‌اند، ابراز نمایم.

جناب آقای دکتر بهزادیان نژاد که در تمام مراحل تحصیل و تحقیق با راهنمایی‌های عالمانه و ارزنده خویش بنده را یاری نموده‌اند.

سرکار خانم دکتر مختاری که زحمت مشاوره این پایان‌نامه را پذیرفتند و همواره از الطاف ایشان برخوردار بوده‌ام.

استادان و سروران گرامی، جناب آقای دکتر ستاری، جناب آقای دکتر رضایی، سرکار خانم دکتر درانی، سرکار خانم دکتر پیرایه، سرکار خانم دکتر مبارز که در طول تحصیل از محضرشان بهره‌مند شدم.

سرکار خانمها صمیمی و رازقی کارشناسان محترم آزمایشگاه باکتری‌شناسی که از همکاری صمیمانه ایشان در مراحل تحقیق برخوردار شدم.

دوستان عزیزم که در دوران تحصیل اینجانب، نهایت محبت و همکاری را فرمودند.

مسئولین محترم گروه فیزیک پزشکی و فیزیوتراپی

و کلیه سرورانی که به نحوی در انجام این تحقیق یاریم نمودند.

چکیده

پسودوموناس اثرورینوزا یک پاتوژن مهم انسانی با مقاومت ذاتی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضد عفونی‌کننده‌ها می‌باشد که اغلب، در بیماران دارای نقص ایمنی، سبب ایجاد عفونت می‌شود. امروزه، امواج فراصوت در تشخیص و درمان بیماریها مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از کاربردهای جدید این امواج در رهش دارو می‌باشد. گزارشات زیادی براین مبنا وجود دارند که امواج فراصوت سبب فعال‌سازی یا اثر بیشتر گروهی از عوامل دارویی می‌شوند.

در مطالعه حاضر، اثر همزمان امواج فراصوت و سفنازیدیم بر رشد و فاگوسیتوز پسودوموناس اثرورینوزا بررسی شد.

اثرکشنده امواج فراصوت (با فرکانس 1MHz) و sMICs سفنازیدیم بر رشد و فاگوسیتوز پسودوموناس اثرورینوزا (ATCC 27853) جداگانه و همراه هم، آزمایش شد.

اثر باکتری‌کش غلظت 1µg/ml سفنازیدیم برای این باکتری، بیش از اثر غلظت 0.5µg/ml بود. آنالیز آماری نتایج نشان داد که اثر شدت و زمان پرتو دهی بر روی این باکتری مهم می‌باشد، به این ترتیب که با افزایش میزان شدت و طول مدت تابش دهی، درصد کشته شدن نیز افزایش می‌یابد ($P < 0.000$). کاربرد همزمان امواج فراصوت و sMICs سفنازیدیم بر روی این باکتری، کشنده تر از تیمار این باکتری با هر یک از این عوامل به تنهایی بود ($P < 0.000$).

نتایج مشابهی در مورد فاگوسیتوز پسودوموناس اثرورینوزا گرفته شد. تیمار آزمایشگاهی باکتری‌ها با sMICs آنتی‌بیوتیک و امواج فراصوت به تنهایی، سبب افزایش فاگوسیتوز ماکروفاژی و کشته شدن ارگانسیم شد ($P < 0.000$).

در حالی که تیمار همزمان باکتری‌ها با دو متغیر مستقل یاد شده، افزایش قابل ملاحظه‌ای را در فاگوسیتوز غیراِپسونیک به دنبال داشت ($P < 0.000$).

نتایج ما اظهار کرد که کاربرد همزمان امواج فراصوت و سفنازیدیم در غیرفعال کردن پسودوموناس اثرورینوزا مؤثر است. این اثر امیدبخش، می‌تواند سبب ایجاد روش جدیدی در از بین بردن عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم باشد.

کلمات کلیدی: پسودوموناس اثرورینوزا، سفنازیدیم، امواج فراصوت، فاگوسیتوز

﴿ فهرست مطالب ﴾

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه و کلیات
۲	مقدمه
۴	۱-۱. جنس پ سودوموناس
۴	۲-۱. پ سودوموناس اثرورژینوزا
۴	۱-۲-۱. تاریخچه
۵	۲-۲-۱. ویژگی های رشد
۶	۳-۲-۱. رنگدانه
۷	۴-۲-۱. ساختار دیوار سلولی
۷	۵-۲-۱. همه گیرشناسی
۹	۶-۲-۱. عوامل ویرولانس پ سودوموناس اثرورژینوزا
۹	۱-۶-۲-۱. محصولات خارجی
۹	۱-۱-۶-۲-۱. اگزوتوکسین A
۱۰	۲-۱-۶-۲-۱. اگزوآنزیم S
۱۰	۳-۱-۶-۲-۱. پروتئازهای خارج سلولی
۱۱	۲-۶-۲-۱. فاکتورهای وابسته به سطح
۱۱	۱-۲-۶-۲-۱. آلزینات
۱۱	۲-۲-۶-۲-۱. اندوتوکسین
۱۲	۳-۲-۶-۲-۱. پیلی
۱۲	۴-۲-۶-۲-۱. فلاژل
۱۳	۷-۲-۱. بیماریزایی

- ۱-۳. مقاومت و حساسیت پseudomonas اثرورژینوزا به آنتی‌بیوتیک‌ها. ۱۴
- ۱-۳-۱. کاهش نفوذپذیری و تغییر پروتئین‌های غشای خارجی. ۱۵
- ۱-۳-۲. عملکرد سیستم جریان دفع. ۱۶
- ۱-۳-۳. تولید بتالاکتامازها. ۱۶
- ۱-۳-۴. سایر مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها. ۱۷
- ۱-۴. سفنازیدیم. ۱۸
- ۱-۴-۱. فعالیت ضد میکروبی سفنازیدیم. ۱۹
- ۱-۴-۲. مکانیسم عمل سفنازیدیم. ۲۰
- ۱-۵. اثرات sub-MIC آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌ها. ۲۱
- ۱-۵-۱. تغییرات مورفولوژیک در باکتری‌ها. ۲۲
- ۱-۵-۲. اثر بر اتصال باکتری‌ها. ۲۳
- ۱-۵-۳. اثر بر سم زایی باکتری‌ها. ۲۴
- ۱-۵-۴. اثر بر بیگانه خواری. ۲۵
- ۱-۶. فاگوسیتوز پseudomonas اثرورژینوزا از طریق ماکروفاژها: برهم کنشهای رسپتور-لیگاند. ۲۶
- ۱-۶-۱. فرایند فاگوسیتوز باکتریایی. ۲۶
- ۱-۶-۲. فاگوسیتوز اپسونیک پseudomonas اثرورژینوزا از طریق ماکروفاژها. ۲۷
- ۱-۶-۳. فاگوسیتوز پseudomonas اثرورژینوزا در غیاب اپسونینهای خارجی. ۲۸
- ۱-۶-۴. رسپتورهای ماکروفاژی. ۲۹
- ۱-۶-۵. لیگاندهای باکتریایی و حساسیت نسبت به فاگوسیتوز غیر اپسونیک. ۳۰
- ۱-۶-۶. تنظیم فاگوسیتوز پseudomonas اثرورژینوزا. ۳۱

۳۱	۷-۶-۱. اینترفرون گاما
۳۱	۸-۶-۱. متناسب نبودن رسپتور- لیگانند.
۳۲	۹-۶-۱. گلوکز.
۳۳	۷-۱. مقدمه.
۳۴	۸-۱. امواج فراصوت.
۳۴	۱-۸-۱. ویژگی های عمومی امواج فراصوت
۳۵	۲-۸-۱. نحوه انتقال امواج فراصوت
۳۶	۳-۸-۱. دامنه و شدت
۳۸	۴-۸-۱. تضعیف
۳۹	۱-۴-۸-۱. جذب
۳۹	۲-۴-۸-۱. پراکندگی
۴۰	۹-۱. اثرات فیزیولوژیکی انرژی فراصوت
۴۳	۱۰-۱. آثار بیولوژیکی امواج فراصوتی
۴۳	۱-۱۰-۱. آثار غیر گرمایی
۴۷	۲-۱۰-۱. آثار گرمایی
۴۹	۱۱-۱. مروری بر مطالعات انجام شده

فصل دوم: مواد و روشها ۵۶

۵۷	۱-۲. تهیه سویه استاندارد پسو دوموناس ائروژینوزا
۵۷	۲-۲. تایید باکتری استاندارد

- ۳-۲. نگهداری و استفاده روزانه از باکتری‌ها ۵۸
- ۴-۲. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش رقیق‌سازی در آبگوشت ۶۱
- ۱-۴-۲. تهیه آنتی‌بیوتیک‌ها ۶۱
- ۲-۴-۲. توزیع پودرهای آنتی‌بیوتیک ۶۲
- ۳-۴-۲. تهیه محلول‌های ذخیره ۶۳
- ۴-۴-۲. روش انجام آزمایش ۶۴
- ۵-۲. بررسی اثر غلظت‌های sMIC بر رشد پسودوموناس آئروژینوزا ۷۲
- ۶-۲. بررسی اثر امواج فراصوت بر رشد پسودوموناس آئروژینوزا ۷۲
- ۷-۲. بررسی اثر کاربرد همزمان امواج فراصوت و غلظت‌های sMIC سفتازیدیم بر رشد پسودوموناس آئروژینوا ۷۲
- ۸-۲. تهیه Set Up پرتودهی فراصوتی ۷۳
- ۹-۲. تعیین شدت پرتو فراصوتی رسیده به سوسپانسیون باکتری‌ها ۷۴
- ۱۰-۲. پرتودهی فراصوتی سوسپانسیون باکتری‌ها ۷۵
- ۱۱-۲. کشته شدن پسودوموناس آئروژینوزای تیمار شده با غلظت‌های sMIC سفتازیدیم توسط سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای صفاق موش ۷۷
- ۱-۱۱-۲. تهیه موش ۷۷
- ۲-۱۱-۲. تیمار پسودوموناس آئروژینوزای با sub-MICs آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش ۷۷
- ۳-۱۱-۲. تهیه سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای از صفاق موش [۶۷] ۷۸
- ۴-۱۱-۲. تعیین زنده بودن سلول‌ها به کمک رنگ حیاتی [۶۷] ۷۹
- ۵-۱۱-۲. شمارش سلول‌ها با لام هموسیتمتر [67] ۷۹

۱۲-۲. کشته شدن پسودوموناس ائروژینوزای تیمار شده با امواج فراصوت توسط سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای صفاق موش.....	۸۱
۱-۱۲-۲. تیمار پسودوموناس ائروژینوزا با امواج فراصوت.....	۸۱
۲-۱۳-۲. فاگوسیتوز پسودوموناس ائروژینوزای تیمار شده با امواج فراصوت.....	۸۱
۱۳-۲. کشته شدن پسودوموناس ائروژینوزای تیمار شده با امواج فراصوت و غلظت‌های sMIC سفتازیدیم توسط سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای صفاق موش.....	۸۲
۱-۱۳-۲. تیمار پسودوموناس ائروژینوزا با امواج فراصوت و غلظت‌های sMIC سفتازیدیم.....	۸۲
۲-۱۳-۲. فاگوسیتوز پسودوموناس ائروژینوزای تیمار شده با امواج فراصوت و غلظت‌های sMIC سفتازیدیم.....	۸۲

فصل سوم: نتایج..... ۸۳

۱-۳. نتایج حاصل از تأیید نمونه استاندارد.....	۸۴
۲-۳. نتایج حاصل از اندازه‌گیری MIC.....	۸۴
۳-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های sMIC سفتازیدیم بر رشد پسودوموناس ائروژینوزا.....	۸۵
۴-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر امواج فراصوت بر رشد پسودوموناس ائروژینوزا.....	۸۶
۵-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر کاربرد همزمان سفتازیدیم و امواج فراصوت بر رشد پسودوموناس ائروژینوزا.....	۸۷
۶-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های sMIC سفتازیدیم بر فاگوسیتوز پسودوموناس ائروژینوزا.....	۸۸

۷-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر امواج فراصوت بر فاگوسیتوز پسودوموناس اثر وینوزا...	۸۹
۸-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر کاربرد همزمان سفتازیدیم و امواج فراصوت بر فاگوسیتوز پسودوموناس اثر وینوزا.....	۹۰
۹-۳. آزمون آماری Two-way Analysis of Variance و نتایج آن.....	۹۱
۱۰-۳. تأثیر زمان بر رابطه امواج فراصوت و تعداد کلونی.....	۹۴
فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری، پیشنهادها.....	۱۰۴
۱-۴. بحث و نتیجه گیری.....	۱۰۵
۲-۴. پیشنهادها.....	۱۱۲
فهرست منابع.....	۱۱۳
چکیده انگلیسی.....	۱۲۳

﴿ فهرست شکل ها ﴾

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱. فرمول ساختمانی سفتاژیدیم.....	۱۹
شکل ۲-۱. شدت در عرض یک دسته پرتو فراصوتی.....	۳۷
شکل ۳-۱. شدت از نظر زمان در امواج فراصوتی پالسی.....	۳۷
شکل ۱-۲. تصویر Set up پرتو دهی.....	۷۳
شکل ۲-۲. نمای شماتیک لایه های موجود در مسیر پرتو.....	۷۵
شکل ۳-۲. تصویر دستگاه سونوترابی ۴۳۴.....	۷۶
شکل ۴-۲. تهیه سلول های بیگانه خوار تک هسته ای از صفاق موش.....	۷۸
شکل ۱-۳. برهم کنش امواج فراصوت و غلظت آنتی بیوتیک در تعداد کلونیهها.....	۹۷
شکل ۲-۳. برهم کنش امواج فراصوت و غلظت آنتی بیوتیک در تعداد کلونیهها.....	۹۸
شکل ۳-۳. برهم کنش غلظت آنتی بیوتیک و امواج فراصوت در تعداد کلونیهها.....	۱۰۰
شکل ۴-۳. عدم رشد باکتری تحت تأثیر امواج فراصوت با توان ۰/۵W و مدت ۱ دقیقه.....	۱۰۰
شکل ۵-۳. عدم رشد باکتری تحت تأثیر امواج فراصوت با توان ۱W و مدت ۱ دقیقه.....	۱۰۱
شکل ۶-۳. عدم رشد باکتری تحت تأثیر امواج فراصوت با توان ۱/۵W و به مدت ۱ دقیقه.....	۱۰۱
شکل ۷-۳. کنترل Sham.....	۱۰۲
شکل ۸-۳. رشد باکتری های شاهد بر روی پلیت.....	۱۰۲
شکل ۹-۳. رشد باکتری ها در غلظت $\frac{1}{4}$ MIC.....	۱۰۳
شکل ۱۰-۳. رشد باکتری ها در غلظت $\frac{1}{4}$ MIC.....	۱۰۳

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱. پراکندگی امواج فراصوتی در بافتها و اندامهای مختلف بدن	۴۰
جدول ۱-۲. نوع حلال و رقیق کننده برای ساخت محلولهای ذخیره آنتی بیوتیکها	۶۶
جدول ۲-۲. شرایط نگهداری و ذخیره سازی پودرها و محلولهای آنتی بیوتیکی	۶۸
جدول ۲-۳. مقادیر MICs آنتی بیوتیکهای مختلف برای سویه های بالینی و رفرانس پسودوموناس	
اثروژنوزا واشریشیاکلی	۷۱
جدول ۱-۳. نتایج حاصل از آزمایشهای بیوشیمیایی سویه استاندارد	۸۴
جدول ۲-۳. نتایج حاصل از تعیین MIC برای سویه استاندارد	۸۵
جدول ۳-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت های sMIC سفتازیدیم بر رشد	۸۵
جدول ۴-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر امواج فراصوت بر رشد به مدت ۶۰ ثانیه	۸۶
جدول ۵-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر امواج فراصوت بر رشد به مدت ۳۰ ثانیه	۸۶
جدول ۶-۳. نتایج حاصل از اثر کاربرد همزمان امواج فراصوت و سفتازیدیم بر رشد به مدت ۶۰	
ثانیه	۸۷
جدول ۷-۳. نتایج حاصل از اثر کاربرد همزمان امواج فراصوت و سفتازیدیم بر رشد به مدت ۳۰	
ثانیه	۸۷
جدول ۸-۳. نتایج حاصل از اثر غلظت های sMIC سفتازیدیم بر فاگوسیتوز	۸۸
جدول ۹-۳. نتایج حاصل از بررسی اثر امواج فراصوت بر فاگوسیتوز	۸۹
جدول ۱۰-۳. نتایج حاصل از اثر کاربرد همزمان امواج فراصوت و سفتازیدیم بر فاگوسیتوز	۹۰
جدول ۱۱-۳. عوامل بین موضوعی	۹۱
جدول ۱۲-۳. آمار تشریحی	۹۲
جدول ۱۳-۳. اثرات بین موضوعی	۹۴