

## دارای رتبه علمی- پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

### اثر ضد باکتریایی پرده آمینوتیک انسانی

#### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه همراه با تولید آنتی بیوتیک ها، استفاده از روش های بیولوژیکی جهت مبارزه با باکتری ها مورد توجه بسیاری قرار گرفته است، سیستم های ایمنی با سد های طبیعی دفاعی مانند پرده آمینوتیک یکی از روش های رویارویی با عفونت های باکتریایی می باشد. هدف از این تحقیق بررسی خاصیت ضد باکتریایی پرده آمینوتیک انسانی می باشد.

**روش بررسی:** این مطالعه توصیفی در مرکز آموزشی درمانی دزینی گرگان انجام شد. ۲۰ پرده آمینوتیک پس از زایمان مادران جمع آوری و خاصیت ضدباکتریایی آنها علیه باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشیشیاکلی، به روش های رقیق سازی مکرر، انتشار در آگار و عصاره گیری بررسی شد. نتایج به صورت مشاهده ای جمع آوری و تجزیه تحلیل داده ها با محاسبه میانگین و انحراف معیار انجام شد.

**یافته ها:** خاصیت آنتی باکتریایی در ۱۵ درصد از نمونه ها (۳ نمونه پرده آمینوتیک) نسبت به باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد اما هیچ خاصیت ضدباکتریایی علیه اشیشیاکلی مشاهده نشد. روش انتشار آگار و رقیق سازی مکرر با ۱۵ درصد پاسخ مثبت، روش های موثرتری در بررسی خاصیت ضد باکتریایی پرده آمینوتیک بودند.

**نتیجه گیری:** مشاهده خواص ضد باکتریایی پرده آمینوتیک انسانی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا نشان دهنده احتمال وجود خاصیت ضد میکروبی در بافت پرده آمینوتیک می باشد و به نظر می رسد عوامل مختلفی در بروز این خاصیت تاثیر گذارند.

**واژه های کلیدی:** پرده آمینوتیک، خاصیت آنتی باکتریال، روش آزمایشگاهی

#### لیلا کاشانی

پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### محیا اُحلی

کارشناس میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### عزت الله قائمی

استاد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### ناصر بهنام پور

استادیار آمار زیستی، گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### الهام کاشانی

دانشیار، متخصص زنان و زایمان، گروه بیماری های زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### حبیب اله اُحلی

کارشناس پرستاری، مرکز تحقیقات پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### سوده فندرسکی

کارشناس میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### مسعود بازوری

کارشناس میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### لیلا فلسفی

کارشناس ارشد کامپیوتر، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: محیا اُحلی

پست الکترونیک: m\_okhly@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۱۷۵۰۰۵۷۸

آدرس: مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

دریافت: ۹۳/۱۰/۳۰

ویرایش پایانی: ۹۳/۱/۲۹

پذیرش: ۹۳/۲/۶

#### آدرس مقاله

کاشانی ل، اُحلی م، قائمی ع ا، بهنام پور ن، کاشانی ا، اُحلی ح، فندرسکی س، بازوری م، فلسفی ل " اثر ضد باکتریایی پرده آمینوتیک انسانی " مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۵): ۲۸-۳۵

باشد (۳، ۵، ۶). همچنین در برخی موارد میان نتایج مطالعات تناقضاتی به چشم می خورد به عنوان مثال در مطالعه ای عدم وجود خاصیت ایمنی ذاتی در پرده گزارش شده است و محقق تنها توقف رشد باکتری ها در مقابل پرده را ناشی از تماس فیزیکی آن با محیط کشت بیان نموده است (۵) که این موضوع با برخی مطالعات دیگر که وجود خاصیت ذاتی آنتی باکتریال پرده آمینوتیک را اعلام نموده اند و حتی اثر آن را با آنتی بیوتیک های کنترل مطالعه ی خود همسان دانسته اند، تناقض دارد (۳، ۶). در برخی مطالعات دیگر خاصیت آنتی باکتریال پرده در شرایط *In vivo* اثبات شده اما در شرایط آزمایشگاهی این خاصیت را در حد صفر اعلام نموده اند (۷-۹) که احتمالاً این تناقضات باید ناشی از تفاوت در روش های انجام آزمایشات باشد. در این مطالعه خاصیت ضد باکتری پرده آمینوتیک بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیا کلی* با چند روش آزمایشگاهی بررسی گردید.

### روش بررسی

در این مطالعه، تعداد ۲۰ نمونه پرده آمینوتیک به روش نمونه گیری تصادفی ساده بدون جایگزینی از میان مادران واجد شرایط انتخاب شد. پرده آمینوتیک پس از سزارین زنان باردار واجد شرایط که به زایشگاه بیمارستان دزینی شهر گرگان مراجعه نموده بودند تهیه شد. آمیون و کوریون در شرایط استریل اتاق عمل از هم جدا شده و پرده های آمینوتیک بدست آمده به وسیله محلول فیزیولوژی سترون جهت پاکسازی خون شست شو داده شد و توسط یک ظرف استریل شده ی درب دار حاوی محلول فیزیولوژی، در مدت حداکثر یک ساعت به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی انتقال داده شدند. نمونه های پرده آمینوتیک که در این مطالعه از آنها استفاده شد فاقد هرگونه پارگی زودرس و حاصل یک زایمان سزارین انتخابی بود. زنان بارداری که نمونه ها پس از زایمان آنها تهیه شد، فاقد بیماری های سیستمیک و نیز فاقد سابقه ی عفونت ادراری- تناسلی در سه هفته آخر بارداری بودند. همچنین در هفته آخر بارداری برای آنها از درمان آنتی بیوتیکی استفاده نشده بود و نوزادان ایشان نیز پس از تولد فاقد

بیماری های عفونی یکی از علل اساسی مرگ و میر و ناتوانی می باشند که با وجود پیشرفت چشمگیر در درمان و پیشگیری همچنان یکی از مشکلات سلامت باقی مانده اند و سبب نامناسب تر شدن شرایط زندگی میلیون ها نفر از مردم در سراسر دنیا می باشند. با وجود تولید مواد ضد میکروبی جدید، میکروب ها نیز در مقابل بهترین سلاح های بشر مقاومت نموده و با استفاده از راهکارهای حیاتی جدید با ما به مقابله بر می خیزند. مقاومت به آنتی بیوتیک ها با سرعتی هشدار دهنده در بین تمام گروه های عوامل بیماری زای پستانداران رو به افزایش است (۱). از سوی دیگر با در نظر گرفتن میزان استفاده از آنتی بیوتیک که اغلب آنها نسبتاً بی ضرر می باشند، تعدادی از آنها به صورت بالقوه می توانند منجر به بروز عوارض جانبی تهدید کننده ی حیات شوند (۲). در کنار تولید آنتی بیوتیک های نسل جدید استفاده از روش های بیولوژیکی طبیعی در جهت مبارزه با باکتری ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از موارد فوق، سیستم های ایمنی با سد های دفاعی طبیعی است که در بدن موجود می باشد که از جمله ی آنها پرده ی آمینوتیک می باشد. بخش عمده ای از ایمنی ذاتی پرده آمینوتیک را موادی مانند بتا دیفینسین ها که گروه بزرگی از پپتید های ضد باکتریایی هستند تشکیل می دهند که در سطح موکوسی پرده ی آمینوتیک توسط سلول های اپتلیال و لوکوسیت ها ذخیره می شوند، بنابراین چنین موادی به واسطه ی ایمنی ذاتی که برای پرده آمینوتیک ایجاد می کنند، سبب محدود شدن ورود میکروارگانیسم ها به بافت پرده می شوند. در نتیجه جنین در طول دوران بارداری تقریباً از بسیاری از عفونت های باکتریایی در امان می ماند (۳). به علاوه، مهار کننده های لوکوسیت پروتئاز ترشحی و الافین موجود در پرده ی آمینوتیک هر دو دارای اثر ضد باکتری بوده و به عنوان جزئی از سیستم ایمنی ذاتی، سطح پرده را از عفونت محفوظ می دارند. بنابراین کلیه عوامل ذکر شده احتمال وجود خاصیت ضد باکتری در پرده آمینوتیک را بیشتر می نمایند (۴). با این وجود نتایج بدست آمده از تحقیقات محققین درباره اثر ضد باکتریایی پرده آمینوتیک متناقض است و از صفر تا ۱۰۰ درصد متغیر می

شرایط سترون پرده آمینوتیک به قطع ۵×۵ سانتیمتر برش داده شد و در هاون چینی مخصوص حاوی ۵ سی سی سرم فیزیولوژی ساییده شد. محتویات هاون در لوله آزمایش قرار گرفت و تا ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد و فاز مایع حاوی عصاره از فاز جامد شامل رسوب سلولی توسط دستگاه سانتریفیوژ از هم جدا شد. در مرحله ی بعد مطابق با روش کربی بائر چندین دیسک بلانک کاغذی خشک و استریل در لوله ی حاوی عصاره ی فاز مایع قرار گرفتند تا کاملاً به عصاره آغشته شوند سپس به مدت ۳-۴ ساعت در گرمخانه خشک شدند (۱۲). سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با رقت نیم مک فارلند بر روی محیط آگار قرار گرفت و با سواب کشت یکنواخت داده شد. سپس دیسک های آماده شده و آغشته به عصاره ی پرده آمینوتیک را روی محیط مولر هیتون آگار قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شدند. پلیت های کنترل منفی حاوی دیسک های آغشته به سرم فیزیولوژی نیز در گرمخانه قرار داده شدند. در آخرین مرحله ، قطر هاله ی عدم رشد اطراف دیسک ها بررسی شدند. اطلاعات جمع آوری شده وارد رایانه شده و توسط نرم افزار آماری spss ۱۶ مورد آنالیز قرار گرفت. جهت افزایش اعتبار نتایج بدست آمده ، ۳ روش فوق با ۳ بار تکرار انجام شد.

#### یافته ها

از بین ۲۰ نمونه مورد بررسی، تعداد ۳ پرده آمینوتیک دارای خاصیت ضد باکتری علیه باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بودند، اما بر علیه باکتری *شریشیاکلی* هیچ گونه خاصیت آنتی باکتریایی مشاهده نشد (جدول ۱). از ۳ نمونه فوق ۲ نمونه پرده ی آمینوتیک در مجاورت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط روش های انتشار آگار و رقیق سازی اثر مهاری نشان دادند اما همین نمونه ها توسط روش عصاره گیری خاصیت مهاری را برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان نداد. در ۱ نمونه از ۳ نمونه پرده آمینوتیک فوق، در مجاورت باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* توسط تمامی روش های انتشار در آگار، رقیق

علائم عفونی بودند. سوش استاندارد شماره PTCC 1399 برای *شریشیاکلی*، سوش استاندارد شماره ی PTCC1430 برای *سودوموناس آئروژینوزا* و سوش استاندارد شماره ی PTCC1431 برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از مجموعه قارچ ها و باکتری های ایران تهیه شد. روش رقیق سازی مکرر جهت مشاهده اثر ضد باکتریایی پرده ی آمینوتیک در محیط مایع و مقایسه نتایج با لوله های فاقد پرده آمینوتیک انجام گرفت. ویژگی این روش در حذف ممانعت فیزیکی رشد و چسبندگی به محیط کشت می باشد. رقت های مکرر از محلول باکتری با کدورت معادل نیم مک فارلند ( $10^8 \times 1/5$  باکتری) تا رقت  $10^5 \times 1/5$  تهیه شد. قطعاتی از پرده آمینون با مساحت  $1 \times 1$  سانتی متر در لوله های متوالی قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه گرمخانه گذاری شدند. کار مشابه به عنوان شاهد برای لوله های رقیق سازی شده ی بدون بافت پرده نیز انجام گرفت. پس از ۲۴ ساعت، ۱۰۰ میکرولیتر از هریک از لوله های حاوی پرده و همچنین ۱۰۰ میکرولیتر از لوله های کنترل در محیط کشت جامد مناسب کشت داده شد که مطابق روش *method macro modified* بود (۱۰، ۱۱). مقایسه شمارش باکتری در هر محیط و کنترل آن برای بررسی اثر مهاری پرده آمینوتیک انجام شد. روش انتشار آگار بر مبنای روش کربی بائر و به صورت انتشار در آگار می باشد. بدین صورت که سوش لیوفیلیزه باکتری مطابق روش استاندارد احیا شد سپس از محیط مایع یک لوپ روی محیط جامد کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفت. از باکتری محلول با رقت های  $10^8 \times 1/5$  تا  $10^5 \times 1/5$  تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آن روی محیط های آگار مناسب برای هر سوش تلقیح شد و سپس پرده آمینوتیک به قطع  $1 \times 1$  سانتیمتر برش داده شد و مستقیماً در مرکز پلیت قرار گرفت سپس به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه گرمخانه گذاری شد. در این آزمایش از دیسک های جنتامایسین و متی سیلین به عنوان کنترل های مثبت و از دیسک های کاغذی بلانک به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در مرحله ی بعد قطر هاله ی عدم رشد اطراف تمامی دیسک ها مورد بررسی قرار گرفت (۶، ۱۲). برای عصاره گیری از پرده آمینوتیک در

توسط روش های انتشار آگار، عصاره گیری و رقیق سازی خاصیت مهارى نشان ندادند.

سازى مکرر و روش عصاره گیرى خاصیت مهارى مشاهده شد. هیچکدام از نمونه ها در مجاورت باکترى اشریشیاکلی

جدول ۱- نتایج پاسخگویی ۳ نمونه ی دارای اثر ضد باکتریایی به تفکیک روش های انتشار آگار، عصاره گیری، رقیق سازی

نوع باکتری	نمونه دوم			نمونه هفتم			نمونه نهم		
	رقیق سازی	روش عصاره گیری	روش انتشار آگار	رقیق سازی	روش عصاره گیری	روش انتشار آگار	رقیق سازی	روش عصاره گیری	روش انتشار آگار
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	-	+	-	+	+	-	+
اشریشیاکلی	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سودوموناس آنروژینوزا	+	+	+	-	-	-	-	-	-

جدول ۲- میزان قطر هاله عدم رشد میلی متر ۳ نمونه مثبت در روش انتشار آگار

نوع باکتری	غلظت (تعداد باکتری)	نمونه
استافیلوکوکوس اورئوس	-	دوم
اشریشیاکلی	-	
سودوموناس آنروژینوزا	۲۵	
	۱۰ <sup>۰</sup>	
	-	هفتم
	-	
	۱۵	
	۱۰ <sup>۶</sup>	
	-	نهم
	-	
	۲۰	
	۱۰ <sup>۶</sup>	
	۲۱	
	-	
	۲۰	
	۱۷	
	-	
	۲۲	
	-	
	۲۱	
	۱۸	
	۱۰	

قطر عدم رشد برای سودوموناس ۲۵ میلی متر بود که در غلظت ۱۰<sup>۵</sup> باکترى مشاهده شد (جدول ۲). بالاترین قطر هاله عدم رشد برای استافیلوکوکوس اورئوس در پرده نهم و در غلظت ۱۰<sup>۵</sup> باکترى برابر ۲۲ میلی متر بود نتایج عدم رشد در

از بین ۲۰ پرده مورد آزمون ۲ پرده باعث مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس (۱۰٪) و یک پرده از رشد سودوموناس (۵٪) جلوگیری کرد، در جمع ۳ پرده آمینوتیک در روش انتشار در آگار اثر ضد باکتریایی داشتند. بالاترین

حضور ۲۰ پرده آمینوتیک با روش رقیق سازی مکرر مشابه روش انتشار در آگار بوده و همان سه پرده روی دو باکتری سودوموناس واستافیلوک اثر مهاری داشتند. اثر ضد باکتریایی عصاره پرده آمینوتیک به نسبت دو روش دیگری کمتر بود به طوری که تنها از رشد سودوموناس ممانعت کرده ولی اثر مهاری بر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی نشان ندادند.

### بحث

در مطالعه ی حاضر اثر ضد باکتری پرده آمینوتیک انسانی علیه باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا تنها در سه نمونه مشاهده شد. در مطالعه ی مهدی سلطان دلال و همکاران نیز این اثر علیه سودوموناس آئروژینوزا (۳) و در مطالعه ی Kjaergaard و همکاران نیز خاصیت ممانعت کنندگی پرده علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده بود (۳،۶). در مطالعه مجید زارع بیدکی و همکاران که در سال ۱۳۹۱ با هدف ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی پرده های جنینی انسان در محیط آزمایشگاهی انجام شد، بیشترین اثر ضد باکتریایی بر روی سویه های استرپتوکوکوس پیوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس یافت شد و هیچ اثر ضد باکتریایی علیه اشریشیاکلی مشاهده نشده بود. در مطالعه ی نیز باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حساس به پرده آمینوتیک و باکتری اشریشیاکلی کاملاً مقاوم بود و این نتایج با یافته های مطالعه ی حاضر همخوانی دارد (۱۳). در این مطالعه ی حاضر روش انتشار روی سطح آگار و رقیق سازی برای بروز خاصیت ضد باکتریایی پرده روش های کارآمدتری از عصاره گیری بدست آمدند زیرا هر سه نمونه پرده در این دو روش اثر ضد باکتریایی قابل ملاحظه ای نشان دادند. در بسیاری از مطالعات انجام شده بر روی پرده ی آمینون و کوریون جهت بررسی خاصیت ضد باکتریایی از این روش استفاده شده است (۳،۶،۵). در برخی از مطالعات انجام شده عامل چسبندگی فیزیکی پرده به سطح آگار را به عنوان دلیل ممانعت کننده ی رشد گزارش نمودند (۵). در نتایج ارائه شده توسط Kjaergaard و همکاران، برای بررسی نقش اتصال بافت و سطح آگار در ایجاد اثر مهاری، بین بافت مورد بررسی و

سطح آگار، فیلتر قرار دادند، ولی همچنان مهار قابل مشاهده بود (۶). در مطالعه ما با استفاده از روش رقیق سازی مکرر عامل احتمالی "ممانعت فیزیکی" در بروز هاله عدم رشد، رد شد زیرا در این مطالعه مشخص شد پرده هایی که در روش انتشار آگار دارای خاصیت ضد باکتری بودند در روش رقیق سازی مکرر (حاوی پرده معلق)، حتی با حذف خاصیت ممانعت فیزیکی، باز هم خاصیت ضد باکتری داشتند. در مطالعات سایر محققین مشخص شده بود پرده آمینوتیک تیمار شده با آنتی بیوتیک خاصیت آزاد سازی تدریجی آنتی بیوتیک را داراست (۳). این عامل نیز بوسیله ی معیار های خروج از مطالعه ی ما که شامل عدم مصرف آنتی بیوتیک و عدم ابتلا به عفونت توسط مادر باردار در طی ۳ هفته ی آخر بارداری بود به حداقل ممکن رسید اما با این حال جذب و آزاد سازی مواد ضد باکتریایی موجود در مایع آمینوتیک می تواند از عوامل احتمالی اثر ضد باکتریایی پرده آمینوتیک باشد. در مایع آمینوتیک مواد ضد باکتریایی از قبیل ایمونوگلوبولین ها، بتالیزین و لیزوزیم موجود می باشد که می توانند جذب بافت پرده آمینوتیک شده و در محیط آزمایش آزاد شوند (۱۴،۱۵). بنابراین با توجه به اینکه لیزوزیم با تخریب دیواره سلولی باکتری ها می تواند سبب ممانعت از رشد آنها گردد پس می تواند به عنوان یکی از عوامل احتمالی ممانعت از رشد باکتری ها محسوب گردد. علاوه بر این، خواص ضد میکروبی پرده آمینون می تواند در اثر وجود پپتیدهای ضدباکتریایی طبیعی در آن باشد (۱۶) که می تواند به عنوان عامل مهمی در ممانعت از رشد باکتری ها مطرح باشد. دفتزین های انسانی گروه بزرگی از ضدباکتری های طبیعی هستند و  $\beta$ -defensins، نوع غالب در اپی تلیال آمینونی است. در مطالعه ای مشخص شد این پروتئین و mRNA آن در هنگام مواجهه با اجزای دیواره باکتری های گرم منفی (Lipopolysaccharide, LPS) و گرم مثبت، همچنین مخمر کاندیدا آلیکس ساخته می شود (۱۷). علاوه بر دفتزین ها، پپتیدهای ضد باکتریال دیگری در بافت آمینون گزارش شده است، الافین ها از جمله این پپتیدها هستند که فعالیت ضد پروتئازی و بازدارندگی الاستاز داشته و به عنوان اجزایی از سیستم ایمنی ذاتی با کنترل پاسخ التهابی در سطوح

بسیاری در ایجاد خاصیت ضد باکتری پرده بازی می کنند و خاصیت ضد باکتری نمونه های مثبت احتمالاً می تواند به دلیل ابتلای پیشین مادر به عفونت و ایجاد سلول های خاطره ایمنی و یا جذب و آزاد سازی مواد موجود در مایع آمنیوتیک باشد که اثبات این موضوع و بررسی مواد منتشره و خاصیت ضد باکتری آنها می تواند موضوع تحقیقات آتی باشد.

### نتیجه گیری

اثرات ضد باکتریایی پرده آمنیوتیک انسانی علیه باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* تنها در ۱۵ درصد موارد مشاهده شد. به نظر می رسد عوامل مختلفی در بروز آن تاثیر گذار باشند لذا مطالعات بیشتر در زمینه بررسی این عوامل پیشنهاد می گردد.

### تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از زحمات پرسنل خلدوم زایشگاه مرکز آموزشی درمانی دزیانی، آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات بیماری های عفونی قدردانی می گردد. این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان به شماره ۳۵/۲۲۴۳ می باشد لذا نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان بابت حمایت های مالی از طرح تحقیقاتی و مقاله اعلام می دارند.

### References

1. Kasper DL, Braunwald E, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Fauci AS. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill. 2005; 47.
2. Cunha B. *Antibiotic side effects*. Medical Clinics of North America. 2001; 85(1): 149-85.
3. Soltan Dallal MM, Kalafi Z, Rastegare Lari A, Hosseini SK, Rahimi Foroushani A, Deilami Khiabani Z, et al. *Survey of effect of reduce bacterial dilution on human amniotic membrane antibacterial effect in vitro*. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013; 15(5): 6-8. [Persian]
4. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Seifalian AM. *properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering*. *European Cells and Materials*. 2008; 15: 88-99.
5. Talmi YP1, Sigler L, Inge E, Finkelstein Y, Zohar Y. *Antibacterial properties of human amniotic membranes*. 1991; 12(3): 285- 288.

مخاطی، از سطوح مرتبط با آلودگی محافظت می کنند. در مطالعه ی Williams و همکاران خاصیت ضد میکروبی Elafin بر علیه *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شد (۱۸). در مطالعه ی دیگری، ترشح IgA از لبه ی بریده پرده به عنوان عامل ممانعت از رشد باکتری ها در اطراف پرده اعلام شد (۲). در این مطالعه نیز مشخص شد عواملی به غیر از آنتی بیوتیک ها و تماس فیزیکی با سطح آگار در ایجاد خاصیت ضد باکتری پرده آمنیوتیک نقش داشته و این عوامل در نمونه های پرده های آمنیوتیک مختلف متفاوتند زیرا تنها برخی از پرده های آمنیوتیک خاصیت ضد باکتری را از خود نشان دادند. استفاده از روش له کردن و عصاره گیری توسط سانتریفیوژ در مطالعه حاضر نشان داد که یا عوامل ضد باکتریایی پرده به راحتی قابل استخراج نمی باشند و یا اینکه عصاره ی پرده و جذب آن توسط دیسک های کاغذی به راحتی امکان پذیر نیست در نتیجه ایجاد خاصیت ضد باکتری پرده را کاهش داده است زیرا به غیر از یک نمونه که در این روش پاسخ مثبت داشت دیگر نمونه های مثبت پرده که با دو روش انتشار آگار روی آگار و رقیق سازی مکرر خاصیت ضد باکتریایی نشان داده بودند در این روش بی اثر بودند. بنابراین درون سلولی بودن این مواد و عدم ترشح کامل این پپتیدها و ساختار پروتئازی پپتیدهای ضدباکتریایی (۱۹) ممکن است باعث عدم پراکندگی آنها در آگار شود. در نهایت به نظر می رسد عوامل ایمنی نقش

6. Kjaergaard N1, Hein M, Hyttel L, Helmgig RB, Schönheyder HC, Uldbjerg N, Madsen H. *Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2001; 94(2): 224-229.
7. Ziaeeian B, Roudbari M. *The comparison of biologic dressing with amniotic membrane and anti-microbial dressing in wounds of burned patients*. *Ofogh-E-Danesh*. 2004; 10(3): 15-19.
8. Robson MC, Krizek TJ. *The effect of human amniotic membranes on the bacterial population of Infected Rat Burns*. *Ann Surg*. 1973; 177(2): 144-149.
9. Krishnan A. *Quantitative evaluation of the bacteriostatic efficacy of amniotic membrane applied as a biological dressing over large contaminated wounds encountered*. *European Journal of Plastic Surgery*. 1992; 15(6): 268-272.
10. Shakibaie MR, Gholamalibeig AH. *Plasmid-mediated*

*Cefotaxime and Ceftizoxime resistance in ten strains of KlebsiellaPneumoniae isolated from hospitals in Kerman, Iran.* Journal of Kerman University of Medical Sciences. 1999; 6(1): 38-29.[persian]

11. Talei GR, Meshkatsadat MH, Mosavi Z. *Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Four Medicinal Plants of Lorestan, Iran.* Journal of Medicinal Plants 2007; 6(Suppl 1): 45-52.[Persian]

12. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. *Antibiotic sensitivity testing by a standardized single disk method.* Am J Clin Pathol. 1966; 45(4): 493-6.

13. ZareBidaki M, Lessani T, Khazaie Z. *Evaluation of anti-bacterial effects of chorionic membranes in vitro.* Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2012; 19(2): 140-147.[persian]

14. Thadepalli H, Bach VT, Davidson EC. *Antimicrobial effect of amniotic fluid.* Obstet Gynecol. 1978; 52(2): 198-204.

15. Schlievert P, Johnson W, Galask RP. *Amniotic fluid antibacterial.mechanisms: newer concepts.* SeminPerinatol. 1977; 1(1): 59-70.

16. Stock SJ, Kelly RW, Riley SC, Calder AA. *Natural Antimicrobial Production by the Amnion.* Am J Obstet Gynecol. 2007; 196(3): 255.e1-6.

17. Buhimschi IA, Jabr M, Buhimschi CS, Petkova AP, Weiner CP, Saed GM. *The Novel Antimicrobial Peptide  $\beta$ 3-defensin Is Produced by the Amnion: A Possible Role of the Fetal Membranes in Innate Immunity of the AmnioticCavity.* Am J ObstetGynecol. 2004; 191(5): 1678-1687.

18. Williams SE, Brown TI, Roghanian A, Sallenave JM. *SLPI, Elafin: One Glove, many Fingers.* ClinSci. 2006; 110(1): 21-35.

19. King AE, Kelly RW, Sallenave JM, Bocking AD, Challis JR. *Innate Immune Defences in the Human Uterus duringPregnancy.* Placenta. 2007; 28(11-12): 1099-106.

## Antibacterial Effect of Human Amnion Membrane

### Kashani, L. (MD)

General Practitioner, Infectious Disease  
Research Center, Golestan University of  
Medical Science, Gorgan, Iran

### Okhly, M. (BSc)

BSc of Microbiology, Infectious Disease  
Research Center, Golestan University of  
Medical Science, Gorgan, Iran

### Ghaemi, EA. (PhD)

Professor of Microbiology, Department of  
Microbiology, School of Medicine,  
Golestan University of Medical Science,  
Gorgan, Iran

### Behnampour, N. (PhD)

Assistant Professor of Biostatistic,  
Department of Health, School of Health,  
Golestan University of Medical Sciences,  
Gorgan, Iran

### Kashani, E. (MD)

Associate Professor, Department of  
Gynecology, School of Medicine,  
Golestan University of Medical Science,  
Gorgan, Iran

### Okhly, HO. (BSc)

BSc of Nursing, Nursing research Center,  
Golestan University of Medical Sciences,  
Gorgan, Iran

### Fendereski, S. (BSc)

BSc of Microbiology, Infectious Disease  
Research Center, Golestan University of  
Medical Science, Gorgan, Iran

### Bazoori, M. (BSc)

BSc of Microbiology, Infectious Disease  
Research Center, Golestan University of  
Medical Science, Gorgan, Iran

### Falsafi, L. (MSc)

MSc of Computer, Golestan University of  
Medical Science, Gorgan, Iran

**Corresponding Author:** Okhly, M.

**Email:** m\_okhly@yahoo.com

**Received:** 20 Jan 2014

**Revised:** 18 Apr 2014

**Accepted:** 26 Apr 2014

### Abstract

**Background and Objective:** Along with antibiotics, the use of biological methods to combat bacteria is notably considered. A natural barrier such as amniotic membrane is one of the ways of dealing with bacterial infections. The aim of this study was to determine the antibacterial effect of human amniotic membrane.

**Materials and Methods:** This descriptive study was performed in Dezyani teaching Hospital of Gorgan University of Medical Sciences, Iran. To evaluate the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* bacteria, 20 amniotic membranes were obtained from postpartum mothers and examined by repeated dilution, diffusion and extraction techniques. Data were collected by observation method and described by mean and standard deviation.

**Results:** The antibacterial activity was found in 15% of the samples against *Staphylococcus Aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, while no antibacterial activity was found against *E. coli*. Given the 15% positive responses, "Diffusion" and "repeated dilution" techniques were more effective in investigating the antibacterial effect of amniotic membrane.

**Conclusion:** The results show the probability of antimicrobial effect of amniotic membrane tissue and it seems that this property can be affected by many factors.

**Keywords:** Amniotic Membrane, Anti-Bacterial Properties, Laboratory Methods