تاثیر مایع رویی استافیلو کوکوس اورئوس تیمار شده با آنتی‌بیوتیکهای بتا لاکتامی بر تولید نیتریک اکساید از ماکروفاژهای موش

شهین نجارپیرایه Ph.D.☆♦، علی احسان B.Sc.☆

☆ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

پست الکترونیک: Email: najarp-s@modares.ac.ir

چکیده

دریافت مقاله: ۸۳/۱۱/۱۱، پذیرش مقاله: ۸۴/۳/۱

* **هدف:** بررسی اثر آنتی بیوتیکهای بتالاکتامی سفتازیدیم، آمپی‌سیلین و کلواگزاسیلین بر آزادی ترکیبات باکتریایی استافیلو کوکوس اورئوس و اثر این ترکیبات در رهایی نیتریک اکساید از ماکروفارژهای موش

* **مواد و روشها:** MICs و MBCs آنتی‌بیوتیکها برای استافیلوکوکوس اورئوس با روش ماکروبراث دایلوشن انجام شد. آن‌گاه باکتری در غیاب (کنترل) و حضور غلظتهای MBC از آنتی‌بیوتیکها گرماگذاری شد. مایع رویی کشتهای باکتریایی پس از فیلتر نمودن به ماکروفاژهای موشی اضافه و پس از ۲۴ ساعت مایع رویی کشت ماکروفاژها برای اندازه‌گیری نیتریک اکساید با روش گریس آزمایش شد.

* **یافته‌ها:** مایع رویی باکتریهای کشت شده با سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتامی به طور معنی‌دار مقدار زیادی نیتریک‌اکساید در مقایسه با کشت کنترل (فاقد آنتی‌بیوتیک) تولید کرده بودند. هر سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتامی اثر مشابهی در تولید محصولات باکتریایی محرک رهایی نیتریک اکساید از استافیلو کوکوس اورئوس داشتند.

* **نتیجه گیری:** نتایج نشان می‌دهد رهایی ترکیبات باکتریایی طی تیمار با آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتامی می‌تواند نقش مهمی در ایجاد پاسخهای پیش التهابی نظیر تولید نیتریک اکساید داشته باشد.

گل واژگان: استافیلوکوکوس اورئوس، آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام، نیتریک اکساید، شوک سپتیک، ماکروفاژ

نشریه پزشکی یاخته، سال هفتم، بهار ۸۴، شماره ۲۵، صفحات ۴۷-۴۳

مقدمه

سپسیس و شوک سپتیک ناشی از باکتریهای گرم منفی و مثبت با تولید سایتوکینها و واسطه‌های پیش‌التهابی نظیر فاکتور نکروز دهندهٔ تومری، اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶، انترفرون گاما و نیتریک اکساید آغاز می‌شود و منجر به کاهش فشار خون، نارسایی در خون‌رسانی، شوک، آسیب چند عضوی و گاهی مرگ می شود. تلفات ناشی از سپسیس ۲۵درصد و در صورت وجود شوک به ۵۰درصد می‌رسد. بیش از ۳۵درصد موارد سپسیس باکتریایی با باکتریهای گرم مثبت ایجاد می‌شود (۱، ۲، ۳).

استفاده از آنتی‌بیوتیکها برای درمان وریشه‌کنی عفونت در سپسیس باکتریایی از اقدامات اولیه و ضروری است، ولی مشاهده شده است که استفاده از بعضی آنتی‌بیوتیکها نظیر داروهای بتالاکتام سبب وخامت حال بیماران در سپسیس باکتریهای گرم منفی می‌شود که با افزایش مقدار اندوتوکسین و واسطه‌های پیش‌التهابی در خون بیماران همراه است (۳، ۴، ۵). اندوتوکسین یا لیپوپلی‌ساکارید ترکیب لیپوپلی ساکارید غشا خارجی باکتریهای گرم منفی است و مشخص شده که مسئول اصلی رخدادهای سلولی است که به تولید بیش از نیاز واسطه‌های پیش التهابی و در نهایت به سپسیس و شوک سپتیک منجر می‌شود. استفاده از آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتامی سبب تخریب دیواره سلولی و رهایی لیپوپلی‌ساکارید به جریان خون می‌گردد. آزمایشات *in vitro* و *in vivo* افزایش مقدار لیپوپلی‌ساکارید و سایتوکینها را به دنبال تیمار باکتریهای گرم منفی با آنتی‌بیوتیکهای موثر بر دیواره سلولی به اثبات رسانیده‌اند(۵، ۶، ۷، ۸). در سپسیس باکتریهای گرم مثبت نیز تصویر بالینی شبیه به سپسیس باکتریهای گرم منفی است و تولید سایتوکینها و واسطه‌های پیش التهابی مشاهده می‌شود ولی باکتریهای گرم مثبت اندوتوکسین ندارند و ترکیبات مسئول برای رخدادهای فوق هنوز به خوبی مشخص نشده اند (۹، ۱۰، ۱۱).

نیتریک‌اکساید از واسطه‌های پیش‌التهابی موثر در سپسیس و شوک سپتیک است که با اتساع عروق باعث کاهش فشار خون به دنبال تزریق فاکتور نکروز دهندهٔ تومری و لیپوپلی‌ساکارید است. نیتریک‌اکساید در خون و مایع مغزی- نخاعی بیماران سپتیک قابل ردیابی است و مهار تولید یا حذف آن یکی از استراتژیهای درمانی است (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵). نیتریک‌اکساید توسط سه ایزوفرم مختلف آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز تولید می‌گردد. دو ایزوفرم این آنزیم (اپی‌تلیال و عصبی) به طور دایم بیان می‌شوند ولی نوع سوم (القایی) با ترکیباتی مانند: (LPS: Lipopoly Saccahride)، پپتیدوگلیکان (PG: Peptido Glycan)، لیپوتیکوییک‌اسید (LTA: Lipoteichoic Acid) و سایتوکینها القا می‌گردد. تولید نیتریک‌اکساید به دنبال تزریق لیپوپلی‌ساکارید، LTA و PG به حیوان آزمایشگاهی سبب کاهش فشارخون می‌شود و شواهد نشان می‌دهد که افزایش تولید نیتریک‌اکساید در نارسایی خون‌رسانی و آسیب چند عضوی در سپسیس دخالت دارد (۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷). این تحقیق اثر

تیمار آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس با آنتی بیوتیکهای بتالاکتامی سفتازیدیم، کلوگزاسیلین و آمپی‌سیلین بر تولید نیتریک‌اکساید از ماکروفاژهای موش بررسی می‌کند تا نشان دهد که ممکن است در سپسیس باکتریهای گرم مثبت هم نظیر باکتریهای گرم منفی، استفاده از آنتی‌بیوتیکهای موثر بر دیواره سلولی مانند بتالاکتامها بتواند سبب تحریک تولید واسطه‌های التهابی نظیر نیتریک اکساید گردد.

مواد و روشها

آنتی‌بیوتیکها

دو گروه اصلی از داروهای بتالاکتامی ساخت شرکت داروسازی کوثر در این تحقیق استفاده شد، آمپی‌سیلین و کلوگزاسیلین از پنی‌سیلینها و سفتازیدیم از سفالوسپورینها بودند.

تعیین MBC

برای تعیین حداقل غلظت کشنده هر آنتی‌بیوتیک (MBC)، ابتدا MIC (حداقل غلظت مهارکننده رشد) تعیین و سپس MBC آن دارو تعیین شد. برای تعیین MIC آنتی‌بیوتیکها برای استافیلوکوکوس اورئوس ATTCC 25923 از روش ماکرو براث دایلوشن پیشنهادی NCCLS استفاده شد (۱۸). به طور خلاصه، سریال رقت ۱ به ۲ از آنتی بیوتیکها در محیط مولر هینتون براث تهیه گردید. سپس سوسپانسیون باکتری در غلظت نهایی 5×10^5 واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر (CFU) به لوله‌های آزمایش اضافه شد و همراه با کنترل مثبت (فاقد آنتی‌بیوتیک) و کنترل منفی (فاقد باکتری) در ۳۷ درجه به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. اولین لوله‌ای که رشد باکتری متوقف شده بود (فاقد کدورت) به عنوان MIC در نظر گرفته شد و سپس از لوله MIC و چند لوله قبل از آن (لوله‌های فاقد کدورت) به مقدار ۰/۰۱میلی‌لیتر در پلیتهای حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و در ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. آن گاه تعداد کلونیها شمارش و مقدار واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر باکتری تعیین شد. MBC هر آنتی‌بیوتیک معادل غلظتی از دارو است که سبب کاهش تعداد باکتریها به مقدار ۹۹/۹درصد تعداد اولیه آنها شده باشد.

تیمار آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس

چند کلونی از استافیلوکوکوس اورئوس ATTCC 25923 رشد یافته در نوترینت آگار را برداشته و در ۵ میلی‌لیتر محیط مولر هینتون براث حل کرده و در ۳۷درجه به مدت یک شب گرماگذاری شد. آن‌گاه رقت ۱ به ۵۰ از سوسپانسیون باکتری در محیط جدید مولرهینتون براث تهیه و در ۳۷درجه تا مرحله رشد لگاریتمی (مقایسه با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که معادل تقریبا $1/5\times10^8$ واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر است) گرماگذاری شد. سپس باکتری در غلظت نهایی 1×10^7 واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر به محیط مولر هینتون براث حاوی هر کدام از آنتی‌بیوتیکهای مورد آزمایش در غلظت نهایی MBC به طور جداگانه تلقیح شد و در۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار گرماگذاری گردید. کشت کنترل فاقد آنتی بیوتیک بود. در فواصل زمانی ۴ ساعت (از زمان صفر تا ۲۴ ساعت) نمونه برداشته و شمارش کلونی در محیط مولر هینتون آگار جهت تعیین تعداد باکتری های زنده انجام شد. همچنین مایع رویی این نمونه‌ها پس از عبور از فیلترهای ۰/۴۵میکرون برای تحریک ماکروفاژها استفاده شد (۱۹، ۲۰).

تهیه ماکروفاژهای صفاقی

موشهای ماده ۶ تا ۸ هفته‌ای BALB/C برای تهیه ماکروفاژهای صفاقی مورد استفاده قرار گرفتند. محیط تیوگلیکولات براث ۴درصد استریل برای حساس کردن موشها به طور داخل صفاقی تزریق و پس از ۴۸ ساعت اگزودای صفاقی تهیه شد. آن‌گاه پس از سانتریفیوژ و شستشو با محیط RPMI۱۶۴۰ میزان سلولهای زنده تعیین شد و سلولها به تعداد 1×10^6 سلول بر هر چاهک به پلیتهای ۹۶ خانه‌ای حاوی محیط RPMI ۱۶۴۰ دارای ۱۰درصد سرم جنین گاو، ۴میلی‌مولار ال – گلوتامین، ۱۰۰ واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین اضافه شدند و در اتمسفر ۵درصد از گاز CO_2 گرماگذاری شدند. پس از ۳ ساعت، سلولها ۳ بار با محیط RPMI۱۶۴۰ فاقد سرم شسته شدند تا سلولهای چسبیده نشده خارج شوند و به سلولهای چسبیده به عنوان ماکروفاژهای صفاقی ۲۰۰نانوگرم میلی‌لیتر انترفرون گاما و مایع رویی باکتریهای تیمار شده بر آنتی‌بیوتیک و مایع رویی کشت کنترل باکتری اضافه شد. آن‌گاه پس از ۲۴ ساعت مایع رویی کشت سلولی جمع‌آوری و برای تعیین مقدار نیتریک اکساید استفاده شد (۲۱).

اندازه‌گیری نیتریک اکساید

نیتریک اکساید ترکیب بسیار ناپایدار است و لذا برای اندازه‌گیری نیتریک‌اکساید در مایع‌رویی کشت ماکروفاژ مقدار محصول حاصل از تجزیه آن یعنی مقدار نیتریت با معرف گریس اندازه‌گیری می‌شود. به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از معرف گریس (متشکل از محلول ۱درصد سولفانیل‌آمید در آب و محلول ۰/۱ در صد نفتیل اتیلن دی آمید در ۵درصد از H_2PO_4) به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های مایع رویی کشت ماکروفاژ در چاهکهای پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه و مخلوط می‌گردد. از غلظتهای مختلف نیتریت‌سدیم برای رسم منحنی استاندارد جهت اندازه‌گیری مقدار نیتریت نمونه ها استفاده می‌شود. پس از ۱۰ دقیقه مقدار جذب نوری نمونه‌ها در A_{540} دستگاه الیزاریدر قرائت و پس از رسم منحنی استاندارد و با استفاده از معادله خط رگرسیون، مقدار نیتریت محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از آزمون آماری t-student و با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری SPSS و Ecxel داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج، حاصل میانگین حداقل سه بار تکرار آزمایشات می‌باشد و مقدار $p<0/05$ با ارزش تلقی گردیده است.

یافته‌ها

نتایج MBC

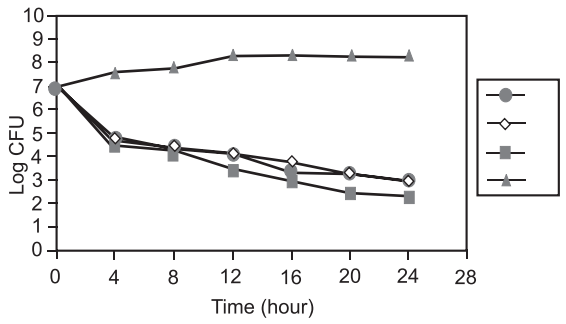
در جدول یک نتایج مربوط به تعیین MBC آنتی‌بیوتیکها برای استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، مقدار MBC برای سفتازیدیم (MBC=۶۴، MIC=۱۶) و کلوگزاسیلین (MBC =۱، MIC=۰/۲۵) دو رقت بالاتر از MIC و برای آمپی سیلین (MBC=۰/۹۶، MIC=۰/۰۶)۴ رقت بالاتر است.

اثر تیمار آنتی‌بیوتیکها

پس از ۱۶ ساعت تعداد باکتریها در کشت کنترل (فاقد آنتی‌بیوتیک) از ۱×۱۰^{۷} واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر (تعداد اولیه) به $۲۲/۵\times۱۰^{۷}$ واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر رسید که پس از آن تعداد باکتریهای زنده رو به کاهش گذاشت و پس از ۲۴ ساعت به $۲۲/۳\times۱۰^{۷}$ واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر رسید. ولی تعداد باکتریهای تیمار شده با هرسه آنتی‌بیوتیک روند کاهشی با افزایش زمان نشان دادند و پس از ۱۶ ساعت تعداد آنها با تیمار سفتازیدیم، آمپی‌سیلین و کلوگزاسیلین به ترتیب به $۱۰^{۳}$، $۶/۸\times۱۰^{۳}$ و $۷/۴\times۱۰^{۳}$ واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر و پس از ۲۴ ساعت به ترتیب به ۲×۱۰^{۲}، ۱۰×۱۰^{۲} و ۱۰×۱۰^{۲} واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر رسید. اثر باکتریوسایدی سفتازیدیم (در۱۲ ساعت) سریع‌تر (کاهش $۱۰^{۳}$ واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر در تعداد باکتریهای اولیه) از آمپی‌سیلین و کلوگزاسیلین (در۱۶ ساعت) بود (نمودار ۱).

جدول ۱: مقدار MIC و MBC آنتی‌بیوتیکها برای استافیلو کوکوس اورئوس

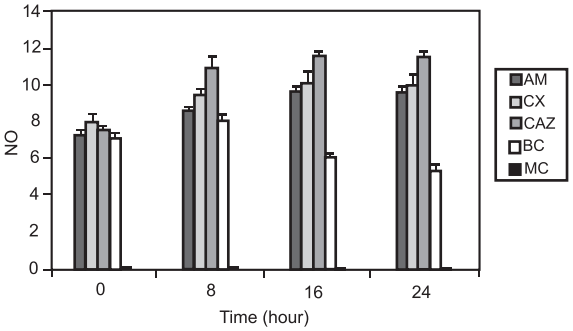
آنتی‌بیوتیکها	MICs (µg/ml)	MBCs (µg/ml)
سفتازیدیم	۱۶	۶۴
آمپی‌سیلین	۰/۰۶	۰/۹۶
کلواگزاسیلین	۰/۲۵	۱



نمودار ۱: کلونی کانت باکتری در بررسی زمان- مرگ با تعداد اولیه ۱×۱۰^{۷} واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر در محیط مولر هینتون براث. AM، CX و CAZ به ترتیب کشت باکتری تیمار شده با آمپی سیلین، کلواگزاسیلین و سفتازیدیم، BC کشت کنترل (فاقد آنتی بیوتیک).

تولید نیتریک اکساید

مقدار پایه نیتریک‌اکساید در نمونه کنترل کشت ماکروفاژ (کشت سلول فاقد نمونه مایع رویی کشت باکتری) ۱/۳ میکرومولار بر میلی‌لیتر بود در حالی که مقدار آن در نمونه‌های مایع رویی باکتری تیمار شده با آنتی بیوتیکها بسیار بالا بود و همان طور که نمودار دو نشان می‌دهد در نمونه کشت باکتری کنترل (فاقد آنتی‌بیوتیک) نیز مقدار نیتریک‌اکساید نسبت به مقدار پایه بالا است ولی در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیک پایین است (پس از ۲۴ ساعت ۴/۵ میکرومولار بر میلی‌لیتر برای کشت باکتری کنترل در برابر ۱۱/۵، ۹/۷، ۱۰/۱ میکرومولار بر میلی‌لیتر به ترتیب برای سفتازیدیم، آمپی‌سیلین و کلوگزاسیلین). به طوری که اختلاف معنی دار آماری($p<۰/۰۵$) بین مقدار نیتریک‌اکساید تولید شده با نمونه‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیکها و نمونه کشت باکتری کنترل مشاهده می‌شود. با اینکه تیمار با سفتازیدیم سبب تولید نیتریک‌اکساید زیادتری شده است ولی اختلاف خیلی قابل ملاحظه نیست. همچنین مطابق با نمودار یک و دو تولید نیتریک‌اکساید مستقل از تعداد واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر باکتری است.



نمودار ۲: اندازه گیری مقدار نیتریک اکساید (میکرومولار بر میلی‌لیتر) در مایع‌رویی کشت ماکروفاژهای موش. AM، CX و CAZ به ترتیب نمونه کشت باکتری تیمار شده با آمپی‌سیلین، کلواگزاسیلین و سفتازیدیم، BC نمونه کشت کنترل (فاقد آنتی‌بیوتیک) و MC نمونه کشت سلولهای ماکروفاژ تیمار نشده

بحث

باکتریهای گرم مثبت از عوامل مهم سببی در سپسیس و شوک سپتیک هستند. در بعضی از آنها اگزوتوکسینها و در تعدادی نیز تولید زیاد سایتوکینها و واسطه‌های التهابی در ایجاد سپسیس نقش دارند (۱، ۳، ۴). تحقیقات مختلف در سالهای اخیر نشان می‌دهد که ترکیبات دیواره سلولی باکتریهای گرم مثبت نظیر پپتیدوگلیکان و اسید لیپوتیکوئیک می‌توانند سبب پاسخهای التهابی با تحریک تولید سایتوکینها و واسطه‌های التهابی شوند (۱۰، ۱۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴). هدف اصلی این تحقیق نشان دادن اثر تیمار آنتی‌بیوتیکی بر استافیلوکوکوس اورئوس در تحریک تولید یکی از واسطه‌های التهابی اصلی (نیتریک‌اکساید) در سپسیس و شوک سپتیک بود. نتایج نشان داد که مایع‌رویی حاصل از باکتریهای تیمار شده با سه آنتی‌بیوتیک بتالاکتامی سبب تحریک تولید

معنی‌دار ($p<0/05$) نیتریک‌اکساید نسبت به مایع رویی کشت باکتری کنترل (بدون تیمار آنتی‌بیوتیکی) شده است و علی‌رغم کم شدن تعداد باکتریها در اثر تیمار آنتی‌بیوتیکی در ساعات ۱۶ و ۲۴ و افزایش قابل ملاحظه تعداد آنها در کشت کنترل (حدود ۲۲ برابر)، نیتریک‌اکساید مستقل از تعداد واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر باکتریها تولید شده است. بنابراین تیمار آنتی‌بیوتیکی سبب ایجاد ترکیباتی از باکتری شده، که توان تحریک واسطه‌های التهابی را دارند (نمودار ۱ و ۲). آنتی‌بیوتیکهای استفاده شده در این تحقیق از گروه بتا لاکتامها هستند و براساس مکانیسم اثر، سبب مهار ساخت دیواره سلولی و در نتیجه رهایی پیش‌سازهای پپتیدوگلیکان و اسیدلیپوتیکوییک می‌شوند. Langeveld و همکاران نیز نشان دادند که مایع رویی استافیلوکوکوس اورئوس تیمار شده با آنتی‌بیوتیکهای بتا لاکتامی امی‌پنم، فلوکلواگزاسیلین و سفاماندول موجب ترشح مقدار زیادی اینترلوکین ۸ و افزایش چسبندگی گرانولوسیتها در مقایسه با مایع‌رویی حاصل از تیمار با آنتی‌بیوتیکهای مهار کننده سنتز پروتیین اریترومایسین، کلیندامایسین و جنتامایسین می‌شود (۱۹). آنها همچنین نشان دادند که بتالاکتامها سبب رهایی مقدار زیادی قطعات پپتیدوگلیکان و اسیدلیپوتیکوییک می‌شوند. Kengatharan و همکاران هم نشان دادند که قطعات پپتیدوگلیکان و اسید لیپوتیکوییک استافیلوکوکوس اورئوس می‌توانند در مدل حیوانی رت سبب تشکیل نیتریک‌اکساید، شوک و آسیب عضو شوند. آنها همچنین تولید نیتریک‌اکساید را با اجزا دیواره سلولی باکتری فوق از سل‌لاین ماکروفاژی J۷۷۴/۲ نیز گزارش نموده اند (۱۷). افزون بر این اجزا دیواره سلولی استافیلوکوکوس اورئوس سبب تحریک بیان فاکتور بافتی، فاکتور نکروز دهنده تومری الفا و اینترلوکین ۶ و ۱۰ از سلولهای منوسیتی انسان شده است (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵). Sehnerider و همکاران نیز تولید فاکتور نکروز دهنده تومری الفا و اینترلوکین ۶ را از استافیلوکوکوس اورئوس کشته شده با آنتی‌بیوتیکها را نشان دادند (۲۶).

مقدار نیتریک‌اکساید در کشت کنترل نسبت به مقدار پایه آن در سلولهای تحریک نشده ماکروفاژ زیاد بود. زیرا دیواره سلولی باکتری در طی رشد پیوسته در حال ساخت و تخریب است و قطعاتی از آن می‌تواند در مایع رویی کشت رها شده و سبب تحریک ماکروفاژها و تولید نیتریک اکساید گردد ولی همان طور که اشاره شد، این مقدار بسیار کمتر از نمونه کشت‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیکهاست. مقدار تولید نیتریک‌اکساید با مایع رویی هر سه آنتی‌بیوتیک اختلاف زیادی را نشان نمی‌دهد و همان طور که در نمودارهای یک و دو مشاهده می‌شود اثر این سه آنتی‌بیوتیک بر باکتری مشابه و کاهش واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر و میزان تولید نیتریک‌اکساید روند هماهنگ دارد و سفتازیدیم با اثر سریع‌تر از دو آنتی‌بیوتیک دیگر سبب تولید مقدار بیشتری از نیتریک‌اکساید هم شده است که البته اختلاف چندان فاحش نیست. هر چند در این تحقیق اثر تیمار آنتی‌بیوتیکی بر رهایی قطعات پپتیدوگلیکان و اسیدلیپوتیکوییک مستقیما اندازه گیری نشده است ولی طبق شواهد و با توجه به مکانیسم اثر داروهای بتالاکتامی به نظر می‌رسد که تیمار باکتری با این آنتی‌بیوتیکها سبب تخریب دیواره سلولی و رهایی اجزای آن می‌گردد. در حالی که سایر گروههای آنتی‌بیوتیکی که باکتریها را بدون متلاشی‌سازی و رهایی اجزا آن می‌کشند نظیر آنتی‌بیوتیکهای موثر بر سنتز پروتیین، اثرات کمتری در تحریک تولید واسطه‌های التهابی دارند (۱۹).

References

1. Friedman G, Silva E, Vincent JL: Has the mortality of septic shock changed with time? Care Med. 1998, 26: 2078-2086

2. Opal S, Cross AC: Clinical trails for severe sepsis: past failures and future hopes. Infect Dis Clin N Am. 1999; 13: 285-298

3. Tracey KJ, Lowery SF: The role of cytokine mediators in septic shock. Adv Surg. 1990; 23(23): 21-56

4. Parrillo JE: Pathogenetic mechanisms of septic shock. N. Engl. J Med 1993; 328: 1471-1477

5. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, Revhaug A, O'Dwyer S, Dinarello CA, Cerami A, Wolff SM, Wilmore DW: Detection of circulating tumore necrosis factor after endotoxin adminstration . N Engl J Med 1992; 318: 1421-28

6. Lesson MC, Fujihora Y, Morrison D: Evidence for lipopolysaccahride as the predominant proinflammatory mediator in supernatants of antibiotic-treated bacteria. Infect Immun. 1994; 62: 4975-4980

7. Prins JM, Kuijper EJ, Mevissen ML, Speelman P, Van Deventer SJ: Release of tumor necrosis factor alpha and interlukin 6 during antibiotic killing of E.coli in whole blood: Influence of antibiotic class, antibiotic concentration, and presence of septic shock. Infect. Immun. 1995; 63: 2236-2242

8. Nau R, Eiffert H: Modulation of proinflammatory bacterial compounds by antibacterials: Potential impact on course of inflammation and outcome in sepsis and meningitis. Clin Microbiol Rev. 2002; 15: 95-110

9. Opal SM, Cohen J: Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? Crit Care Med. 1999; 27:1608-1616

10. Wang ZM, Liu C, Dziarski R: Chemokines are the main proinflammtory mediators in human monocytes

activated by staphylococcus aureus, peptidoglycan, and endotoxin. J Biol Chem. 2000; 275: 20260-20267
11. Wray GM, Foster SJ, Hinds CJ, Thiemermann C: A cell wall component from pathogenic and non-pathogenic gram-positive bacteria synergies with endotoxin to cause the release of Tumor necrosis factor alpha and NO production, shock and multiple organ injury/dysfunction in the rat. Shock. 2001; 15: 135-142
12. Mandell, Douglas, Bennett: Principles and practice of infections disease. Fifth edition, 2000; 1(63): 63 806-819
13. Cobb JP, Danner RL: Nitric Oxide and septic shock . J Am Med Assoc. 1996; 275: 1192-1196
14. Wlof TA, Dasta JF: Use of nitric oxide synthase inhibitors as a novel treatment for septic shock . Ann Pharmacothe. 1995; 29: 36-46
15. Shenep JL, Tuomanen E: Targeting nitric oxide in the adjuvant therapy of sepsis and meningitis. J Infect Dis 1998; 177: 776-779
16. Petros A, Bennett D, Vallance P: Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock Lancet. 1991; 338: 1557-1558
17. Kengatharan KM, De Kimpe S, Roboson C, Foster SJ, Thiemermann C: Mechanism of gram-positive shock: identification of peptidoglycan and lipoteichoic acid moieties essential in the induction of nitric oxide synthase, shock and multiple organ failure. J Exp Med 1998; 188: 305-315
18. Waitz JA: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. NCCLS, 2th edition, New York: 1997; 10: 1-31
19. Langevelde E, Ravensbergen P, Grashoff P, Beekhuizen H, Groeneveld PHP, Dissel JT: Antibiotic-induced cell wall fragments of Staphylococcus aureus increase endothelial chemokine secretion and adhesiveness for granulocytes. Antimicrob. Agents Chemother. 1999; 43: 2984-89
20. Stuertz K, Schmidt H, Eifffert H, Schwartz P, Mader M, Nau R: Differential release of lipotechoic and teichoic acids from S.pneumoniae as a result of exposure to β-lactam antibiotics, Rifamycins, Trovafloxacin, and Quinupristin-Dalfopristin. Antimicrob. Againts Chemother. 1998; 42(2): 277-281
21. Kirikae T, Kirikae F, Saito S, Tominaga K, Tamura H, Uemura Y, Yokochi T, Nakano M: Biological characterization of endotoxin released from antibiotic-treated P.aeruginosa and E.coli. Antimicrob. Againts Chemother 1998; 42(5): 1015-1021
22. Mattsson E, Herwald H, Bjorck L, Egesten A: Peptidoglycan from staphylococcus aureus induce tissue factor expression and procoagulant activity in human monocytes. Infect Immun 2002; 70: 3033-3039
23. Heumann D, Barras C, Severin A, Glauser MP, Tomasz A: Gram-positive cell walls stimulate synthesis of Tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 by human monocytes. Infect Immun 1994; 62: 2715-2721
24. Kim YS, Tauber MG: Neurotoxicity of glia activated by gram-positive bacterial products depend on nitric oxide production. Infect Immun 1996; 64: 3148-53
25. Wang JE, Jorgenson PE, Almlof M, Thiemerann C, Foster SJ, Aasen AO, Solberg R: Peptidoglycan and lipoteichoic acid from staphylococcus aureus induce of Tumor necrosis factor alpha and interleukin-6(IL-6), and IL-10 production in both Tcells and monocytes in human whole blood model. Infect Immun 2000; 68: 3965-3970
26. Schneider CM, Huzly D, Vetter C, von Specht BU, Daschner FD: Tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 release induced by antibiotic killing of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. Eur J Clin Mcrobiol Infect Dis. 1997; 16: 467-47