

تأثیر توأم میدانهای الکترومغناطیس و آنتی بیوتیک پلی میکسین بر رشد سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس

چکیده:

مقدمه و هدف: انسان در زندگی کنونی خویش روز به روز بیشتر در معرض عوامل محیطی حاصل از فعالیتهای علمی خود قرار می گیرد. یکی از این عوامل میدان های الکترومغناطیس می باشند. این میدان ها اثر خود را بر سلولها از طریق ایجاد تغییرات در غشاء سلولی اعمال می کنند. از طرفی آنتی بیوتیک پلی میکسین نیز باعث ایجاد اختلال در غشاء سلولی باکتری ها می گردد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر توأم میدانهای الکترو مغناطیس و آنتی بیوتیک پلی میکسین بر رشد سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس است.

مواد و روش کار: این مطالعه تجربی در آزمایشگاه بیو تکنولوژی بخش زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز بر روی دو نمونه باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا در سال ۱۳۸۲ انجام گرفت. باسیلوس سرئوس نسبت به پلی میکسین مقاوم و سودوموناس آئروژینوزا نسبت به این آنتی بیوتیک حساس بود. اثر توأم میدان مغناطیسی با شدت ۱۲ و ۲۱ گوس برای مدت زمان های گوناگون همراه با اثر این آنتی بیوتیک بر رشد باکتری های مذکور مطالعه گردید. پس از کشت باکتری ابتدا به محیط لاکتوز برات و سپس به محیط بافر M9 منتقل و بعد در معرض میدان مغناطیسی قرار داده شد. سپس باکتری روی محیط مولر هیتون آگار کشت داده شد و دیسکهای آنتی بیوتیک پلی میکسین بر روی آن انکوبه گذاری گردید. آزمایش در بیست تکرار انجام شد و قطر هاله های اطراف دیسکها اندازه گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس صورت پذیرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که میدان الکترومغناطیس ۱۲ گوس همراه با پلی میکسین دارای تأثیر معنی داری بر الگوی مقاومت باسیلوس سرئوس یا الگوی حساسیت سودوموناس آئروژینوزا نیست. میدان الکترومغناطیس ۲۱ گوس تأثیری بر حساسیت سودوموناس نسبت به پلی میکسین ندارد، اما الگوی مقاومت باسیلوس سرئوس نسبت به این آنتی بیوتیک را تغییر می دهد. به طوری که از زمان صفر تا دو ساعت این میدان تأثیری بر مقاومت باسیلوس نسبت به پلی میکسین نداشت، ولی در زمان های سه ساعت یا بیشتر باعث پاسخ حد واسط نسبت به این دارو می شد.

نتیجه گیری: این احتمال وجود دارد که با استفاده توأم از ترکیبات شیمیایی و میدان های الکترومغناطیس بتوان از رشد باکتری ها در موارد ناخواسته جلوگیری نمود.

واژه های کلیدی: میدان الکترومغناطیس، پلی میکسین، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس

دکتر حسن محبت کار*

*دکتری در بیوتکنولوژی، استادیار و عضو هیئت علمی دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

تاریخ وصول: ۱۳۸۲/۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۲/۹/۲۴

مؤلف مسئول: دکتر حسن محبت کار

پست الکترونیکی: mohabatkar@susc.ac.ir

مقدمه

الکتريک و زمان پالس الکتریکي بستگی دارد [۵].
پاره ای از تحقیقات اثرات این میدانها بر بیان ژن ها
را نشان می دهد [۶ و ۷]. اغلب مطالعات انجام شده که
به بررسی اثرات میدان های الکترو مغناطیس
می پردازند با استفاده از سیستم های یوکاریوتی
می باشد و مطالعات کمتری روی سیستم های
پروکاریوتی انجام پذیرفته است [۸].

باسیلوس سرئوس یک باسیل گرم مثبت
است که باعث عفونتهایی مانند آلودگی های تنفسی و
عفونتهای ادراری در بیماران تحت همودیا لیز،
اندوکاردیت در معتمدان به مواد مخدر،
مسمومیت های غذایی و عفونت زخم ها می شود.
محصولات جنس باسیلوس اهمیت زیادی در پزشکی،
تحقیقات آزمایشگاهی و کشاورزی دارند. برخی از این
مواد عبارتند؛ از آنتی بیوتیک با سیترا سین،
پنی سلیناز، آنزیم های محدود کننده DNA و
گلیکوپروتئین های کریستاله [۹]. سودوموناس
آئروژینوزا یک باسیل گرم منفی غیر تخمیر کننده
است. این میکروارگانیسم به ندرت در اشخاص سالم
ایجاد بیماری می کند، ولی در اشخاص با نقص
سیستم ایمنی و برخی از بیماران سرطانی می تواند به
صورت یک پاتوژن عمل کند. سودوموناس
آئروژینوزا می تواند در زخم های جراحی و
تروماهای شدید مانند؛ سوختگی ها و زخم باعث
عفونت شدید شود. بیشتر سویه های سودوموناس

1- Bacillus polymyxa

میدان های الکترو مغناطیس اثر زیان آور
خود را از طریق ایجاد سوراخ هایی در غشاء
سیتوپلاسمی اعمال می کنند [۱]. پلی میکسین یک
پلی پپتید حلقوی است که به وسیله باسیلوس
پلی میکسا^(۱) تولید می شود و چون دارای چند گروه
بازی و یک قسمت الکیل طولانی است شبیه دترژنتهای
کاتیونی است. این دسته آنتی بیوتیکها به غشاء وصل
می شوند و تنها آنتی بیوتیکهایی هستند که برای
سلولهایی که رشد نمی کنند کشنده هستند [۲]. با
توجه به این که پلی میکسین و میدان های
الکترومغناطیس بر غشاء سلول ها تأثیر می گذارد [۳]،
این احتمال وجود دارد که استفاده توأم آنها بتواند
باعث بروز اثر سینرژیک گردد. بنابراین استفاده از
این آنتی بیوتیک به همراه تیمار الکترومغناطیس،
ممکن است بتواند میزان مقاومت میکروارگانیسم ها
را تغییر دهد، به صورتی که میکروارگانیسم ها
حساسیت بیشتری نسبت به این تیمارها پیدا کنند.
هنگامی که سلول ها در معرض میدانهای الکتریکي
قرار می گیرند، یونهای داخل و خارج سلول به سوی
قطب مخالف حرکت می کنند و پیامد آن این است که
بارهای آزاد در دو طرف غشاء تجمع می یابند، این
پدیده باعث افزایش پتانسیل غشاء و کاهش ضخامت
آن می گردد [۴]. از سوی دیگر مولکولهای لیپیدهای
قطبی در غشاء تغییر موقعیت می دهند. این تغییر
موقعیت سد غشائی مقابل یونها را از بین می برد.
میزان افزایش نفوذ پذیری یون ها به شدت میدان

۲۲۰ ولت میدانی با شدت ۲۱ گوس^(۱) اتصال آن به برق ۱۱۰ ولت شدت میدانی برابر ۱۲ گوس تولید می نمود.

کشت باکتری بر اساس روش استاندارد انجام شد [۹]. ابتدا باکتری مورد نظر به محیط لاکتوز برات منتقل و ۲۰ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پس از آن، باکتری به محیط بافر M₉ منتقل و پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای اطاق در معرض میدان مغناطیسی قرار داده شد. زمان قرار گرفتن در معرض میدان از ۵ دقیقه تا ۵ ساعت متغیر بود. سپس باکتری روی محیط مولر هینتون آگار^(۲) کشت چمنی داده شد. پس از قرار دادن دیسک های آنتی بیوتیک بر روی کشت، پتری ها ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه گذاری گردید. آزمایش در ۲۰ تکرار انجام شد. پس از طی این زمان قطر هاله های اطراف دیسک ها اندازه گیری گردید .

تفسیر ناحیه مهار کنندگی آنتی بیوتیک انجام شد. برای ارزیابی ناحیه مهار کنندگی اطراف هر دیسک آنتی بیوتیک از میانگین قطر هاله ها (در ۲۰ تکرار) استفاده گردید. قطر نواحی بازدارنده ۸ میلیمتر یا کمتر، بین ۹ تا ۱۱ میلیمتر و ۱۲ میلیمتر یا بیشتر به ترتیب مقاوم، حدواسط و حساس تفسیر شد [۱۲].

اطلاعات مربوط به قطر هاله ایجاد شده پیرامون دیسکهای آنتی بیوتیک در محیط کشت به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید. به منظور ارزیابی تأثیر شدت میدان و مدت زمان قرار

آئروژینوزا نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیکهای مورد استفاده مقاوم هستند [۱۰].

پلی میکسین در غلظتهایی بسیار پایین تر از آنچه دترژنتهای کاتیونی استفاده می شوند، مورد استفاده قرار می گیرد. علت انتخابی بودن آن مربوط به توانایی آن در تشکیل کمپلکس با فسفاتیدیل اتانول امین و لیپولی ساکاریدها و گرایش بسیار کمتر آن به فسفاتیدیل کولین (یک ترکیب در غشاء سلول جانوری که در باکتری ها وجود ندارد) است. به علت نفروتوکسی سیتی آن، پلی میکسین معمولاً به صورت سیستمیک (به جز ضد سودوموناس آئروژینوزا) مورد استفاده قرار نمی گیرد [۱۱]. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر توأم میدانهای الکترو مغناطیس و آنتی بیوتیک پلی میکسین بر رشد سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس است.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی بخش زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز بر روی دو نمونه باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا در سال ۱۳۸۲ انجام گرفت .

دستگاه ایجاد میدان الکترو مغناطیس، سیم پیچ ۶۳۰۰ دوری با سیم روپوش دار ۰/۶ میلی متری که به دور استوانه ای به قطر ۱۸ سانتیمتر و طول ۱۸ سانتیمتری پیچیده شده بود و ۱۸/۴ کیلوگرم وزن داشت ساخته شد. اتصال سیم پیچ مستقیماً به برق

1- Gaus
2- Muler Hinton Agar

گرفتن باکتریها در میدان و اثرات متقابل این دو بر یکدیگر و بر اندازه هاله تشکیل شده، آنالیز واریانس با بهره گیری از مدل خطی عمومی^(۱) انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با استفاده از نرم افزار رایانه ای SPSS^(۲) صورت پذیرفت.

یافته ها

نتایج بررسی اثر توأم میدانهای الکترومغناطیس و آنتی بیوتیک پلی میکسین بر باکتریهای باسیلوس سرئوس و سودوموناس آئروژینوزا در جدول ۱ نشان داده شده است. نتیجه این آزمایش نشان می دهد که میدان الکترو مغناطیس ۱۲ گوس همراه با پلی میکسین دارای تأثیر

معنی داری بر الگوی مقاومت (در مورد باسیلوس سرئوس) و یا الگوی حساسیت (در مورد سودوموناس آئروژینوزا) نیست. هنگامی که آزمایش برای میدان الکترو مغناطیس ۲۱ گوس انجام شد، نشان داد که میدان تأثیری در حساسیت سودوموناس نسبت به پلی میکسین نداشت، اما الگوی مقاومت باسیلوس سرئوس نسبت به آنتی بیوتیک را تغییر می دهد. از زمان صفر دقیقه تا دو ساعت میدان تأثیری بر مقاومت باسیلوس نسبت به پلی میکسین نداشت، ولی در زمانهای ۳ ساعت یا بیشتر پاسخ حد واسط نسبت به دارو مشاهده می شود.

جدول ۱: تأثیر توأم زمان قرار گرفتن در معرض میدان های الکترو مغناطیس و آنتی بیوتیک پلی میکسین بر رشد باکتریهای سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس

باسیلوس سرئوس		سودوموناس آئروژینوزا		زمان
۲۱ گوس	۱۲ گوس	۲۱ گوس	۱۲ گوس	
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۰ دقیقه
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۵ دقیقه
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۱۵ دقیقه
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۳۰ دقیقه
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۱ ساعت
مقاوم	مقاوم	حساس	حساس	۲ ساعت
حد واسط	مقاوم	حساس	حساس	۳ ساعت
حد واسط	مقاوم	حساس	حساس	۴ ساعت
حد واسط	مقاوم	حساس	حساس	۵ ساعت

هاله ممانعت رشد باسیلوس در میدان ۲۱ گوس نسبت به ۱۲ گوس وجود دارد ($t = 5/482$ ، $df = 358$ ، $p < 0/001$)، در حالی که میانگین قطر هاله ممانعت رشد

جدول ۲ نشان دهنده میانگین قطر هاله ممانعت رشد برای سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس در میدان های الکترومغناطیس با شدت ۱۲ و ۲۱ گوس می باشد. مقایسه میانگین ها نشان دهنده این است که تفاوت آماری معنی داری بین قطر

1- General Linear Model
2-Statistical Package for Social Science

جدول ۳: میانگین قطر هاله ممانعت رشد برای سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس در زمانهای گوناگون

انحراف معیار	میانگین	تعداد	زمان (دقیقه)	گونه باکتری
سودوموناس				
۱/۰۷	۱۳/۰۳	۴۰	صفر	آئروژینوزا
۱/۰۲	۱۲/۸۰	۴۰	۵	
۱/۰۳	۱۲/۵۸	۴۰	۱۰	
۱/۰۳	۱۲/۹۸	۴۰	۳۰	
۱/۰۰	۱۲/۷۸	۴۰	۶۰	
۱/۰۰	۱۳/۰۲	۴۰	۱۲۰	
۱/۰۸	۱۵/۵۷	۴۰	۱۸۰	
۱/۰۵	۱۵/۶۵	۴۰	۲۴۰	
۱/۱۴	۱۵/۹۳	۴۰	۳۰۰	
باسیلوس				
سرئوس				
۱/۲۷	۴/۸۵	۴۰	صفر	
۱/۴۴	۴/۶۸	۴۰	۵	
۱/۳۹	۵/۰۳	۴۰	۱۰	
۱/۴۱	۵/۱۸	۴۰	۳۰	
۱/۳۵	۵/۰۷	۴۰	۶۰	
۱/۱۵	۵/۴۸	۴۰	۱۲۰	
۲/۴۹	۸/۶۰	۴۰	۱۸۰	
۲/۱۳	۸/۶۸	۴۰	۲۴۰	
۱/۸۸	۸/۵۰	۴۰	۳۰۰	

نتایج تحلیل واریانس قطر هاله ممانعت رشد

برای سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از روش مدل خطی عمومی نشان می دهد که مدت زمان مواجهه با میدان الکترومغناطیس دارای اثر معنی داری بر میانگین قطر هاله ممانعت رشد می باشد (F= ۷۵/۱۴۱ ، p< ۰/۰۰۱) در حالی که شدت میدان الکترومغناطیس (F= ۰/۰۲۳) و اثر متقابل مدت زمان در شدت میدان بر قطر هاله ممانعت رشد (F=۱/۱۰۹) تأثیر آماری معنی داری ندارد.

نتایج تحلیل واریانس قطر هاله ممانعت رشد

برای باسیلوس سرئوس نشان دهنده تأثیرات معنی دار

در محیط کشت سودوموناس که مواجهه با میدان ۲۱ و ۱۲ گوس بوده است از نظر آماری معنی دار نمی باشد (df=۳۵۸ ، t=۰/۰۹).

جدول ۳ نشان دهنده میانگین قطر هاله ممانعت رشد باکتری های مورد مطالعه به تفکیک زمان مواجهه با میدان الکترومغناطیس می باشد. آنالیز ضریب همبستگی میانگین قطر هاله ایجاد شده و مدت زمان مواجهه نشان می دهد که همبستگی معنی داری برای کشت های سودوموناس (p<۰/۰۰۱ ، df=۳۵۸ ، I=۰/۷۳۷) و باسیلوس (p= ۰/۰۰۱ ، df= ۳۰۸ ، I=۰/۶۶۶) وجود دارد. شدت میدان الکترومغناطیس و مدت زمان موجود بر میانگین قطر هاله های ایجاد شده به وسیله پلی میکسین مؤثر می باشد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با استفاده از آنالیز واریانس انجام شد (جدول ۲ و ۳).

جدول ۲: میانگین قطر هاله ممانعت رشد برای سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس در میدانهای الکترومغناطیس ۱۲ و ۲۱ گوس

انحراف معیار	میانگین	تعداد	شدت میدان (گوس)	گونه باکتری
۱/۵۷	۵/۵۷	۱۸۰	۱۲	سودوموناس آئروژینوزا
۲/۸۰	۶/۸۸	۱۸۰	۲۱	
۱/۷۸	۱۳/۸۱	۱۸۰	۱۲	باسیلوس سرئوس
۱/۶۳	۱۳/۸۲	۱۸۰	۲۱	

مدت زمان مواجهه ($F=77/337$ ، $p < 0/001$)، شدت میدان ($F=93/698$ ، $p < 0/001$) و اثر متقابل مدت زمان مشابه و شدت میدان ($F=19/406$ ، $P < 0/001$) بر قطر هاله ممانعت رشد می باشد. نتایج حاصل نشان می دهند که اگر چه تغییرات شدت میدان الگوی حساسیت باکتری سودوموناس نسبت به پلی میکسین را تغییر نمی دهند، زمان قرار گرفتن در معرض میدان دارای اثر معنی داری بر روی میزان این حساسیت می باشد. همچنین نشان داده شد که به طور کلی میدان، تغییرات شدت میدان الکترو مغناطیس و زمان قرار گرفتن در معرض میدان دارای تأثیرات معنی داری بر میزان مقاومت باسیلوس سرئوس نسبت به پلی میکسین هستند.

بحث و نتیجه گیری

با افزایش میزان زندگی شهر نشینی و این واقعیت که کاربرد الکتریسیته در زندگی ما در حال افزایش است، انسان و بسیاری از موجودات زنده دیگر در معرض میدان های الکترومغناطیس قرار دارند. تأثیرات این میدانها به وسیله دانشمندان گوناگون بر روی فاکتورهایی چون سنتز DNA، RNA و پروتئین، تکثیر سلولی، حرکت کاتیونها، پاسخ ایمنی و سیگنالهای غشاء سلولی گزارش گردیده است [۱۳]، به طور کلی برخی از محققان بر این باورند که میدانهای الکترومغناطیس دارای اثراتی زیان بار بوده و برخی این نظریه را رد می کنند. به عنوان مثال مطالعه اثرات

میدانهای الکترومغناطیس روی مخمر با استفاده از روش الکتروفورز آسیب ژنومی خاصی را نشان نداده است [۱۴].

مورانندی و همکاران^(۱) (۱۹۹۶) در یک مطالعه اپیدمیولوژی رابطه قرار گرفتن در معرض میدانهای الکترومغناطیس و بروز سرطان را به وسیله تست آمیس^(۲) مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که رابطه خاصی بین این دو پدیده وجود ندارند [۱۵]. در تحقیق دیگری مشخص شد که سنتز پروتئین در پروکاریوتهای کوچک (با ابعاد کمتر از $2 \times 0/5$ میکرون) در درجه حرارت ثابت میدانهای الکترومغناطیس قرار نمی گیرد [۱۶].

هاینیک و همکاران^(۳) (۲۰۰۳) نیز در یک مقاله مروری در مورد اثرات ژنوتوکسیستیه میدانهای الکترومغناطیس نوشته اند که نمی توان این میدانها را ژنوتوکسیک دانست [۱۷]. با این وجود با پیشرفت تکنیکهای بیولوژی مولکولی تأثیرات میدانهای الکترومغناطیس بر برخی پدیده ها هم در پروکاریوتها و هم در یوکاریوتها بیشتر مشخص شده است. یکی از بهترین مثالها تولید بیشتر پروتئین های شوک حرارت در موجوداتی است که در معرض میدانها قرار گرفته اند [۱۸].

در تحقیق حاضر اثر توأم پلی میکسین یک آنتی بیوتیک که عمل آن (تأثیر بر غشاء سلولی) مشابه

1-Morandi etal
2-Ames
3-Heynik etal

میدانهای الکترو مغناطیس است [۱۹] و میدان الکترومغناطیس بر رشد یک باکتری گرم مثبت مقاوم (باسیلوس سرئوس) و یک باکتری گرم منفی حساس (سودموناس آئروزیوزا) در زمانها و دماهای یکسان مطالعه گردیده است، به طور کلی نتایج نشان می دهد که میدانهای الکترومغناطیس در برخی از این حالات الگوی مقاومت و حساسیت را نسبت به آنتی بیوتیکها تغییر نداده اند و در پاره ای حالات توانسته اند در این الگو تغییر ایجاد نمایند. این گونه تحقیقات از این نظر حائز اهمیت است که افزایش اثر آنتی بیوتیک ها با استفاده از میدانهای الکترو مغناطیس می تواند مبارزه با برخی باکتری ها را در شرایطی مانند بیوفیلم ها مؤثر سازد. پیشنهاد می شود در آینده اثر توأم میدانهای الکترومغناطیس و آنتی بیوتیکهای گوناگون بر باکتریهای مختلف با روشی مانند آزمایشهای فوق بررسی گردد، سپس مطالعات مشابه در شرایط محیط آزمایشگاهی انجام گردد.

تقدیر و تشکر

بر خود لازم می دانم از معاونت محترم پژوهشی دانشکده علوم دانشگاه شیراز جهت حمایت مالی، همچنین از دکتر امین اله بهاءالدینی و دکتر مصطفی سعادت برای در اختیار نهادن دستگاه ایجاد میدان الکترومغناطیس قدردانی نمایم.

The Combined Effect of Polymyxin and Electromagnetic Fields on the Growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*

Mohabatkar H.*

*Assistant Professor of Biotechnology, Department of Biology, College of Sciences, Shiraz University

KEYWORDS:
Polymyxin,
Electromagnetic field,
Pseudomonas aeruginosa,
Bacillus cereus

Received: 14/5/1383
Accepted: 24/9/1383

Corresponding Author: Mohabatkar H
E-mail: mohabatkar@susc.ac.ir

ABSTRACT

Introduction & Objective: Mankind in his life is exposed to environmental factors produced by his scientific activities more and more. One of these factors is electromagnetic field (EMF). EMF exerts its lethal effect primarily by producing pores in the cytoplasm membrane. On the other hand, polymyxin causes disorganization of the cell membrane. The aim of this work was the study of the combined effect of EMF and polymyxin on the growth of *pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*.

Materials & Methods: This experimental work was performed in Biotechnology Laboratory, Biology Department, College of Sciences, Shiraz University in 1382. In the present work, at first the effect of polymyxin on the growth of a Gram positive (*B. cereus*) and a Gram negative (*P. aeruginosa*) bacteria in 37°C was investigated by Bauer-Kirby method. *B. cereus* was resistant and *P. aeruginosa* was susceptible to polymyxin. Bacteria were cultured on lactose broth and M9 buffer and they were exposed to EMF. Next the suspensions of bacteria were swabbed over the surface of Hinton agar plates and paper disks containing antibiotic agent were placed onto the inoculated surface. Then, the combined effect of EMFs and polymyxin on the growth of these two bacteria was studied. SPSS software and variance analysis were applied to analyze the results.

Results: The results showed that combined treatment of EMF of 12 G had no significant effect either on the resistance pattern of *B. cereus* or susceptibility pattern of *P. aeruginosa*. Although the combined treatment of EMF of 21 G and polymyxin had no significant effect on the susceptibility pattern of *P. aeruginosa* it affected the resistance pattern of *B. cereus*. Thus, by using this field from zero to two hours it had no effect on the resistance of *B. cereus* to polymyxin and by applying it for three hours or more, the intermediate response was observed.

Conclusion: Probably, by using the EMF and some chemicals simultaneously, the undesired growth of bacteria (like biofilms) can be controlled.

REFERENCES:

- [1] Dutreux N, Notermans S, Gongora- Nieto MM, etal. Effects of combined exposure of *Micrococcus luteus* to nisin and pulsed electric fields. *Int J Food Microbiol* 2000; 60:147-152.
- [2] Boguslawski G, Polazzi JO. Complete nucleotide sequence of a gene conferring polymyxin B resistance on yeast: similarity of the predicted polypeptide to protein kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 16: 5848-52.
- [3] Kaca W, Ujazda E. Studies of antibiotic resistance of rough and smooth *Proteus mirabilis* strains and influence of polymyxin E on their lipopolysacchride composition. *Acta Microbiologica Polonica* 1996; 45: 161-168.
- [4] Pol IE, Mastwijk HC, Bartels PV, Smid EJ. Pulsed electric field treatment enhances the bacterial action of nisin against *Bacillus cereus*. *App Environ Microb* 2000; 66: 428-430.
- [5] Valberg A, Kavet R, Rafferty CN. Can low-level 50 /160 Hz electric and magnetic field, cause biological effects?. *Radiat Res* 1997;148: 2-21.
- [6] McCann J, Dietrich F, Raffery C. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat Res* 1998; 411: 45-86.
- [7] Cairo P, Greenbaum B, Goodman E. Magnetic field exposure enhances mRNA expression of sigma 32 in *E. coli*. *J Cell Biochem* 1998; 68: 1-7.
- [8] Di Carlo AL, Mullins JM, Litovitz TA. Electromagnetic field-induced protection of chick embryos against hypoxia exhibits characteristics of temporal sensing. *Bioelectrochemisrty* 2000; 52: 17-21.
- [9] Ananthanarayanan R, Panikar CKJ. *Textbook of Microbiology*. India: Orient Longman; 1994;229.
- [10] Jawetz E, Melnick JL, Adelbery EA. *Review of Medical Microbiology*. California: Appleton and Lange; 1995; 247.
- [11] Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS. *Microbiology*. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1990; 217.
- [12] Finegold SM, Martin WJ. *Diagnostic Microbiology*. St. Louis: C.V. Mosby Company; 1992;541.
- [13] Cleary SF. A review of in vitro Studies: low-frequency electromagnetic fields. *Am Ind Hyg Assoc J* 1993; 54: 178-85.
- [14] Novelli G, Gennarelli M, Potenza L, Angeloni P, Dallapiccola B. Study of the effects on DNA of electromagnetic fields using clamped homogeneous electric field gel electrophoresis. *Biomed Pharmacother* 1991; 45: 451-4.
- [15] Morandi MA, Pak CM, Caren RP, Caren LD. Lack of an EMF-induced genotoxic effect in the Ames assay. *Life Science* 1996; 59: 263-71.
- [16] Kropinski AM, Morris WC, Szewczuk MR. Sinusoidal 60 Hz electromagnetic fields failed to induce changes in protein synthesis *Escherichia coli*. *Bioelectromagnetics*.1994; 15:283-91.
- [17] Heynick LN, Johnston SA, Mason PA. Radio frequency electromagnetic fields: Cancer, Mutagenesis, and genotoxicity. *Bioelectromagnetics* 2003; 6: S 74-100.
- [18] Li SH, Chow K-C. Magnetic field exposure induces DNA degradation. *BBRC* 2001; 280: 1385-1388.
- [19] Burtinick MN, Woods DE. Isolation of polymyxin B-suseptible mutant of *Burkholderia pseudomallei* and molecular characterization of genetic loci involved in polymyxin B resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2648-2653.

