

بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های گزنه، خرفه و پولک بر روی عفونت سوختگی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در موش

نادر کاظمی^۱، مهدی ارفعی^۲، مونا قاسمی^۳

۱-استادیار مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران. نویسنده مسئول: bio.kazemi@gmail.com
۲- دانشجوی کارشناسی میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.
۳- دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عامل ایجاد عفونت های بیمارستانی و بیماری های عفونی است. گیاهان گزنه، خرفه و پولک دارای خاصیت ضد میکروبی بوده و در این پژوهش اثر التیام بخشی و ضد میکروبی عصاره های گیاهان به همراه سیلور سولفادیازین روی عفونت سوختگی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در موش بررسی گردید.

مواد و روش ها: پس از جمع آوری و شناسایی گیاهان، میزان MIC و MBC عصاره های اتانولی و استونی گیاهان با روش رقت در محیط کشت مولر هینتون براث تعیین شد. پس از ایجاد سوختگی درجه ۲ در موش ها برای عفونی کردن زخم، از تلقیح محلول باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت ($10^5 \times 5$) CFU/ml انجام و سپس پماد های تهیه شده با غلظت MBC از عصاره های گیاهان به ازای ۱ گرم سیلور سولفادیازین، بعد از ۲۴ ساعت برای درمان استفاده گردید.

نتایج: بررسی انجام شده روی موش ها مشخص نمود که عصاره اتانولی گزنه و عصاره های استونی گزنه و خرفه دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی بوده ولی در زخم سوختگی درمان یافته با عصاره اتانولی و استونی پولک خون ریزی و سرعت کند التیام ملاحظه شد.

نتیجه گیری: عصاره اتانولی گزنه و عصاره های استونی گزنه و خرفه اثر ضد میکروبی و خاصیت التیام بخشی بر عفونت سوختگی دارند. در این میان عصاره های اتانولی و استونی گزنه اثرگذاری بیشتری نسبت به عصاره های استونی گیاه خرفه داشته که می توان به عنوان دارو یا پماد سوختگی ضد میکروبی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، پولک، خرفه، عفونت سوختگی، گزنه، موش

مقدمه

سوختگی یکی از خطرناک ترین و حساس ترین وضعیت های پزشکی محسوب می شود که در تمامی سنین امکان بروز وجود دارد و آسیب های آن می تواند بعد جسمی و روحی را نیز در بر گیرد (۱). زخم های ایجاد شده ناشی از سوختگی بستر و شرایط مناسبی را برای رشد گونه های مختلف باکتری ایجاد می کند و عواملی مانند سن، عمق و وسعت سوختگی بر این عفونت ها اثر دارند (۲). پیشگیری، کنترل و درمان بیماری های عفونی ناشی از میکروارگانیسم ها از موضوعات مهم و قابل بحث سلامت و بهداشت هر جامعه است. امروزه به دلیل رشد روز افزون میکروب های مقاوم به آنتی بیوتیک ها و کمبود ترکیبات ضد میکروبی، تداوم بررسی و شناسایی ترکیبات ضد میکروبی ضروری است (۳). استافیلوکوکوس اورئوس از مهم ترین جنس ها در باکتری های گرم مثبت بوده و این باکتری کروی شکل با قطر ۱ میکرون، بدون حرکت، فاقد هاگ و به شکل خوشه انگوری بوده که از شایع ترین باکتری ها در ایجاد عفونت های بیمارستانی و عفونت های سوختگی است. استافیلوکوکوس اورئوس هنگامی که به بافت وارد شود سموم کشنده ای را رها کرده و در نتیجه باعث بروز و گسترش التهاب می گردد. بیشتر گونه های استافیلوکوکوس ها خطرناک نبوده و در فلور میکروبی موجود در فولیکول موها، غدد عرق و پوست می تواند به طور طبیعی یافت شود. این باکتری در صورتی که سیستم ایمنی بدن ضعیف باشد یا شرایط های خاصی مثل استرس و بیماری های ویروسی وجود داشته باشد، عامل بیماری های مختلفی مانند عفونت های پوستی، مسمومیت های غذایی، شوک های مخاطره آمیز و اختلالات ناشی از خودایمنی است (۴-۵). در طب سنتی که نوعی طب مکمل

است همواره تلاش های متعددی برای یافتن دارویی در جهت تسریع روند بهبود عفونت های میکروبی و ترمیم زخم های ناشی از سوختگی و ضایعات پوستی انجام می شود ولی به دلیل اینکه داروی قطعی برای سرعت بخشیدن به روند بهبود و ترمیم معرفی نشده است مطالعات همچنان بر روی گیاهان دارویی ادامه دارد (۶). گزنه (*Urtica dioica L.*) گیاه گلدار چند ساله ی علفی است که در سراسر جهان رشد می کند. این گیاه متعلق به خانواده *Urticaceae* بوده و منع مناسبی از آهن، منگنز، پتاسیم و کلسیم بوده همچنین دارای کلروفیل، اسید های آمینه، کاروتنوئید، فلاونوئیدها، تانن ها و لکتین می باشد و از این رو به عنوان گیاه دارویی و مکمل در رژیم و برنامه غذایی توصیه می شود (۷). از شناخته شده ترین و پرکاربردترین گونه های گزنه به گونه های *U.urens* و *U.dioica* می توان اشاره کرد (۸). گزارش های زیادی وجود دارد که استفاده از ساقه و برگ گیاه گزنه دارای اثرات مفیدی در درمان بیماری های نظیر دیابت، کم خونی، عفونت های تنفسی، آگزما و سرطان پروستات می باشد (۹). برگ های این گیاه برای درمان پرفشار خونی، ریزش مو و آرتریت روماتوئید مصرف می شود. اسیدهای فنلی و ترپن ها در گیاهان نه تنها اثرات مضر و آسیب شناختی حاصل از رادیکال های آزاد که از عوامل بیماری سرطان می باشد را معکوس می کند، بلکه در ایجاد فعالیت ضد میکروبی گیاهان نقش موثر دارند (۱۰). خرفه با نام علمی *Portulaca Oleracea* از تیره میخکیان و خانواده *Portulacaceae* گیاهی است یک ساله با ساقه های گوشتی و فاقد کرک که اغلب حالت خزنده دارد. این گیاه دارای برگ های کوچک و دوکی شکل، گل های بسیار ریز و ریشه هایی که قادر به نفوذ در عمق خاک های مغذی و کم آب هستند، می باشد. خرفه به صورت گسترده در اروپا، آسیا و خاور میانه

ضد عفونی کننده در موارد پیشگیری و درمان عفونت های سوختگی درجه ۲ و ۳ استفاده می شود.

سولفامید ها فقط از رشد میکروارگانیسم هایی که اسید فولیک تولید می نمایند، جلوگیری می کند و بر سلول های میزبان مثلاً انسان که ماده فوق را از محیط (غذا) دریافت می نماید، موثر نمی باشند با این وجود این دارو به عنوان یک روش درمانی در بهبود آسیب های عمقی و نیمه عمقی استفاده می شود (۱۴). از جمله معضلات شایع در دنیای پزشکی موضوع مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها است. *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز از جمله باکتری های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها می باشد. مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری از طریق کروموزوم و پلاسمید کنترل می شود. مطالعات چندی از آثار سایتوتوکسیک این عامل، بر فیروبلاست ها و کراتینوسایت ها در محیط *in vitro* و تاثیر در به تاخیر انداختن ترمیم زخم در محیط *in vivo* را گزارش کرده اند با وجود آن که مصرف موضعی این دارو در درمان زخم ها بسیار شایع است (۱۵).

مقاومت آنتی بیوتیکی بروز و ایجاد شرایط خاص در میکروارگانیسم است که باعث می شود میکروارگانیسم تحت تاثیر داروهای ضد میکروبی قرار نگیرد و این در حالی است که قبلاً به داروی مذکور حساس بوده و بدین ترتیب دارو دیگر موجب مرگ و توقف رشد میکروارگانیسم نخواهد شد (۱۶). از این جهت تحقیق در خصوص ترکیبات ضد میکروبی تازه با کم ترین زمان و اثرات جانبی امری ضروری می باشد. بنابراین مطالعه و بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های گیاهان گزنه، خرفه و پولک بر عفونت سوختگی ناشی از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط *in vivo* و *in vitro* الزامی به نظر می رسد. هدف از این تحقیق بررسی اثر

مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه دارای مقادیر زیاد امگا۳، فیبر، ویتامین های A.B.C، آهن، منیزیم، پتاسیم، کلسیم، منگنز و مس می باشد همچنین در درمان بیماری های گوارشی، هپاتیت، دیابت، کبد و کم خونی نقش به سزایی دارد و مانع از فعالیت رادیکال های آزاد می شود. خرفه در جلوگیری از خونریزی اعضای بدن، سرفه، بهبود گردش خون، تقویت استخوان ها و همچنین به دلیل وجود خاصیت ضد میکروبی در رفع سوزش مجاری ادرار و تسکین درد و سوزش رحم موثر است (۱۱).

پولک گیاهی است پایا، بوته ای، ریزوم دار و پوشیده شده از کرک های سفید که ساقه ی این گیاه در قاعده ضخیم، خیزان، ایستاده و متعدد است که دارای شاخه های زیاد، کوتاه و دسته ای می باشد. این گیاه دارای برگ هایی با پهنک بیضی، دم برگ بسیار کوتاه و رگبرگ های مشخص است. گیاه پولک با نام علمی *Stachys schtschegleevii* متعلق به خانواده Labiatae شناخته می شود و بومی آسیا و اروپا بوده که در نواحی شمالی و شمال غرب ایران نیز می توان یافت. این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان درمانی برای عفونت های باکتریایی، تب روماتیسمی و بیماری های التهابی تنفسی مورد استفاده قرار می گیرد. پولک علاوه بر خاصیت درمانی، عصاره های اتانولی و استونی آن خاصیت ضد درد و ضد التهابی دارد و همچنین گزارش های مختلفی مبنی بر وجود اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره های استخراج شده از برخی گونه های مختلف این گیاه مطرح شده است (۱۲-۱۳). سیلور سولفادیازین (SSD: Silver sulfadiazine)، یک عامل ضد میکروبی رایج برای کنترل ازدیاد باکتری ها و جلوگیری از عفونت زخم ها به حساب می آید و نیز به عنوان یک داروی

اخلاق IR.IAU.Z.REC.1400.001 انجام و در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان به تصویب رسید.

تهیه عصاره های اتانولی و استونی

در این پژوهش پس از شناسایی، جمع آوری و خشک نمودن گیاهان گزنه، خرفه و پولک به مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه های آسیاب شده توسط ترازوی آزمایشگاهی از هر گیاه توزین شد و داخل ارلن به حجم ۵۰۰ میلی لیتر ریخته شده و سپس به مقدار ۲ برابر حجم گیاهان پودر شده به آن الکل اتانول ۹۶٪ اضافه شد. ارلن های مورد نظر با دهانه های بسته شده توسط پارافیلیم به مدت ۴۸ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت محلول ها را از گاز استریل ۴ لایه عبور داده و همچنین به مدت چهار دقیقه با دور ۲۵۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سانتریفیوژ شد. پس از رقیق سازی، عصاره ها را داخل پلیت های شیشه ای ریخته و در دمای اتاق و به دور از نور خورشید گذاشته تا حلال محلول از آن جدا و خشک شود و سپس عصاره های خشک شده به داخل فالكون انتقال داده شد. تمام فرایندهای ذکر شده برای تهیه عصاره استونی نیز صدق کرده و عصاره گیری انجام شد (۱۸).

تعیین حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC)

و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) عصاره ها

برروی استافیلوکوکوس اورئوس

برای هر کدام از عصاره های گیاهان ۱۱ لوله به صورت جداگانه قرار داده شد. سوسپانسیون باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت (CFU/ml $10^6 \times 1/5$) تهیه و به لوله ها همراه با محیط مولر هیتون برات اضافه و بعد از رقت سازی عصاره ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گذاشته شد. بعد از زمان مقرر از هر لوله روی محیط کشت مولر هیتون آگار

ضد میکروبی عصاره های اتانولی و استونی گیاهان گزنه، خرفه و پولک بر عفونت سوختگی ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و خاصیت التیام بخشی زخم ناشی از سوختگی به کمک عصاره های گیاهان مذکور می باشد که در صورت تأیید و مثبت بودن آزمایش های مورد نیاز می توان از گیاهان نام برده به جای آنتی بیوتیک ها استفاده کرد.

مواد و روش ها

تهیه سوبه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

سوبه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC29213 از بانک میکروبی مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان تهیه گردید. این باکتری ها کاملاً بیماری زا بوده و روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت مجدد داده و در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش از ۱۶ رت بالغ آزمایشگاهی با وزن تقریبی 180 ± 10 گرم مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. رت های آزمایشگاهی پس از تهیه از دانشکده علوم پزشکی زنجان به آزمایشگاه حیوانات و اتاق مخصوص نگهداری از حیوانات مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان انتقال داده شد و به منظور سازگاری با محیط به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. در طی این پژوهش رت ها با آب و غذای استاندارد و کافی تغذیه شده و در شرایط تعریف شده ی آزمایشگاهی شامل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۴ الی ۲۵ درجه سانتی گراد در رطوبت حدود ۵۱ درصد نگهداری شدند (۱۷). پروتکل این پژوهش بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی با کد

ها با استفاده از سوآپ استریل از روی زخم نمونه برداری انجام گرفته و سوآپ ها در داخل لوله های حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس از هر لوله روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده و برای ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد و تعداد کلنی های رشد یافته بر روی محیط مورد بررسی و شمارش قرار گرفت (۱۹).

آزمون آماری

داده های به دست آمده از این پژوهش با استفاده از آزمون LSD و ANOVA One way تجزیه تحلیل گردید و سطح معنی دار ($p < 0/01$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تعیین در حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت مهار رشد برای عصاره های تهیه شده
بر اساس نتایج حاصله از بررسی های MBC و MIC عصاره های استونی و اتانولی گیاهان گزنه، خرفه و پولک علیه استافیلوکوکوس اورئوس مشخص شد. سپس با وزن خشک به دست آمده از عصاره ها مشخص گردید که عصاره های استونی گزنه، خرفه و پولک بیشتر از عصاره های اتانولی گزنه، خرفه و پولک به ترتیب دارای خاصیت ضد میکروبی و التیام بخشی بیشتری می باشند (جدول ۱ و ۲).

کشت داده و بعد از گرما گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت مجدد داخل دستگاه انکوباتور قرار گرفته شد و بعد از زمان مقرر کمترین غلظتی از عصاره ها که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان غلظت باکتری کشی مورد مطالعه قرار گرفت (۱۹).

بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخش عفونت ناشی از سوختگی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در موش ها

برای تهیه ی پماد حاوی عصاره جهت تیمار موش ها مقدار عصاره های گیاهی برابر با غلظت MBC آن ها در هر گرم از پماد آنتی بیوتیک سیلور سولفادیازین اضافه گردید. پس از توزین، حیوانات با استفاده از تیوپنتال 4 mg/kg به روش داخل صفاقی بیهوش و جهت ایجاد سوختگی درجه ۲ ابتدا موهای ناحیه پشت گردن موش ها کاملاً تراشیده و سپس به وسیله سکه ی گداخته شده، توسط حرارت به مدت ۳ الی ۴ ثانیه در محل تراشیدگی قرار داده شد. حیوانات پس از به هوش آمدن در قفس های انفرادی کاملاً تمیز و ضد عفونی شده نگهداری شدند (۲۰). پس از ۲۴ ساعت استراحت دادن به حیوانات، محل سوختگی با تلقیح سوسپانسیون استافیلوکوکوس اورئوس برابر با کدورت ۲ مک فارلند، عفونی سازی انجام و از روز بعد، درمان برای گروه های مربوطه به مدت ۶ روز (روزی ۳ مرتبه و هر بار برابر $0/5$ گرم از پماد) شروع شد. در روز چهارم بعد از شروع درمان، جهت شمارش تعداد باکتری مورد نظر در زخم

جدول ۱- اثر عصاره اتانولی گیاهان گزنه، خرفه و پولک بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

عصاره اتانولی	MBC	MIC
گزنه	$31/25 \mu\text{g/ml}$	$15/6 \mu\text{g/ml}$
خرفه	$69/5 \mu\text{g/ml}$	$31/25 \mu\text{g/ml}$
پولک	$125 \mu\text{g/ml}$	$69/5 \mu\text{g/ml}$

نتایج حیوانی

معناداری بود ($p < 0/01$). همچنین نتایج نشان داده شده مبنی بر گروه درمانی با آنتی بیوتیک سیلور سولفادیازین در مقایسه با گروه درمانی حاوی پماد سیلور سولفادیازین همراه با عصاره های اتانولی و استونی دارای اختلاف قابل توجهی بودند ($p < 0/05$) (جدول شماره ۳ و ۴).

با توجه به رشد کلنی های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گروه درمانی با آنتی بیوتیک سیلور سولفادیازین در مقایسه با گروه کنترل اختلاف آشکاری دیده شد ($p < 0/01$). در گروه درمانی حاوی پماد سیلور سولفادیازین به همراه عصاره ها در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف

جدول ۲- عصاره های استونی گیاهان گزنه، خرفه و پولک بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

عصاره استونی	MBC	MIC
گزنه	۱۵/۶ $\mu\text{g/ml}$	۷/۸ $\mu\text{g/ml}$
خرفه	۳۱/۲۵ $\mu\text{g/ml}$	۱۵/۶ $\mu\text{g/ml}$
پولک	۶۹/۵ $\mu\text{g/ml}$	۳۱/۲۵ $\mu\text{g/ml}$

کننده پماد حاوی عصاره های گیاهی در عرض ۶ روز التیام کامل پیدا کردند. در صورتی که گروه دریافت کننده پماد سیلور سولفادیازین در طول ۱۰ روز و گروه بدون درمان در عرض ۲۱ روز بهبود پیدا کردند. در ضمن ۲ موش از ۵ موش گروه بدون درمان در اثر تشدید عفونت مردند.

اثرات ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های گیاهان گزنه، خرفه و پولک در این پژوهش به صورت کیفی در مقایسه با سرعت التیام زخم های سوختگی ایجاد شده در موش های گروه دریافت کننده پماد حاوی عصاره های گیاهان نام برده، گروه های دریافت کننده پماد سیلور سولفادیازین و بدون دریافت درمان انجام گرفته که لازم به ذکر است گروه دریافت

جدول ۳- اثر درمان های مختلف بر میانگین و انحراف معیار تعداد کلنی های رشد یافته بر روی زخم ناشی از سوختگی در مدل حیوانی

ردیف	نام گروه	میانگین
گروه اول	درمان با پماد حاوی عصاره استونی گیاه گزنه و سیلور سولفادیازین	$8/33 \times 10^5 \pm 8/52^*$
گروه دوم	درمان با پماد حاوی عصاره استونی گیاه خرفه و سیلور سولفادیازین	$14/66 \times 10^5 \pm 9/51^*$
گروه سوم	درمان با پماد حاوی عصاره استونی گیاه پولک و سیلور سولفادیازین	$20/66 \times 10^5 \pm 9/50^*$
گروه چهارم	درمان با پماد سیلور سولفادیازین	$153 \times 10^5 \pm 1^*$
گروه پنجم	کنترل و بدون درمان	$275 \times 10^6 \pm 2/65$

* نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل و بدون درمان ($p < 0/01$)

بحث

عوارض جانبی کم آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی و همچنین در دسترس بودن آن‌ها است. طبق هشدارهای سازمان بهداشت جهانی در مورد استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های رایج و نگرانی‌ها در مورد افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، تحقیقات در زمینه کشف مواد ضد میکروبی موثر بر روی این میکروارگانیسم‌های مقاوم به‌طور جدی آغاز شده است (۲۲). تاکنون گزارشات متعددی در مورد فعالیت‌های ضد میکروبی گیاهان منتشر شده است. پلی‌فنل‌ها، کومارین‌ها، ترپن‌ها و آلکالوئیدها از جمله ترکیباتی هستند که در رشد میکروارگانیسم‌ها نقش بسزایی دارند (۲۳).

عفونت‌های موضعی و سیستمیک از شایع‌ترین عوارض سوختگی هستند که علت اصلی مرگ و میر خصوصاً در سوختگی‌های درجه دو و سه می‌باشند (۲۱). همچنین عفونت سوختگی همواره یکی از مشکلات عمده بهداشتی و درمانی بوده که با افزایش مدت اقامت بیمار در بیمارستان هم موجب افزایش مرگ و میر می‌شود و هم هزینه‌های بیمارستانی را به شدت افزایش می‌دهد (۳). از دلایل مهم تمایل جوامع پزشکی به استفاده از ترکیبات گیاهی

جدول ۴- اثر درمان‌های مختلف بر میانگین و انحراف معیار تعداد کلنی‌های رشد یافته بر روی زخم ناشی از سوختگی در مدل حیوانی

ردیف	نام گروه	میانگین
گروه اول	درمان با پماد حاوی عصاره اتانولی گیاه گزنه و سیلورسولفادیازین	$14 \times 10^5 \pm 13/53^*$
گروه دوم	درمان با پماد حاوی عصاره اتانولی گیاه خرفه و سیلورسولفادیازین	$256/67 \times 10^5 \pm 55/08^*$
گروه سوم	درمان با پماد حاوی عصاره اتانولی گیاه پولک و سیلورسولفادیازین	$133/33 \times 10^5 \pm 41/64^*$
گروه چهارم	درمان با پماد سیلور سولفادیازین	$153 \times 10^5 \pm 1^*$
گروه پنجم	کنترل و بدون درمان	$275 \times 10^6 \pm 2/65$

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و بدون درمان ($p < 0/01$)

گیاه خرفه وجود دارد که این تحقیق و بررسی توسط رفیعی وردنجانی و همکاران (۲۵) انجام شده و همچنین عصاره استونی گیاه نام برده در پژوهش حاضر نیز از این خاصیت برخوردار بود. علاوه بر این خورشید و همکاران (۲۶) نیز در مورد انواع عصاره‌های مختلف گیاه خرفه مطالعه‌ای انجام داده‌اند که در این مطالعه، بخش عصاره‌های اتانولی و استونی با نتایج به دست آمده مغایرت دارد. تحقیقی در خصوص خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پولک توسط نوشاد و

در مطالعات انجام شده بر روی برگ گزنه، مشخص شد که در غلظت‌های پائین‌تر نسبت به باکتری‌های دیگر باعث مهار و نابودی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌شود و همچنین از اثر التیام بخشی زیادی برخوردار است که نتایج حاصل از این بررسی با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده به وسیله هاشمی علیا و همکاران (۲۴) و امینی و همکاران (۸) که روی عصاره‌ی گزنه صورت گرفته است، مطابقت دارد. همچنین گزارشی مبنی بر خاصیت ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره هیدروآلکلی

اتانولی و استونی گیاهان گزنه، خرفه و پولک بر روی عفونت زخم سوختگی ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در موش بود. طبق نظر باسری و فن، عصاره های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتری های گرم مثبت فعال هستند تا باکتری های گرم منفی. نتایج آزمون های آماری نیز خود بیانگر آن است که اثر ضد باکتریایی این گیاهان در مقادیر ثابت اختلاف معنی داری باهم دارند. بنابراین بر اساس مطالعات حاضر عصاره های گیاهان گزنه، خرفه و پولک به همراه سیلور سولفادیازین ۱٪ فعالیت ضد میکروبی و التیام بخشی قابل توجهی بر روی عفونت زخم سوختگی ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در موش دارد.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان می دهد که عصاره استونی و اتانولی گیاه گزنه از خاصیت ضد میکروبی و ترمیم کنندگی بالایی برخوردار است. علاوه بر این، عصاره استونی گیاه خرفه نیز مانند گیاه گزنه داراری خاصیت ضد میکروبی و ترمیم کنندگی می باشد در صورتی که عصاره اتانولی این گیاه خاصیت ترمیم کنندگی خوبی دارد. عصاره های اتانولی و استونی گیاه پولک در مقایسه با سایر گیاهانی که عصاره گیری شده اند از فعالیت ضد میکروبی و التیام بخشی کمتری برخوردار بود. با توجه به یافته های این مطالعه می توان نتیجه گرفت که عصاره های استونی و اتانولی گیاه گزنه و عصاره اتانولی گیاه خرفه، در تولید پماد و داروی سوختگی موثر است.

فهرست منابع

1. Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: Introduction. BMJ: British Medical Journal. 2004 Jun 6;328(7452):1366.

همکاران (۲۷) انجام گردیده است که با نتایج به دست آمده در خصوص خاصیت ضد میکروبی، همخوانی دارد. تاکنون تحقیقی در مورد خاصیت التیام بخشی و ترمیم کنندگی گیاه پولک بر روی زخم ناشی از سوختگی انجام نگردیده است. در پژوهش حاضر، عصاره های گیاهان گزنه، خرفه و پولک با داشتن ترکیبات شیمیایی از قبیل تانن، استوفنون، اسید آسکوربیک، منیزیم، اینولین، روغن فرار، رزین و گلوکوناستورین یا ایزوسولفوسیانواتیل بنزن در این گیاهان به عنوان مواد دارویی گیاه تأثیر مثبتی بر روند ترمیم زخم نشان داد و همچنین وجود تانن در گیاهان که خاصیت ضد باکتریایی دارد. در روند التیام پوست عوامل متعددی می توانند مداخله نمایند برای مثال اسید هیالورونیک به عنوان ترکیبی است که پوست با جذب آن قادر است روند التیام خود را تسریع نماید. همچنین اسید هیالورونیک یکی از اعضای اصلی زنجیره گلیکوزآمینوگلیکان موجود در پوست می باشد. از دیگر عوامل ملتهب کننده در ضایعات پوستی می توان IL-17، IL-12، TNF- α و INF- δ سایتوکاین اشاره نمود که در روند التهاب مؤثرند. یکی از عواملی که ممکن است اثرات ضد میکروبی عصاره یک گیاه را تحت تاثیر قرار دهد روش عصاره گیری و نوع حلال مورد استفاده می باشد. عصاره هایی که با روش ها و حلال های متفاوت از یک گیاه استخراج می شوند می توانند اثرات ضد میکروبی متفاوتی را بر روی یک گونه خاص از میکروارگانسیم ها نشان دهند (۲۸). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های

2. Pruitt Jr BA, McManus AT, Kim SH, Goodwin CW. Burn wound infections: current status. World journal of surgery. 1998 Feb;22(2):135-45.

3. Masumi Asil H, Zahraie M, Majidpur A, Nateghian A, Afhami S, Rahbar M. National Guideline of nosocomial infections surveillance. Tehran, Iran: Department of Health and Medical Education. Center for Disease Management. 2006:7-30. [In Persian]
4. Oliveira AA, Segovia JF, Sousa VY, Mata EC, Gonçalves MC, Bezerra RM, Junior PO, Kanzaki LI. Antimicrobial activity of amazonian medicinal plants. SpringerPlus. 2013 Dec;2(1):1-6.
5. Martin M, Orwin M, Schlievert P. Exotoxins of *Staphylococcus aureus* Clin Microbiol Rev.
6. Holden MT, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NP, Enright MC, Foster TJ, Moore CE, Hurst L, Atkin R, Barron A. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004 Jun 29;101(26):9786-91.
7. Gutowska I, Jakubczyk K, Dec K, Baranowska-Bosiacka I, Drozd A, Janda K, Wolska J, Łukomska A, Dębia K, Chlubek D. Effect of the extract from nettle (*Urtica dioica* L.) fruit cluster on the synthesis of pro-inflammatory agents in hepatocytes treated with fluoride. Fluoride. 2014 Apr 1;47(2):109-8.
8. Kamkar A, Monfared M, Javan AJ, Asadi F, Aknodzadeh A. Antioxidative effects of liquid and organic extracts from Iranian nettle (*Urtica dioica* L.). Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2010;3(5):491-7.
9. Amini K, Hemmatpour B, Moradi P, Nazari Z, Mahvar T. Antibacterial activity of the ethanol and water extracts and investigating the chemical composition of different parts of *Urtica dioica*. Sci Road J. 2014;2(02):57-65.
10. Khare V, Kushwaha P, Verma S, Gupta A, Srivastava S, Rawat AK. Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L.
11. Londonkar R, Nayaka HB. Phytochemical and antimicrobial activities of *Portulaca oleracea* L. Journal of Pharmacy Research. 2011 Oct;4(10):3553-5.
12. Abichandani M, Nahar L, Singh P, Chitnis R, Nazemiyeh H, Delazar A, Sarker SD. Antibacterial and free-radical-scavenging properties of *Stachys schtschegleevii* (Lamiaceae). Archives of Biological Sciences. 2010;62(4):941-5.
13. Rezazadeh S, Kebryaezadeh A, Pirali-Hamedani M, Shafiee A, Isfahani SG. Anti-inflammatory and analgesic activity of methanolic extracts of aerial parts of *stachys schtschegleevii* sosn. and *stachys balansae boiss.* and *kotschy ex boiss* in rats. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005;13(4):165-9.
14. O'Riordan K, Lee JC. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. Clinical microbiology reviews. 2004 Jan;17(1):218-34.
15. Hosseinimehr SJ, Khorasani G, Azadbakht M, Zamani P, Ghasemi M, Ahmadi A. Effect of aloe cream versus silver sulfadiazine for healing burn wounds in rats. Acta Dermatovenerologica Croatica. 2010 Jan 1;18(1):0-0.
16. Tenover FC, Hughes JM. The challenges of emerging infectious diseases: development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. Jama. 1996 Jan 24;275(4):300-4.
17. De Sotillo DR, Hadley M, Holm ET. Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. Journal of Food Science. 1994 Sep;59(5):1031-3.
18. Akhondzadeh S, Kashani L, Fotouhi A, Jarvandi S, Mobaseri M, Moin M, Khani M, Jamshidi AH, Baghalian K, Taghizadeh M. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the

treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Progress in Neuro- Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2003 Feb 1;27(1):123-7.

19. Mohamed H. One year prevalence of critically ill burn wound bacterial infections in surgical ICU in Egypt: Retrospective study. *Egyptian Journal of Anaesthesia*. 2016 Jul 1;32(3):431-4.

20. Parivar K, Yaghmaei P, Hayati RN, Mohammadi MP. Effects of synchronized oral administration and topical application of Kombucha on Third-degree burn wounds regeneration in mature rats.

21. Rafii F, Mohammadi-Fakhar F, Orak RJ. Effectiveness of jaw relaxation for burn dressing pain: randomized clinical trial. *Pain Management Nursing*. 2014 Dec 1;15(4):845-53.

22. Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks ED, Johnston MD, Barton HA, Wright GD. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PloS one*. 2012 Apr 11;7(4): e34953.

23. Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future microbiology*. 2012 Aug;7(8):979-90.

24. Hashemi AH, SHAPOURI R, Esrafil MR. Antimicrobial and Healing Effect Burdock and Nasturtium of Nettle,

Extracts with Silver Sulfadiazine on Burn Infections of Staphylococcus aureus. [In Persian]

25. Rafiee-Vardanjani L, Sahinfard N, Rahimi-Madiseh M, Ansari Samani R, Rahimi M, Parvin N, Taji-Eshkaftaki F. Effect of Portulaca oleracea L vice versa silver sulfadiazine on burn wound healing in Balb/c mice. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2012;13(6). [In Persian]

26. Khursheed A, Jain V. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activity of different Portulaca oleracea L. extracts growing in Kashmir Valley. *Journal of Biochemical Technology*. 2021 Jul 1;12(3):1-8.

27. Noshad M. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on extraction yield, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activity of Stachys schtschegleevii extract. *Journal of food science and technology (Iran)*. 2020 May 10;17(100):117-25. [In Persian]

28. Nostro A, Germano MP, D'angelo V, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in applied microbiology*. 2000 May;30(5):379-84.



Antimicrobial and Healing Effect of Nettle, Purslane and Hedge Nettle Extracts on Burn Infections of *Staphylococcus aureus* in Mice

Nader Kazemi¹, Mahdi Arfaei², Mona Ghasemi³

1-Assistant Professor, Nanobiotechnology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Corresponding author: bio.kazemi@gmail.com

2- BSc student of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

3- BSc student in Biotechnology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Received:2022.10. 18

Accepted: 2022.12.19

Abstract

Introduction & Objective: *Staphylococcus aureus* is cause of hospital infections and infectious illnesses. *Urtica dioica*, *Portulaca oleracea* and *Stachys schtschegleevii* have more antimicrobial and healing effects. In this project, the antimicrobial and healing effects of plants extracts with silver sulfadiazine were studied on burn infections of *Staphylococcus aureus* in rats.

Materials & Methods: Firstly, ethanolic and acetonc extracts of plants were prepared in the laboratory. Then, the MIC and MBC of the extracts were determined by the dilution method in the Muller Hinton broth. In study of animal model, firstly the bacteria were inoculated with a concentration of (5×10^5 CFU/ml) to the wound site on rats. After 24 hours, ointments were prepared based on MBC concentration from extracts of mentioned plants for 1g of silver sulfadiazine and was used to treatment.

Results: In studies conducted on rats, it was found that ethanolic and acetonc extracts of *Urtica dioica*, as well as the acetonc extract of *Portulaca oleracea* had more antimicrobial and healing effect on *Staphylococcus aureus*. But in the wound treated with ethanolic and acetonc extract of *Stachys schtschegleevii*, bleeding was seen.

Conclusions: Ethanolic and acetonc extracts of *Urtica dioica* and the acetonc extract of *Portulaca oleracea* had more antimicrobial and restoration effects on burn wound infection. Ethanolic and acetonc extract of *Urtica dioica* had better healing effects than acetonc extract of *Portulaca oleracea*. As a result, extract of *Urtica dioica* could be used in preparation of burn ointments.

Keywords: Burn Infection, *Portulaca oleracea*, *Stachys schtschegleevii*, *Staphylococcus aureus*, *Urtica dioica*