

بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های مختلف گزنه، بابا آدم و بلاغ اوتی به همراه سیلور سولفادیازین بر روی عفونت سوختگی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در موش

علی حسین هاشمی علیا، رضا شاپوری، محمدرضا اسرافیلی
گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران. rezashapoury@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس موجب ایجاد طیف وسیعی از بیماری ها می باشد. عفونت استافیلوکوکی پوست شایع-ترین عفونت باکتریال در انسان است. بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های مختلف گزنه، بابا آدم و بلاغ اوتی به همراه سیلور سولفادیازین بر روی عفونت سوختگی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در موش است.

روش کار: در این مطالعه عصاره های آبی و اتانولی گیاه گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم در آزمایشگاه تهیه و میزان MIC و MBC عصاره ها با روش رقت در برات تعیین گردید. در مطالعه مدل حیوانی ابتدا با غلظت $(10^6 \times \text{CFU/ML})$ تعیین شده باکتری به محل زخم روی موش های ماده سوری تلقیح شد. پس از ۲۴ ساعت پماد تهیه شده با غلظت MBC از عصاره های گیاهان گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم به ازای ۱ گرم سیلورسولفادیازین تهیه و به محل سوختگی و عفونت حاصله با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، برای درمان استفاده گردید.

یافته ها: در مدل حیوانی مشخص شد که عصاره های آبی و اتانولی گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم دارای فعالیت ضد میکروبی علیه رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. در مجموع نتایج این بررسی نشان داده عصاره های آبی و اتانولی استخراج شده از این گیاهان دارویی (گزنه، بلاغ اوتی و بابا آدم) در شرایط آزمایشگاهی دارای فعالیت ضد میکروبی و باکتری کشی علیه رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به یافته های این مطالعه می توان نتیجه گرفت که عصاره این سه گیاه (گزنه، بلاغ اوتی و بابا آدم) بر مدل حیوانی دارای اثر ضد میکروبی و التیام بخش روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشد و می توان به عنوان یک دارو یا پماد ضد باکتریایی مطرح گردد. در این میان عصاره های گزنه و ریشه بابا آدم دارای فعالیت مهار رشد و باکتری کشی قوی تری نسبت به عصاره بلاغ اوتی دارد. می توان امید داشت که در آینده از این گیاهان مذکور برای درمان عفونت های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، گزنه، بلاغ اوتی، ریشه بابا آدم، موش.

مقدمه

بر این عفونت ها تأثیر داشته باشند (۳۳). کنترل و درمان بیماری های عفونی ناشی از میکروارگانیسم ها از مباحث قابل توجه و تأثیرگذار در سلامت و بهداشت هر جامعه است. امروزه به دلیل رشد فزاینده ی میکروب های مقاوم به آنتی بیوتیک های رایج از یک سو و کمبود ترکیبات ضد میکروبی از سوی دیگر، تداوم پژوهشی در زمینه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید ضروری

سوختگی یکی از وخیم ترین وضعیت های پزشکی به شمار می رود و می تواند در کلیه ابعاد جسمی و روانی ایجاد آسیب نماید و تمامی سنین را نیز می تواند درگیر نماید (۱۳). زخم های ناشی از سوختگی محیط مناسبی را برای رشد گونه های مختلف باکتری ها به شمار می روند که عواملی مانند سن، عمق و وسعت سوختگی می تواند

است (۲۸). استافیلوکوکوس اورئوس، کوکسی گرم مثبتی است که در نقاط مختلف بدن انسان و حیوانات به صورت میکروفلور طبیعی یافت می شود. این باکتری در شرایط خاص هم چون استرس، بیماری های ویروسی، آسیب های بافتی و عواملی که سبب ضعف در سیستم ایمنی می شود، عامل بیماری های مختلفی مانند عفونت-های پوستی، مسمومیت های غذایی، شوک های مخاطره آمیز و اختلالات ناشی از خود ایمنی است (۸). در طب سنتی نیز تلاش های گوناگونی برای یافتن دارویی در جهت تسریع در بهبود زخم و ضایعات پوستی انجام گرفته است ولی به علت عدم معرفی یک داروی قطعی برای افزایش سرعت روند ترمیم زخم، مطالعات روی داروهای گیاهی و تاثیر آن بر روند ترمیم زخم هم چنان ادامه دارد (۱۴). گزنه (*Urtica dioica* L.) گیاه گلدار چند ساله ی علفی است که در سراسر جهان رشد می کند (۱۱). این گیاه متعلق به خانواده Urticaceae بوده و به دلیل آن که منبع مناسب از مواد معدنی (آهن، منگنز، پتاسیم، کلسیم)، کلروفیل، اسیدهای آمینه، کاروتنوئید، ویتامین ها و نیز فلاونوئیدها، تانن ها، استرول ها، پلی ساکاریدها ولکتین است به عنوان یک گیاه دارویی مهم در رژیم غذایی انسان توصیه می شود (۱۲). در میان گونه های گزنه، *U. dioica* و *U. urens* در حال حاضر شناخته شده تر بوده و به همین دلیل برای مدت طولانی به عنوان گیاهان دارویی در بسیاری از نقاط جهان مورد استفاده قرار گرفته اند (۱۷). گزارش های مختلف نشان داده اند که استفاده از گزنه (دانه و برگ) همراه یا بدون گیاهان دیگر، دارای اثرات مفید در درمان برخی از بیماری های مانند دیابت، آگزما، التهاب کبد، کم خونی، روماتیسم و سرطان پروستات بوده است (۲). برگ های این گیاه برای درمان پرفشاری خون و آرتریت روماتوئیدها، اسیدهای فنلی و ترپن ها در گیاهان، نه تنها اثرات مضر و آسیب شناختی حاصل از رادیکال های

آزاد را معکوس می کنند، بلکه در ایجاد فعالیت ضد میکروبی گیاهان، نقش موثری دارند (۱۸). بابا آدم با نام علمی *Arctium lappa* از تیره کاسنی (مرکیان) خانواده Asteraceae گیاهی است علفی، دو ساله، دارای ساقه ضخیم منشعب که به حالت وحشی و خودرو در دشت ها و نواحی مرطوب و سایه دار در نواحی معتدل اروپا و آسیا رشد می کند. این گیاه دارای ریشه ای دراز به قطر انگشت با ظاهری دوکی شکل و شیارهای طولی عمیق که به رنگ قهوه ای ولی در مقطع سفید رنگ می باشد (۳۷). ترکیبات شیمیایی ریشه بابا آدم دارای ماده ای به نام اینولین، روغن فرار، رزین، قند، آهن، کلسیم، کوئرستین، آرکتیزین و ویتامین C می باشد. دانه بابا آدم دارای روغنی به رنگ زرد و طعم تلخ اسیدلینولئیک و اسید اولئیک است (۳۲، ۲۱). گیاه بلاغ اوتی *Nasturtium officinale* cress از تیره شبدر است. موطن اصلی آن در اروپای مرکزی و غربی بوده، اما امروزه در تمامی دنیا گسترده شده است. این گیاه در کنار جویبارها و به طور عمده در مجاورت آب های زلال جاری می روید (۳۲). علف چشمه دارای آهن، ید، منگنز، کلسیم، هم چنین یک گلوکزیددار و محلول در آب به نام گلوکوناستورتین (*Gluconostrutrine*) یا ایزو سولفو سیانو اتیل بنزن است، به علاوه به مقدار زیاد دارای ویتامین های A، C و ویتامین D به مقدار کمتر می باشد (۲۹، ۵). 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 نیز به عنوان یک داروی ضد عفونی کننده بوده که در موارد پیشگیری و درمان عفونت در سوختگی های درجه ۲ و ۳ استفاده می شود. سولفامیدها فقط از رشد میکروارگانیزم هایی که اسید فولیک را تولید می نمایند، جلوگیری می کنند و بر سلول های میزبان، مثلاً انسان که ماده فوق را از

مواد و روش ها

تهیه سوبه میکروب

سوبه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC292113 از بانک میکروبی مرکز تحقیقات بیولوژیکی دانشگاه آزاد واحد زنجان تهیه شد. این باکتری کاملاً بیماری زا و روی محیط های کشت نوترینت آگار کشت مجدد داده و در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از ۲۵ موش سوری ماده بالغ ۸-۶ هفته-ای با وزن تقریبی 25 ± 5 گرم که باردار و شیرده نبودند استفاده شد. موش ها پس از تهیه از دانشکده علوم پزشکی زنجان به اتاق حیوانات مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان منتقل و به منظور سازگاری با شرایط جدید آزمایشگاهی به مدت ۴-۲ روز نگهداری شدند. در طی مطالعه، موش ها با آب و غذای استاندارد و کافی، تغذیه و در شرایط متعارف آزمایشگاهی شامل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 24 ± 2 سانتی گراد و رطوبت حدود ۵۲ درصد نگهداری شدند (۳۶). پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.IAU.ZANJANREC.1396, 12 انجام و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

تهیه عصاره

در این پژوهش پس از جمع آوری و شناسایی و خشک نمودن گیاهان مورد نظر (گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم)، ۱۰۰ گرم از نمونه ها آسیاب و توزین گردید. پودر حاصله در یک با ۲۰۰cc اتانول ۹۸٪ غوطه ور و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ سانتی گراد نگهداری شد. بعد از ۴۸ ساعت مخلوط های مذکور با گاز استریل ۴ لایه صاف و با دور ۲۵۰۰ دور به مدت ۴ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ انجام شد. عصاره صاف شده در دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و در لوله استریل

محیط (غذا) دریافت می نماید مؤثر نمی باشند با این وجود این دارو به عنوان یک روش درمانی در بهبود آسیب های عمقی و نیمه عمقی استفاده می شود (۳۰، ۱۹). باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، کروی شکل و با قطر ۱ میکرون بدون حرکت و فاقد اسپور به شکل خوشه انگوری بوده (۲۲) و یکی از مهم ترین عوامل ایجاد عفونت های بیمارستانی است (۲۴). این باکتری باعث ایجاد برخی بیماری های پوستی از جمله: سندروم شوک سمی، کورک، کفگیرک، اندوکاردیت، استئومیلیت و دمل می شود (۲۰) از جمله معضلات شایع در دنیای پزشکی مسئله 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 (۲۵). مطالعات چندی آثار سائیتوتوکسیک این عامل بر فیبرلاست ها و کراتینوسایت ها در محیط *in vitro* و تأثیر در به تأخیر 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، اطلاعات کافی در مورد اثر این عامل روی زخم های برشی حاصل از جراحی موجود نیست (۱۵، ۷). از این جهت تحقیق در خصوص ترکیبات ضد میکروبی تازه با کمترین زمان و اثرات جانبی کاری ضروری می باشد. لذا مطالعه ی اثر آنتی باکتریالی عصاره گیاهان مذکور بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط *in vitro* و مدل حیوانی الزامی به نظر می رسد. هدف از این مطالعه و تحقیق، بررسی اثر آنتی باکتریالی عصاره های گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است که در مواقع مثبت بودن و آزمایش های مورد نیاز و تأییدی می توان از گیاهان ذکر شده به جای آنتی بیوتیک ها مورد استفاده قرار گیرد.

عفونی سازی و از روز بعد درمان برای گروه های مربوطه به مدت ۳ روز (روزی ۳ مرتبه و هر بار برابر ۰/۵ گرم از پماد) شروع شد (۲۵). در روز چهارم بعد از شروع درمان، جهت شمارش تعداد باکتری مورد نظر در زخم، با استفاده از سوآپ استریل از روی زخم نمونه برداری انجام گرفت و سوآپ ها در داخل لوله های حاوی ۵ میلی لیتر تریپتی کیس سوی براث به مدت ۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلیسیوس نگهداری شدند. سپس از هر لوله روی پلیت حاوی محیط برد پارکر کشت و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلیسیوس قرار داده شد و تعداد کلنی های رشد یافته بر روی محیط مورد بررسی و شمارش قرار گرفت (۲۵).

آزمون آماری

نتایج حاصل از کشت باکتری ها در حیوانات آلوده گزارش شد و بررسی اختلاف معنی دار بین نتایج گروه-های حیوانی با آزمون LSD و ANOVA One way در سطح معنی دار $P < 0/01$ انجام گرفت.

نتایج

نتایج تعیین حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت مهار رشد برای عصاره های تهیه شده بر اساس نتایج حاصله از بررسی های MIC و MBC عصاره های آبی و الکلی بابا آدم، بلاغ اوتی و گزنه علیه استافیلوکوکوس اورئوس مشخص شد، سپس با وزن خشک به دست آمده از عصاره ها مشخص گردید عصاره آبی ریشه بابا آدم و عصاره اتانولی گزنه به ترتیب دارای خاصیت باکتری کشی قوی هستند (جدول ۱).

نتایج حیوانی

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

ریخته و عصاره تا میزان شیره ای شدن ۱۰CC تغلیظ گردید. پس از عبور از فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرون و در دمای ۴- درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۶).

تعیین حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MBC) عصاره ها بر روی استافیلوکوکوس اورئوس

برای هر کدام از عصاره های گیاهان ۱۱ لوله به صورت جداگانه قرار داده شد. سوسپانسیون باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت نهایی $10^6 \times 1/5$ (CFU/ml) تهیه و به لوله ها همراه با محیط مولر هینتون براث اضافه و بعد از رقت سازی عصاره ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گذاشته شد و بعد از زمان مقرر از هر لوله روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده و بعد از گرما گذاری در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت، کمترین غلظتی از عصاره ها که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان غلظت کشندگی مورد مطالعه قرار گرفت (۳۱).

بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عفونت ناشی از سوختگی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مدل حیوانی

برای تهیه 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 ۴۰ میلی گرم بر کیلو گرم به روش داخل صفاقی بیهوش و جهت ایجاد سوختگی درجه ۲ سانتی گراد، ابتدا موهای ناحیه پشت گردن موش ها کاملاً تراشیده، سپس به وسیله سکه گذاخته شده توسط حرارت به مدت ۳-۴ ثانیه در محل تراشیدگی قرار داده شد. حیوانات پس از به هوش آمدن در قفسه های انفرادی کاملاً تمیز و ضد عفونی شده نگهداری شدند (۳۱). پس از ۲۴ ساعت استراحت دادن به حیوانات، محل سوختگی با تلقیح سوسپانسیون استافیلوکوکوس اورئوس برابر با کدورت ۲ مک فارلند

درمان محسوب می شوند. از آن جا که استفاده از داروهای گیاهی دیدگاهی است که امروزه در درمان و حفظ سلامتی تاکید بسیار بر آن است و از طرفی بسیاری از گیاهانی که در طب سنتی استفاده می شود، بومی هستند، بررسی هایی در میزان اثر بخشی گیاهان دارویی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است (۹). در طب سنتی، استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود و درمان ضایعات پوستی می باشد (۲۳). یکی از دلایل مهم تمایل جوامع پزشکی به استفاده از ترکیبات گیاهی عوارض جانبی پایین آن ها نسبت به داروهای شیمیایی بوده که طی سال ها مصرف در طب سنتی به اثبات رسیده است (۱). همان طور که سازمان بهداشت جهانی در مورد استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک های رایج هشدار داده و نگرانی های جدی در رابطه با افزایش مقاومت در میکروارگانیسم های بیماری زا به وجود آمده است، تحقیقات در زمینه کشف مواد ضد میکروبی مؤثر بر روی این میکروارگانیسم های مقاوم به طور جدی آغاز شده است (۴).

چنین نتایج نشان داد در گروه درمانی با آنتی بیوتیک سیلور سولفا دیازیدین در مقایسه با گروه درمانی که حاوی پماد سیلور سولفا دیازیدین به همراه عصاره ها دارای اختلاف معنی داری بود ($p < 0/05$) (جدول شماره ۲). اثرات التیام بخشی عصاره های گیاهان گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم در این تحقیق به صورت کیفی در مقایسه سرعت التیام زخم های سوختگی ایجاد شده در موش های گروه دریافت کننده پماد و گروه های دریافت کننده پماد سیلورسولفادیازیدین و بدون دریافت درمان انجام گرفته است که لازم به ذکر می باشد گروه دریافت کننده پماد گیاهی به همراه سیلورسولفادیازیدین در عرض ۶ روز التیام کامل پیدا کردند، در صورتی که گروه دریافت کننده پماد سیلورسولفادیازیدین 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.

بحث و نتیجه گیری

در طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها وسیله

جدول ۱- اثر عصاره های گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

عصاره ها	MBC	MIC
ریشه بابا آدم	۱۰۹۳/۷۵ μg/ml	۵۴۶/۸۸ μg/ml
بلاغ اوتی	۸۷۵ μg/ml	۴۳۷/۵ μg/ml
گزنه	۱۳۷۵ μg/ml	۶۸۷/۵ μg/ml

جدول ۲- اثر تیمار های مختلف بر میانگین و انحراف معیار تعداد کلنی های رشد یافته بر روی زخم ناشی سوختگی در مدل حیوانی

ردیف	نام گروه	میانگین
گروه اول	درمان با پماد حاوی عصاره ها و سیلورسولفادیازیدین	$112/2 \times 10^3$
گروه دوم	درمان با پماد سیلورسولفادیازیدین	166×10^3
گروه سوم	کنترل و بدون درمان	261×10^4

نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه های سوم (کنترل و بدون درمان) می باشد ($p < 0/01$).

از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره های گزنه، بلاغ اوتی، ریشه بابا آدم به همراه سیلور سولفا دیازیدین بروی عفونت ناشی از سوختگی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در موش بود. طبق نظر باسری (Basri) و فن (Fan) عصاره های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتری های گرم مثبت فعال هستند تا باکتری های گرم منفی از این رو در بررسی انجام شده توسط فیسگین و همکاران (۲۰۰۹) بر روی داروی گیاهی با ترکیب گزنه و چندین گونه گیاهی دیگر مشخص شده است که اثر سینرژیسمی این ترکیب گیاهی در حد قابل توجهی باعث کنترل باکتری های گرم منفی شده است (۱۰). هم چنین در تحقیقی دیگر نشان داده شده که عصاره الکلی گیاه گزنه بر روی باکتری *استرپتوکوکوس با سویه پیورنس*، باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* اثر ضد باتریایی خوبی داشته است (۱۶). نتایج سینرژیسمی نیز نشان داد که عصاره اتانولی این گیاهان حتی در غلظت های بسیار پایین اثر ممانعت از رشد خوبی را دارا می باشد. در مقایسه با بررسی هایی که در مورد گیاهان موثر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در کشورهای دیگر صورت گرفته است و تعیین MIC این گیاهان نشان می دهد که گیاهان مورد بررسی در این مطالعه اثر بسیار خوبی علیه سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند. به طوری که تحقیقات انجام شده در نیجریه روی ۶ گونه از گیاهان دارویی آن منطقه نشان داد ۴ گونه که به طور معمول به وسیله گیاه پزشکان در درمان عفونت های پوست و عفونت های دستگاه تنفسی استفاده می شود، بر علیه سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* موثرند (۲۶). نتایج آزمون های آماری نیز خود بیان گر آن است که اثر ضد باکتریایی این گیاهان در مقادیر ثابت اختلاف معنی داری باهم دارند. بنابراین بر اساس مطالعات

تاکنون گزارشات متعددی در مورد فعالیت ضد میکروبی ترکیبات گیاهی منتشر شده است. ترکیباتی نظیر پلی فنل ها، آلکالوئیدها، ترپن ها و کومارین ها نقش مهمی در تأثیر عصاره گیاهان بر رشد میکروارگانیسم ها دارند (۳۵). عصاره برگ گزنه، در غلظت های پایین تری نسبت به باکتری های دیگر، باعث مهار و نابودی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می شود که با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده به وسیله رامتین و همکاران (۳۴) و امینی و همکارانش (۳) که روی عصاره ی گیاه گزنه صورت گرفته است، هم خوانی دارد. در پژوهش حاضر عصاره های گیاهان (گزنه، بلاغ اوتی و بابا آدم) با داشتن ترکیبات شیمیایی از قبیل تانن به استوفنون، اسید اسکوربیک، مینیزیم، اینولین، روغن فرار، رزین، گلوکو ناستورتین (Gluconstrurtine) یا ایزو سولفو سیانو اتیل بنزن در این گیاهان به عنوان مواد دارویی گیاه تأثیر مثبتی بر روند ترمیم زخم نشان داد و هم چنین وجود تانن در گیاهان که خاصیت ضد باکتریایی دارد. در روند التیام پوست عوامل متعددی می توانند، مداخله نمایند. اسید هیالورونیک به عنوان ترکیبی است که پوست با جذب آن قادر است روند التیام خود را تسریع نماید اسید هیالورونیک یکی از اعضای اصلی زنجیره گلیکوز آمینو گلیکان موجود در پوست می باشد. از دیگر عوامل ملتهب کننده در ضایعات پوستی می توان به سایتوکاین های $IL-12$ ، $TNF-$ ، $IL-17$ و $INF-$ اشاره نمود که در روند التهاب مؤثرند. یکی از عواملی که ممکن است اثرات ضد میکروبی عصاره یک گیاه را تحت تأثیر 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 میکروارگانیسم ها نشان دهد (۲۷). هدف

آزمایشگاهی دارای فعالیت ضد میکروبی و باکتری کشی علیه رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می-باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان که در انجام آزمایش ها ما را یاری نموده اند، صمیمانه قدر دانی می شود.

حاضر عصاره های سه گیاه گزنه، بلاغ اوتی و ریشه بابا آدم به همراه سیلور سولفا دیازیدین ۱٪ فعالیت ضد میکروبی و التیام بخشی قابل توجهی بر روی عفونت ناشی از سوختگی با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در موش دارد. در مجموع نتایج این بررسی نشان داده عصاره های آبی و اتانولی استخراج شده از این گیاهان دارویی (گزنه، بلاغ اوتی و بابا آدم) در شرایط

منابع

1. Abdel-Hady, AA., El-Nahas, HA., El Nabarawy, SK., Abdel Raouf, HA. (2014). Evaluation of the antioxidant activity and the acute oral toxicity of three plant extracts on albino mice. *Middle East J Appl Sci*, 4(2); 207-216.
2. Amini, K., Hemmatpoor, B., Moradi, P., Nazari, Z., Mahvar, T. (2014). Antibacterial activity of the ethanol and water extracts and investigating the chemical composition of different parts *Urtica dioica* L. *Sci Road J*, 02(02); 57-65.
3. Azadbakht, M., Hosseinimehr, SJ., Khorasani, G., Zamani, P., Ghasemi, M., Ahmadi, A. (2010). Effect of aloe cream versus silver sulfadiazine for healing burn wounds in rats. *Acta Dermatoneerol Croat*, 18; 2-7.
4. Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, ED., Johnston, MD. (2012). Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PloS one*, 7(4); e34953.
5. Chung, FL., Morse, MA., Ekland, KI., Lewis, J. (1992). Qcutitation of human uptake of the anti carcino gen phenethyl iso thicyanat after a watercress meal. *Cancer Epidemiol Biomarkers Pre*, 1(5); 383-8.
6. Chung, FL. (1999). Comparison of *Lavandula angustifolia* mill tincture and imipramine in the treatment of mild to melerate depression: a double-blind, randomized trial prog. *Neuro Psycho Pharmacol Biol Psychiatry*. Awang DVC, 450-456.
7. Cooper, ML., Laxer, JA., Hansbrough, JF. (1991). The cytotoxic effects of commonly used topical antimicrobial agents on human fibroblasts and keratinocytes. *J Trauma*, 31; 775-84.
8. Dinges, MM., Dinges, P., Orwin, M. (2000). Exotoxin of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, 13(1); 16-34.
9. Finegold, M. (1990). Printed in the United States of America, The C.V. 8th Ed. Mosby Company. St Louis. Missouri, p:329.
10. Fisgin, NT., Cayci, YT., Coban, AY., Ozatli, D., Tanyel, E., Durupinar, B. (2009). Antimicrobial activity of plant extract *Ankaferd blood stopper*. *Fitoterapia*, 80; 48-50.
11. Guler, ER. (2013). Investigation of chemo preventif properties of *Urtica dioica* L., in MCF-7 and MDA 231 breast cancer cell lines. *New J Med*, 30; 50-53.
12. Gutowska, I., Jakubczyk, K., Dec, K., Baranowska Bosiacka, I., Drozd, A., Janda, K. (2014). Effect of the extract from nettle (*Urtica dioica* L.) fruit cluster on the synthesis of pro-inflammatory agents in hepatocytes treated with fluoride. *Res Rep Fluoride*, 47(2); 109-118.
13. Hettiaratchy, S., Dziewulski, P. (2004). ABC of burns. Introduction. *BMJ*, 328(7452); 1366-8.
14. Holden, M., Feil, E., Lindsay, J., Peacock, S., Day, N., Enright, M. (2004). Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strain, *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(26); 9786-9791.
15. Hosseinimehr, SJ., Khorasani, G., Azadbakht, M., Zamani, P., Ghasemi, M., Ahmadi, A. (2010). Effect of aloe cream versus silver sulfadiazine for healing burn wounds in rats. *Acta Dermatoneerol Croat*, 18; 2-7.
16. Janssen, AM., Scheffer, JJ. (1985). *Planta Med*, 51; 507.(Abstract).
17. Kamker, A., Monfared, M., Jebelli Javan, A., Asadi, F., Aknodzadeh, A. (2010). Antioxidative effects of liquid and organic

- extracts form Iranin nettle (*Urtica dioica* L.). *Asina J Food AgroInd*, 3(05); 491-497.
- 18.**Khare, V., Kushwaha, P., Verma, SH., Gupta, AB., Srivastava, SH., Rawat, AK. (2012). Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. *Sci Res Corporation*, 3; 128-13519.
- 19.**Kiker, RG., Carvajal, HF., Micak, RP., Larson, DL. (1977). A controlled study of the effects of silver sulfadiazine on white blood cell counts in burned children. *J Trauma*, 17; 835-836.
- 20.**Kobayashi, SD., Malachowa, N., DeLeo, FR. (2015). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. *The American journal of pathology*, 185(6); 1518-27.
- 21.**Kuo, DH., Hung, MC., Hung, CM., Liu, LM., Chen, FA. (2012). Body weight management effect of burdock(*Arctium lappa* L.) root is associated with the activation of AMP-activated protein kinase in human HepG2 cells. *Food Chem*, 134(3); 1320-6.
- 22.**Lacey, KA., Geoghegan, JA., McLoughlin, RM. (2016). The role of *Staphylococcus aureus* virulence factors in skin infection and their potential as vaccine antigens. *Pathogens*, 5(1); 22.
- 23.**Molan, PC. (2001). Potential of honey in the treatment of wounds and burn. *Am Clin Dermatol*, 2(1); 9-13.
- 24.**Moran, GJ., Abrahamian, FM., LoVecchio, F., Talan, DA. (2013). Acute bacterial skin infections: developments since the 2005 infectious diseases society of america (IDSA) guidelines. *Journal of Emergency Medicine*, 44(6); e397-412.
- 25.**Mohamed, H. (2016). One year prevalence of critically ill burn wound bacterial infections in surgical ICU in Egypt: Retrospective study. *Egyptian Journal of Anaesthesia*, 32(3); 431-4.
- 26.**Moran, GJ., Abrahamian, FM., LoVecchio F., Talan, DA. (2013). Acute bacterial *Staphylococcus aureus* strain skin infections: developments since the 2005 Infectious Diseases Society of America (IDSA) guidelines. *Journal of Emergency Medicine*, 44(6); e412-416.
- 27.**Nostro, A., Gernano, MP., Angelo, VA., Marino, A., Cannatelli, MA. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *LettApplMicrobiol*, 30; 379-384.
- 28.**Oliveira, AA., Segovia, JF., Sousa, V., Mata, E., Gonçalves, M., Bezerra, RM. (2013). Antimicrobial activity of Amazonian medicinal plants. *Springer Plus*, 2; 371-6.
- 29.**Palaniswamy, UR., McAvoy, RJ., Bible, BB., Sturat, JD. (2003). Ontogenic variations of ascorbic acid and phenathylisothioncyanate concentration in watercress(*Nasturtium officinale* R.Br.) leaves. *J Agric J Food Chem*, 51 (18); 5504-9.
- 30.**O'Riordan, K., Lee, IC. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides, *CliiiiMicrobiol Rev*, 17; 218-234.
- 31.**Parivar, K., Yaghmaie, P., Hayati Roodbari, N., Mohammadi Mohaghegh, P. (2012). Effect of synchronized oral administration and topical application kombucha on third-degree burn wounds regeneration in mature rats. *Medical Sciences* 22;1-11. [In Persian]
- 32.**Predes, FS., Ruiz, AL., Carvalho, JE., Foglio, MA., Dolder, H. (2011). Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts. *BMC Complement Altern Med*, 11; 25.
- 33.**Pruitt, BA., Mc Manus, AT., Kim, SH., Goodwin, CW. (1998). Burn wound infections: current status. *World J Surg*, 22(2); 135-45.
- 34.**Ramtin, M., Massiha, A., Khoshkholgh, MR., Issazadeh, Kh., Asmar, M., Zarrabi, S. (2014). In vitro antimicrobial activity of *Iris pseudacorus* and *Urtica dioica*. *Zahedan J Ras Med Sci*, 16(3); 35-9. (Full Text in Persian)
- 35.**Savoia, D. (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol*, 7 (8); 979-990.
- 36.**Sotillo, R.D., Hadley, M., Holm, E.T. (1994). *Potato peel* waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried Extract. *J Food Sci*, 59(5); 1031-1033.
- 37.**Zargari, A. (1993). *Medicinal Plants*. 5th ed Tehran: Tehran University Publications, p. 8-14. [Persian]



Antimicrobial and Healing Effect Burdock and Nasturtium of Nettle, Extracts

With Silver Sulfadiazine on Burn Infections of *Staphylococcus aureus*.

A.H. Hashemi, R.Shapouri, M. R.Esrafil

Department of Microbiology , Faculty of Basic and medical Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran. rezashapouri@yahoo.com

Received:2019.12. 2

Accepted: 2019.10.3

Abstract

Inroduction & Objective: *Staphylococcus aureus* causes a wide range of diseases. Staphylococcal infection is the most common bacterial infection in humans. Antimicrobial and healing effect burdock and nasturtium of nettle, extracts with silver sulfadiazine on burn infections of *Staphylococcus aureus*.

Material and Method: In this study, aqueous and ethanolic extracts of nettle, watercress and burdock root were prepared in the laboratory. Then, the MIC and MBC of the extract were determined by dilution method in the broth. In the study of the animal model, the bacteria were first inoculated with a concentration of (5×10^6 CFU/ML) to the wound site on Syrian mice. After 24 hours, an ointment prepared with MBC concentration was prepared from extracts of the nettle, watercress and burdock root for 1 g of silver sulfadiazine and was used to treat burns and infections with *Staphylococcus aureus*. In the animal model, the aqueous and ethanolic extracts of nettle, watercress and burdock root have antimicrobial activity against growth of *Staphylococcus aureus*.

Results: In this study, aqueous and ethanolic extracts of nettle, watercress and burdock root were prepared in the laboratory. Then, the MIC and MBC of the extract were determined by dilution method in the broth. In the study of the animal model, the bacteria were first inoculated with a concentration of (5×10^6 CFU/ML) to the wound site on Syrian mice. After 24 hours, an ointment prepared with MBC concentration was prepared from extracts of the nettle, watercress and burdock root for 1 g of silver sulfadiazine and was used to treat burns and infections with *Staphylococcus aureus*. In the animal model, the aqueous and ethanolic extracts of nettle, watercress and burdock root have antimicrobial activity against growth of *Staphylococcus aureus*.

Conclusion: According to the findings of this study, it can be concluded that the extract of these three plants (nettle, watercress and burdock root) on an animal model has antimicrobial and healing effects on *Staphylococcus aureus*. It can be used as an anti-inflammatory agent or ointment Bacteria to be raised. In this case, the extract of nettle and burdock root have growth inhibitory and bactericidal activity stronger than watercress extract. And it is hoped that in the future, these plants will be used to treat bacterial infections.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Nettle, Watercress, Burdock Root, Mouse.

اثرات دوره های گرسنگی طولانی مدت بر ساختار بافت کبد و روده در تاس

ماهیان سیبری (*Acipenser baeri*)

شیرین حامدی^۱، ایمان ناصری فرد^۲، هادی ابراهیمی^۱، مریم عضدی^۱

۱- پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران. ebrahimi.hadi121@yahoo.com

۲- دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: تعداد زیادی از ماهیان دوره های طبیعی گرسنگی را در طول سال، در مدت زمستان، هنگام مهاجرت های تخم ریزی و یا زمانی که کاهش غذا در محیط زندگی تحمل می کنند. در این مطالعه اثرات دوره های گرسنگی طولانی مدت بر ساختار بافت کبد و روده تاس ماهیان سیبری با میانگین وزنی 56 ± 0.54 گرم به مدت ۵ هفته انجام گرفت.

روش کار: ۲۲۵ قطعه تاس ماهی سیبری انتخابی به روش کاملاً تصادفی بین ۹ تا ۵۰۰ لیتری استوانه ای شکل توزیع گردیدند. ماهیان به مدت ۲ هفته در ابتدا با شرایط آزمایشی سازگار شدند. گروه شاهد در تمام مدت آزمایش ۴ بار در روز تا حد سیری تغذیه شد. تیمار اول ۲ هفته گرسنگی و تیمار دوم ۳ هفته گرسنگی را تجربه کرد. به منظور مطالعه ساختار کبد و روده در پایان دوره های گرسنگی از هر یک از تیمارها و گروه شاهد ۶ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و در محلول بوئن تثبیت گردید. سپس با استفاده از روش استاندارد پس از طی مراحل قالب گیری برش های ۷ میکرومتری از آن ها تهیه و سپس با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: شاخص های دستگاه گوارش و کبدی (DSI و HSI) و هم چنین طول پرزهای ماهیان گروه شاهد به صورت معنی داری ($P < 0.05$) بالاتر از تیمارهای ۲ هفته و ۳ هفته گرسنگی بود. طول اتروسیت های روده هیچ اختلاف معنی داری ($P > 0.05$) را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد. نتایج بررسی های میکروسکوپی نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد اکثر علائم پاتولوژیک از جمله دژنراسیون زیاد چربی، نکروز سلولی، پرخونی زیاد و رکورد صراوی در کبد تاس ماهیان سیبری در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. هم چنین در تیمارهای ۲ هفته گرسنگی پرخونی، آتروفی و رکورد صراوی کمتری نسبت به تیمارهای ۳ هفته گرسنگی در کبد مشاهده گردید. نتیجه گیری: نتایج حاصل نشان داد که دوره های گرسنگی طولانی مدت می تواند بر ساختار کبد و روده تاس ماهیان سیبری از طریق مصرف ذخایر این بافت ها و متابولیسم چربی در دستگاه گوارش و کلیکوژن کبد اثر گذار باشد.

واژه های کلیدی: تاس ماهی سیبری، *Acipenser baeri*، گرسنگی، بافت کبد، بافت روده.

مقدمه

باعث بروز علائم گرسنگی می گردند (۲۳). تعداد زیادی از ماهیان دوره های طبیعی گرسنگی را در طول سال، در مدت زمستان، هنگام مهاجرت های تخم ریزی و یا زمانی

منظور از گرسنگی تنها عدم دریافت مواد غذایی از طریق رژیم غذایی نیست، بسیاری از بیماری ها و حالات طبیعی که همراه با کاهش اشتها یا بار کاتابولیک باشند،