

Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL

Hashemi A^{1*}, Shams S², Barati M³, Samedani A⁴

1- Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2-Department of Biotechnology, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3-Department of Parasitology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4-Burns Unit, Shafa Hospital, Kerman, Iran

Received 15 Aug 2010 , Accepted 3 Nov 2010

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important causes of nosocomial infection which due to extended spectrum-beta lactamases (ESBLs) and metallo-beta lactamase (MBL) producing strains is resistant to a wide range of antibiotics. The aim of this study was to detect ESBL and MBL producing *P.aeruginosa* isolated from patients and investigate the effects of methanol extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis*, and *Peganum harmala* on them.

Materials and Methods: In this experimental study, samples were obtained from 245 patients, referring to Shafa Hospital, Kerman, Iran. ESBLs producing strains were detected by double disk synergy test and phenotypic confirmatory test. In addition, E-test strips were used for MBL detection. *P.aeruginosa* MIC was determined for cefotaxime, ceftazidime, azteronam, imipenem, and meropenem. Methanol extracts of *Zataria multiflora*, *Peganum harmala*, and *Myrtus communis* plants were prepared by Agar percolation method.

Results: Out of 245 patients referring to the burn unit, 120 *P.aeruginosa* isolates were detected from which 41 contained ESBL but they lacked MBL. 60% of isolates were resistant to cefotaxime, 66% to ceftazidime, 42% to azteronam, 3% to imipenem, and 5% to meropenem. Among the extracts, *Zataria multiflora* had the highest antibacterial effect on standard strains of *P.aeruginosa* in comparison with *Peganum harmala* and *Myrtus communis*.

Conclusion: The prevalence of ESBL producing *P.aeruginosa* strains is high. In addition, noticing their high antibiotic resistance, utilization of herbs, such as *Zataria multiflora* may be considered an appropriate alternative for treatment; however, more investigations are needed.

Keywords: Antibiotic resistance, ESBL, Plant extracts, *Pseudomonas aeruginosa*

* Corresponding author:

Address: Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: Hashemi1388@yahoo.com

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و اسپند بر روی سوش های استاندارد و ایزوله های بالینی پسودوموناس آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع

علی هاشمی^{1*}، سعید شمس²، محمد براتی³، عزیزه صمدانی⁴

- 1- دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 2- کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
- 3- دانشجوی دکتری انگل شناسی، گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- 4- کارشناس پرستاری، بخش سوختگی بیمارستان شفا کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: 89/5/24، تاریخ پذیرش: 89/8/12

چکیده

زمینه و هدف: پسودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی بوده و به بسیاری از آنتی بیوتیک ها به علت تولید بتالاکتاماز با طیف وسیع و متالوبتالاکتاماز مقاوم می باشد. هدف از این مطالعه، شناسایی پسودوموناس آئروژینوزا تولید کننده بتالاکتاماز باطیف وسیع و متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران و تاثیر عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، اسپند و مورد بر روی آنها می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی از 245 بیمار مراجعه کننده به بخش سوختگی بیمارستان شفاء کرمان در سال 1387 نمونه گیری انجام شد. برای تعیین باکتری های دارای بتا لاکتاماز وسیع الطیف از تست فنوتیپی تاییدی و Double Disk Synergy Test و برای شناسایی متالو بتا لاکتاماز از نوارهای E-test استفاده گردید. حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد آنتی بیوتیک های ایمی پنم، مروپنم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و آزترونام به روش رقت در آگار انجام گردید و عصاره گیاهان به روش پرکولاسیون استخراج شد.

یافته ها: از 245 بیمار مراجعه کننده، 120 ایزوله سودوموناس شناسایی شد که 41 نمونه دارای بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL) و همگی فاقد متالوبتالاکتاماز بودند. 60 درصد از نمونه ها مقاوم به سفوتاکسیم، 66 درصد مقاوم به سفتازیدیم، 42 درصد مقاوم به آزترونام، 3 درصد مقاوم به ایمی پنم و 5 درصد مقاوم به مروپنم بودند. از بین عصاره ها، آویشن شیرازی اثر بهتری در مقایسه با اسپند و مورد داشت.

نتیجه گیری: شیوع پسودوموناس آئروژینوزای تولید کننده بتا لاکتاماز وسیع الطیف در بین بیماران بالا بوده و همچنین با توجه به مقاومت بالای آنتی بیوتیکی، استفاده از گیاهان دارویی از جمله آویشن شیرازی می تواند جایگزین بهتری برای درمان باشد، که نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: پسودوموناس آئروژینوزا، بتالاکتاماز با طیف وسیع، عصاره گیاهان، مقاومت آنتی بیوتیکی

*نویسنده مسؤل: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه میکروب شناسی

Email:Hashemi1388@yahoo.com

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا یک باکتری فرصت طلب است که موجب عفونت‌های مختلفی از قبیل سپتی سمی، پنومونی، عفونت‌های دستگاه ادراری، اندوکاردیت، عفونت‌های پوستی، عفونت‌های گوش و عفونت‌های چشمی می‌شود (3-1). همچنین این باکتری یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی بوده و عامل اصلی مرگ و میر در افراد مبتلا به سیستمیک فیبروزیس، نوتروپنی، افراد دچار سوختگی شدید و افراد مبتلا به ایدز می‌باشد (4). زمانی که عفونت به وسیله این باکتری در افراد دچار سوختگی ایجاد می‌شود، درمان این بیماران بسیار مشکل خواهد بود، زیرا باکتری قادر است به طور قابل توجهی به بسیاری از آنتی بیوتیک‌های رایج مقاوم شود که به عنوان یک تهدید جدی برای بیماران بستری در بیمارستان‌های سراسر دنیا مطرح می‌باشد (7-5)، علت این مقاومت وجود آنزیم‌های بتا لاکتاماز می‌باشد که کلاس A آن بتالاکتامازهای وسیع الطیف (Extended-ESBLs spectrum-β-Lactamas) و کلاس B، متالوبتالاکتاماز (Metallo-β-Lactamase - MBL) بوده که در بعضی از پسودوموناس آئروژینوزاها یافت می‌شود (8). بتالاکتامازهای وسیع الطیف بیشتر به وسیله پلاسمید کد می‌شوند (9) و باکتری‌ها را به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌های خانواده سفالوسپورین‌ها از قبیل (سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم) و مونوباکتام (آزترونام) مقاوم می‌کنند (10). همچنین متالوبتالاکتامازها (MBL) که بر روی عناصر ژنتیکی (ترانسپوزون و پلاسمید) وجود دارند قادر به هیدرولیز آنتی بیوتیک‌های کارباپنم (ایمی پنم و مروپنم) و تقریباً همه عوامل دارویی بتالاکتام با طیف وسیع می‌باشند (11). استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها از زمان‌های بسیار قدیم معمول بوده و بشر در طول سالیان دراز به اثرات مفید آنها پی برده و از گیاهان مختلف در جهت درمان استفاده می‌کرده است. با رونق زندگی شهری و افزایش جمعیت به تدریج از مصرف گیاهان دارویی کاسته شده و داروهای صنعتی در

بسیاری موارد جایگزین آنها شده اند که البته با مصرف این داروها نیز مشکلاتی از قبیل مقاومت روز افزون در میکروارگانسیم‌ها و کاهش تاثیر در اثر کاربرد مداوم ایجاد شده است. گیاه آویشن شیرازی (*Zaatria multiflora* Boiss) جزء خانواده لامیاسه آ (Lamiaceae) و از گیاهان بومی ایران می‌باشد که به طور سنتی به عنوان افزودنی و چاشنی به مواد غذایی افزوده می‌شود (12). یکی دیگر از گیاهان، مورد (*Myrtus communis*) از خانواده میریسه آ (Myriaceae) است که به صورت درختچه ای کوچک با برگ‌های همیشه سبز است. این درختچه حاوی اسانس فراری بنام "دپانتین" و "میرتول" است که هر دو در بخش‌های مختلف گیاه به ویژه در برگ‌های آن یافت می‌شود و اثر درمانی آن نیز احتمالاً مربوط به وجود این ترکیبات است (13). دانه گیاه اسپند (*Peganum harmala*) با نام انگلیسی Syrian rue Harmel از خانواده Zygophyllaceae بوده و در اغلب مناطق مختلف کشور یافت می‌شود (14). مطالعات مختلفی از تاثیر عصاره‌های گیاهی از جمله آویشن شیرازی بر روی پسودوموناس آئروژینوزا وجود دارد ولی گزارشی مبنی بر اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بر روی پسودوموناس آئروژینوزا دارای آنزیم‌های نامبرده انجام نشده است، لذا هدف از این تحقیق، شناسایی باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز با طیف وسیع و متالوبتالاکتاماز، تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و بررسی تاثیر عصاره متانولی سه گیاه اسپند، مورد و آویشن شیرازی بر روی سویه‌های بالینی و استاندارد پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، جهت نمونه‌گیری به بخش سوختگی بیمارستان شفا کرمان مراجعه شد. ابتدا محل زخم بیماران با سرم فیزیولوژی شستشو و سپس به وسیله یک سواب استریل، نمونه‌گیری به عمل آمد. سواب‌ها داخل محیط

انتقالی استوارت به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انتقال یافتند و بر روی محیط های سیتريمايد آگار و مک کانکی آگار کشت داده شدند. محیط های کشت در داخل انکوباتور 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت نگهداری و بعد از این مدت کلنی های رشد یافته جهت انجام تست های تشخیصی و افتراقی از نظر وجود باکتری پseudomonas آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس کلنی های مشکوک از نظر رنگ، تولید پیگمان، بوی محیط کشت و لام مستقیم (برای مشاهده باسیل های گرم منفی) بررسی شدند. جهت تشخیص قطعی از تست های بیوشیمیایی مرسوم آزمایشگاهی شامل تست اکسیداز، تخمیر قند، تست حرکت، رشد در دمای 42 درجه سانتی گراد، تست متیل رد و ووگس - پروسکوئر (VP-MR) استفاده شد. به منظور شناسایی سوش های حاوی بتالاکتامازهای وسیع الطیف ابتدا از روش DDST (Double Disk Synergy Test) استفاده گردید. بدین صورت که یک پلیت حاوی 20 تا 25 میلی لیتر از محیط مولر هیتون آگار تهیه شد. سپس در مرکز پلیت دیسک آموکسی کلاو (20/10 میکروگرم) قرار داده و به فاصله 25 میلی متر از آن، دیسک سفوتاکسیم (30 میکروگرم) در سمت چپ و دیسک سفنازیدیم (30 میکروگرم) در سمت راست پلیت قرار داده شد. سپس پلیت ها را برای مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه کرده که گسترش هاله عدم رشد دیسک سفنازیدیم به سمت دیسک آموکسی کلاو، اشاره به حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف دارد. جهت تایید تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف از روش Combined Test با توجه به رهنمودهای NCCLS استفاده شد. به این صورت که بر روی محیط مولر هیتون آگار، دیسک سفنازیدیم به فاصله 30 میلی متر از دیسک سفنازیدیم/کلاوونیک اسید، دیسک سفوتاکسیم به فاصله 30 میلی متر از دیسک سفوتاکسیم/کلاوونیک اسید و دیسک سفودوکسیم به فاصله 30 میلی متر از دیسک سفودوکسیم/کلاوونیک اسید

(شرکت MAST انگلستان) قرارداد شد. ایزوله هایی که قطر هاله ممانعت از رشد دیسک سفالوسپورین همراه کلاوونیک اسید نسبت به دیسک سفالوسپورین فاقد کلاوونیک اسید بیشتر یا مساوی 5 میلی متر داشته باشند به عنوان باکتری های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در نظر گرفته می شوند. جهت تعیین متالوبتالاکتاماز (MBL) ابتدا نمونه هایی که حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) آنها نسبت به داروهای ایمی پنم و مروپنم بیشتر یا مساوی 32 میکروگرم و نسبت به داروی سفنازیدیم بیشتر یا مساوی 64 میکروگرم بود جهت تعیین متالوبتالاکتاماز انتخاب شدند. سپس از نوارهای MBL E-test برای تشخیص متالوبتالاکتاماز (طبق دستور العمل شرکت AB BIODISK) استفاده شد. به منظور عصاره گیری، گیاه آویشن شیرازی از فیروز آباد فارس و گیاهان مورد و اسپند از شهر کرمان جمع آوری و سپس خشک و آسیاب شدند و عصاره آنها به روش پرکولاسیون استخراج گردید. در پایان، تمام عصاره های به دست آمده با روش تقطیر در خلا تغلیظ و بعد از خشک کردن تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شدند.

جهت تهیه سوش های استاندارد pseudomonas آئروژینوزا، سوش KOASPER-1 (ESBL) از بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران و سوش های ATCC27853, 8821M و PAO1 از بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) برای آنتی بیوتیک ها

حساسیت 120 ایزوله pseudomonas آئروژینوزا بر اساس حداقل غلظت مهار کننده از رشد با استفاده از روش رقت در آگار تعیین گردید. سپس نیم مک فارلند و محیط های مولر هیتون آگار (شرکت مرک آلمان) حاوی مقدار مشخصی آنتی بیوتیک های ایمی پنم، مروپنم، آزترونام، سفوتاکسیم و سفنازیدیم تهیه شد. در مرحله بعد با استفاده از دستگاه Hand inoculators (شرکت MAST انگلستان)

قرار گرفت. در نهایت بعد از تاثیر هر سه عصاره بر روی سوش های استاندارد، عصاره موثر انتخاب و بر روی باکتری های ایزوله شده از بیماران تاثیر داده شد. تحلیل آماری داده های جمع آوری شده با استفاده از برنامه MINITAB نسخه 13 انجام شد.

یافته ها

از 245 نمونه بیمار دچار سوختگی مراجعه کننده به بخش سوختگی بیمارستان شفا کرمان، 120 نمونه آلوده به پseudomonas آئروژینوزا جدا گردید. جدول 1 توزیع بیماران دچار سوختگی را بر حسب سن و درصد سوختگی نشان می دهد. 77 نمونه (64 درصد) مربوط به جمعیت مردان و 43 نمونه (34 درصد) مربوط به جمعیت زنان می باشد. بیشتر بیماران آلوده به پseudomonas آئروژینوزا در سنین بین 11 سال تا 20 سالگی قرار داشتند. نتایج نشان دادند که سویه های بالینی پseudomonas آئروژینوزا بیشترین مقاومت را در مقابل سفنازیدیم و سفوتاکسیم از خود نشان دادند. کمترین میزان مقاومت یا به عبارت دیگر، بیشترین میزان حساسیت نیز در مورد ایمی پنم و مروپنم دیده شد. نتایج کلی در جدول 2 ارائه شده است.

عمل تلقیح حدود 10 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری را بر روی محیط های کشت مولر هیتون آگار حاوی رقت های مختلف آنتی بیوتیکی انجام گردید. از پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 به عنوان کنترل استفاده شد. بعد از 24 ساعت و در دمای 37 درجه سانتی گراد، پلیت ها مورد بررسی قرار گرفتند.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده از رشد (MIC) برای گیاهان

ابتدا 0/5 گرم از هر کدام از عصاره ها (آویشن شیرازی، مورد و اسپند) به طور جداگانه در 1 میلی لیتر DMSO حل شدند. سپس مقدار 1/25، 2/5، 5، 10، 20، 40 و 80 میکرولیتر از محلول های تهیه شده به 25 میلی لیتر محیط ذوب شده مولر هیتون آگار اضافه گردید. غلظت های نهایی حاصله به ترتیب 0/025، 0/05، 0/1، 0/2، 0/4، 0/8 و 1/6 میلی گرم بر میلی لیتر بود. بعد از مخلوط کردن کامل، محیط های حاوی هر یک از عصاره ها در داخل پلیت های استریل توزیع شدند. جهت تعیین حداقل غلظت باز دارنده از رشد 10 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (نیم مک فارلند) به پلیت های حاوی عصاره اضافه گردید و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه و سپس نتایج، مورد بررسی

جدول 1. توزیع تعداد (درصد) بیماران دچار سوختگی بر حسب سن و درصد سوختگی

درصد سوختگی	1-10	11-20	21-30	31-40	>41	تعداد بیماران
1-30	7 (54)	29(71)	21(58)	4 (25)	8 (57)	69(57)
31-40	3 (23)	3 (7)	5 (14)	4 (25)	4 (29)	19(16)
41-50	0 (0)	2 (5)	1 (3)	3 (19)	1 (7)	7(6)
<50	3 (23)	7 (17)	9 (25)	5 (31)	1 (7)	25(21)
تعداد کل	13(100)	41(100)	36(100)	16(100)	14(100)	120(100)

جدول 2. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) در مقابل آنتی بیوتیک ها

آنتی بیوتیک	<2	2	4	8	16	32	64	128	256
ایمی پنم	73(60/8)	8(6/6)	15(12/5)	21(17/5)	1(0/83)	1(0/83)	0	0	1(0/83)
مروپنم	69(57/5)	4(3/3)	14(11/6)	27(22/5)	2(1/6)	2(1/6)	1(0/83)	0	1(0/83)
آزترونام	38(31/6)	1(1/6)	0	15(12/5)	16(13/3)	23(19)	22(18/3)	3(2/5)	2(1/6)
سفنازیدیم	5(4/1)	18(15)	4(3/3)	7(5/8)	7(5/8)	7(5/8)	13(10/8)	41(34/1)	18(15)
سفوتاکسیم	3(2/5)	11(9/1)	2(1/6)	4(3/3)	10(8/3)	18(15)	19(15/8)	46(38/3)	7(5/8)

شناسایی شدند (شکل 1) و هیچ کدام از نمونه ها دارای متالوبتالاکتاماز نبودند (شکل 2). با توجه به تاثیر بیشتر عصاره

از مجموع 120 نمونه، تعداد 41 نمونه (34 درصد) به عنوان باکتری های تولید کننده بتا لاکتامازهای وسیع الطیف

و ایمنی پنم 3 درصد بود. مطالعات مختلف شیوع بالای از مقاومت را در ایران و کشورهای دیگر نشان می دهد. در تحقیقی که شاهچراغی و همکاران در سال 2003-2004 در بخش سوختگی بیمارستان مطهری و توحید تهران انجام دادند، مشخص شد که پسودوموناس به داروهای سفنازیدیم (96 درصد)، کانامایسین (96 درصد)، جنتامایسین (93/7 درصد)، آمیکاسین (93/4 درصد)، تتراسیکلین (91 درصد) و سپروفلوکساسین (86/7 درصد) مقاوم می باشد (15). متأسفانه میزان مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از سوختگی ها در ایران نسبت به سایر کشورها بیشتر است.

آویشن شیرازی بر روی سویه های استاندارد، این عصاره نیز بر روی باکتری های ایزوله شده از بیماران اثر داده شد که 37 ایزوله در غلظت 0/025 میلی گرم بر میلی لیتر حساس بودند ولی 4 ایزوله حتی در غلظت های بالاتر هم مقاومت نشان دادند. نتایج تاثیر هر سه عصاره در رقت های مختلف بر روی سوش های استاندارد در جداول 3، 4 و 5 ارائه شده است.

بحث

پسودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب بوده که در افراد دچار نقص سیستم ایمنی ایجاد بیماری می کند. در مطالعه ما مقاومت نسبت به سفنازیدیم 66 درصد، آزترونام 42 درصد، سفوتاکسیم 60 درصد، مروپنم 5 درصد

جدول 3. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی آویشن شیرازی در غلظت های مختلف

نام سوش استاندارد	0/025	0/05	0/1	0/2	0/4	0/8	1/6	3/2
ESBL (PER+)	+	+	+	+	+	+	+	+
PAOI	-	-	-	-	-	-	-	-
8821M	+	+	+	+	+	-	-	-
ATCC27853	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) نشان دهنده رشد باکتری در محیط و (-) نشان دهنده عدم رشد باکتری در محیط می باشد.

جدول 4. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی مورد در غلظت های مختلف

نام سوش استاندارد	0/025	0/05	0/1	0/2	0/4	0/8	1/6	3/2
ESBL (PER+)	+	+	+	+	+	+	+	+
PAOI	+	+	+	+	+	-	-	-
8821M	+	+	-	-	-	-	-	-
ATCC27853	+	+	-	-	-	-	-	-

(+) نشان دهنده رشد باکتری در محیط و (-) نشان دهنده عدم رشد باکتری در محیط می باشد.

جدول 5. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی اسپند در غلظت های مختلف

نام سوش استاندارد	0/025	0/05	0/1	0/2	0/4	0/8	1/6	3/2
ESBL (PER+)	+	+	+	+	+	+	+	+
PAOI	+	+	-	-	-	-	-	-
8821M	+	+	+	+	+	+	+	-
ATCC27853	+	+	+	+	+	+	-	-

(+) : نشان دهنده رشد باکتری در محیط و (-) نشان دهنده عدم رشد باکتری در محیط می باشد

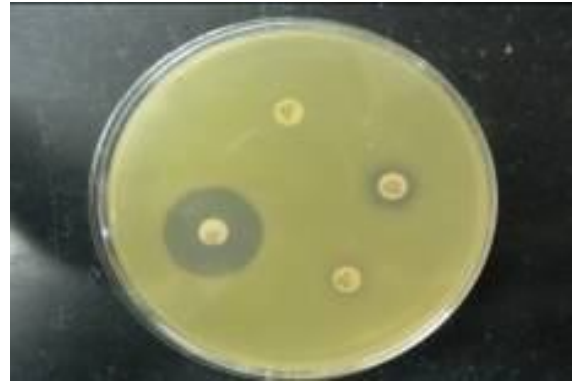
آمده در درمان، بررسی عصاره های گیاهی اهمیت بیشتری پیدا می کند.

در بررسی که خسروی و همکاران در شهر اهواز انجام دادند از 100 نمونه بررسی، 41 درصد از نمونه ها مقاوم به ایمنی پنم بودند (16). با توجه به اهمیت مشکلات بوجود

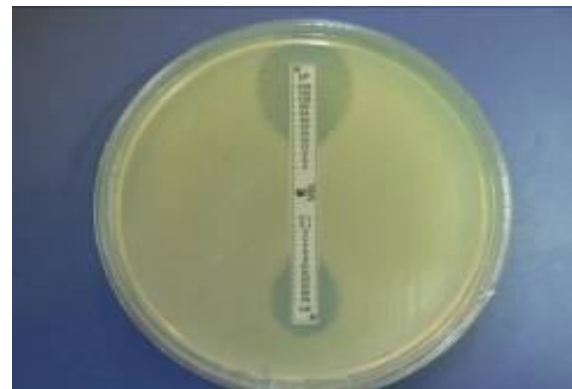
همکاران نشان دادند که عصاره آویشن بر روی سویه های استاندارد استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیاکلی موثر می باشد (12). ایاک و همکاران اثر چندین عصاره گیاهی بر روی باکتری های اطراف دهان و دندان (پریودنتال) از جمله پورفیرومونات ژنژیوالیس، گونه های پروتلا، کاپنوسایتوفاگا و غیره را بررسی کردند که نتایج آنها استفاده از عصاره های گیاهی را در پیشگیری از بیماری های دهانی پیشنهاد می کند (21). همچنین دپا و همکاران اثر عصاره های مختلف گیاه *Salacia beddomei* را روی انواع باکتری های مختلف مشخص نمودند (22).

نتیجه گیری

یکی از عوامل بالای مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران بخش سوختگی، باکتری های تولید کننده بتالاکتاماز با طیف وسیع می باشد. عصاره متانولی گیاه آویشن شیرازی اثر قوی تر نسبت به عصاره مورد و اسپند بر روی سویه های استاندارد داشت. همچنین مقایسه اثر آنتی بیوتیک ها با عصاره متانولی آویشن شیرازی نشان می دهد که بیشتر باکتری های ایزوله شده، به این عصاره حساسیت بیشتری نسبت به آنتی بیوتیک دارند. در مجموع عصاره های گیاهی به علت تهیه آسان، کم هزینه بودن و عوارض جانبی کمتر، می توانند به جای آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت ها استفاده شوند که نیاز به تحقیق گسترده و بررسی بیشتری می باشد. در پایان پیشنهاد می شود که علاوه بر عصاره متانولی گیاهان فوق، از سایر فراکشن ها و اسانس های آنها نیز استفاده شود. برای اثبات نهایی تاثیر عصاره های فوق بهتر است این کار در سیستم های موجودات زنده آزمایشگاهی نیز انجام شود. در ضمن بهتر است در آینده باکتری های تولید کننده بتالاکتاماز در آزمایشگاه های بیمارستان شناسایی شده تا داروی مناسب توسط پزشکان تجویز گردد.



شکل 1. تست فنوتیپی تاییدی



شکل 2. شناسایی متالوبتالاکتاماز به کمک نوارهای E-test MBL

در مطالعات مختلفی تاثیر عصاره مورد بر روی باکتری های مختلف انجام شده است و تاثیر ضد باکتریایی آن ثابت شده است (17). منصوری و همکاران نشان دادند که گیاه مورد رشد استافیلوکوک را مهار می کند (18). در مطالعه غلامحسینیان و همکاران مشخص شد که عصاره گیاه مورد در غلظت 12/5 میلی گرم بر میلی لیتر از رشد باکتری *E. coli* K12 مانع می کند (13). در گذشته از اسپند نیز به عنوان ضد عفونی کننده و ضد انگل استفاده های فراوانی می شد. دانه این گیاه به دلیل وجود مجموعه ای از مواد آلکالوئیدی از جمله بتاکربولین ها دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد انگل های روده ای می باشد (14). در مطالعه ای نشان داده شد که تمام فراکشن های گیاه اسپند (کلروفرم، متانولی و غیره) فعالیت خوبی علیه استافیلوکوک اورئوس دارد (19). البرزی و همکاران در سال 2002 گزارش دادند که آویشن شیرازی بر روی پseudomonas های ایزوله شده از بیماران بخش سوختگی موثر بوده است (20). همچنین شریفی فر و

Novel variant (bla(VIM-11)) of the metallo- β -lactamase bla(VIM) family in a GES-1 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(1):474-5.

9. Villegas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T, Quinn JP, et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004; 49(3): 217-22.

10. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):2990-5.

11. Altöparlak U, Aktas F, Celebi D, Özkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo- β -lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns.* 2005; 31(6): 707-10.

12. Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 2007; 18(7): 800-5.

13. Gholamhoseinian A, Shakibaei M, Jamali Z. [Mechanism of Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Myrtus communis* L. on *E. coli* K12 HB101]. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences.* 2005;4(4):220-7.

14. Mahdavi M, Masoud J. [Scolicidal effect of alcoholic, aqueous and total alkaloids of *Peganum harmala* L. (Syrian rue) against hydatid cysts protoscolices]. *Tehran University Medical Journal (TUMJ).* 2002; 60(3): 215-26.

15. Shahcheraghi F, Feizabadi MM, Yamin V, Abiri R, Abedian Z. Serovar determination, drug resistance patterns and

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پرسنل بخش سوختگی بیمارستان شفا کرمان و بخش میکروبی شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان قدردانی می شود.

منابع

- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi G, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 4th ed: Mosby; 2002.
- Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- β -lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(7):3129-35.
- Tredget EE, Shankowsky HA, Rennie R, Burrell RE, Logsetty S. *Pseudomonas* infections in the thermally injured patient. *Burns.* 2004;30(1):3-26.
- Misaghi A, Basti AA. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control.* 2007;18(9):1043-9.
- Estahbanati HK, Kashani PP, Ghanaatpisheh F. Frequency of *Pseudomonas aeruginosa* serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. *Burns.* 2002; 28(4): 340-8.
- Lee S, Park YJ, Kim M, Lee HK, Han K, Kang CS, et al. Prevalence of Ambler class A and D β -lactamases among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(1):122-7.
- Villegas MV, Lolans K, del Rosario Olivera M, Suarez CJ, Correa A, Queenan AM, et al. First detection of metallo- β -lactamase VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(1):226-9.
- Pasteran F, Faccone D, Petroni A, Rapoport M, Galas M, Vázquez M, et al.

- plasmid profiles of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients at two hospitals of Tehran (IRAN). *Burns*. 2003; 29(6): 547-51.
16. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;60(1):125-8.
17. Abdulaali NI. Effect of Carrot Extracts on *Pseudomonas aeruginosa*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009; 8(4):373-6.
18. Mansouri S, Foroumadi A, Ghaneie T, Najar AG. Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis*. *Pharmaceutical biology*. 2001; 39(5): 399-401.
19. Prashanth D, John S. Antibacterial activity of *Peganum harmala*. *Fitoterapia*. 1999; 70(4): 438-9.
20. Alborzi A, Oboodi B, Kalani M, Nasiri J. Comparison of the Effects of *Zataria multiflora* Extract by MIC Method against *Pseudomonas aeruginosa* with Fluoroquinolones, Imipenem and Ceftazidime by Conventional Method. 10th International Congress on Infectious Diseases; March 11-14; Singapore 2002
21. Iauk L, Lo Bue AM, Milazzo I, Rapisarda A, Blandino G. Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. *Phytother Res*. 2003; 17(6): 599-604.
22. Deepa MA, Narmatha Bai V. Antibacterial activity of *Salacia beddomei*. *Fitoterapia*. 2004; 75(6): 589-91