Survey the synergistic effect of the cotrimoxazole and *Nigella sativa* extract on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteria

Pooneh Mohammadpour[1], Mohammad Hossein Ahmadi[1], Mohammad Niakan[1*], Fardin Rahimi[2,3], Fatemeh Haghirsadat[4]

1. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Nanobiotechnology Research Group and Research Laboratory of Shahed University, Tehran, Iran
3. Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

*** Corresponding author e-mail: niakan@shahed.ac.ir**

Abstract

Background and Objective: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* is one of the most important pathogens causes of hospital infections in the world, which has become resistant to many common antibiotics. Increasing antibiotic resistance in bacteria has increased attention to herbal medicines and natural antimicrobial substances. Due to its metabolites such as thymoquinone, *Nigella sativa* has various effects, including antibacterial properties. This research was conducted to determine the antibacterial effect of *Nigella sativa* extract and the cotrimoxazole, as well as the combined effect of these two substances on the standard MRSA strain in laboratory conditions.

Materials and Methods: In this study antimicrobial effects of *Nigella sativa* extract and cotrimoxazole separately and together using the checkerboard method on MRSA (ATCC33591) standard strain were investigated by microdilution method and their minimum growth inhibitory concentration (MIC) were determined.

Results: Cotrimoxazole antibiotic at MIC of 5 µg/ml and *Nigella sativa* extract at 4.687 mg/ml prevented the growth of the target bacteria. When combining both of them were tested, the MIC concentration for both extract and antibiotic combinations was significantly reduced. These values were reduced to 0.292 mg/ml for the extract and 2 µg/ml for the antibiotic.

Conclusion: According to the obtained results, the antibacterial activity of *Nigella sativa* ethanolic extract and cotrimoxazole have a synergistic effect on MRSA. Thus, we can use the combination both of antibacterial agents for improving the antimicrobial effect.

Keywords: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Nigella sativa*, Cotrimoxazole, Antibacterial activity

Received: Sep 04, 2022 **Revised:** Jan 21, 2023 **Accepted:** Mar 15, 2023

How to cite this article: Mohammadpour P, Ahmadi MH, Niakan M, Rahimi F, Haghirsadat F. Survey the synergistic effect of the cotrimoxazole and Nigella sativa extract on methicillin resistant Staphylococcus aureus Bacteria. Daneshvar Medicine 2023; 31(1):13-22. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.16718.1260

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

بررسی اثر هم‌افزایی ضدباکتریایی آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره *سیاه‌دانه* بر روی سویه‌ی استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین*

پونه محمدپور[۱]، محمد حسین احمدی[۱]، محمد نیاکان[۱*]، فردین رحیمی[۳،۲]، فاطمه حقیرالسادات[۴]

۱. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. گروه پژوهشی نانوبیوتکنولوژی و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. گروه علوم وفنون نوین پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه شهیدصدوقی یزد، یزد، ایران

*نویسنده مسئول: محمد نیاکان **Email:** niakan@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (*MRSA*) یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی در دنیا می‌باشد که نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک‌های رایج، مقاوم شده است. افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری‌ها توجه به داروهای گیاهی و مواد ضدمیکروبی طبیعی را بیشتر نموده است. سیاه‌دانه به دلیل داشتن متابولیت هایی مانند تیموکینون دارای اثرات مختلفی از جمله خاصیت ضد باکتریایی می‌باشد. این تحقیق با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و همچنین اثر ترکیبی این دو ماده بر روی سویه استاندارد *MRSA* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، اثر ضد میکروبی عصاره سیاه دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بصورت جداگانه و با هم با استفاده از روش چکربورد بر روی سویه استاندارد *MRSA* (ATCC33591) به روش میکرودایلوشن بررسی شده و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) آن تعیین گردید.

نتایج: آنتی بیوتیک کوتریموکسازول در MIC ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و عصاره سیاه‌دانه در ٤/٦٨٧ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مانع از رشد باکتری مورد نظر شدند. هنگام ترکیب این دو با یکدیگر MIC برای هر دو ترکیب عصاره و آنتی بیوتیک به طور چشمگیری کاهش یافت. این مقادیر برای عصاره ۰/۲۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آنتی بیوتیک برابر با ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تقلیل یافتند.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج بدست آمده، فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر روی *MRSA* دارای اثر سینرژیسم است و می‌توان از ترکیب این دو عامل ضدباکتربایی به منظور بهبود خاصیت-های ضدمیکروبی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، سیاه‌دانه، کوتریموکسازول، خاصیت ضد باکتریایی

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۰۶/۱۳
اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱
پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴

مقدمه

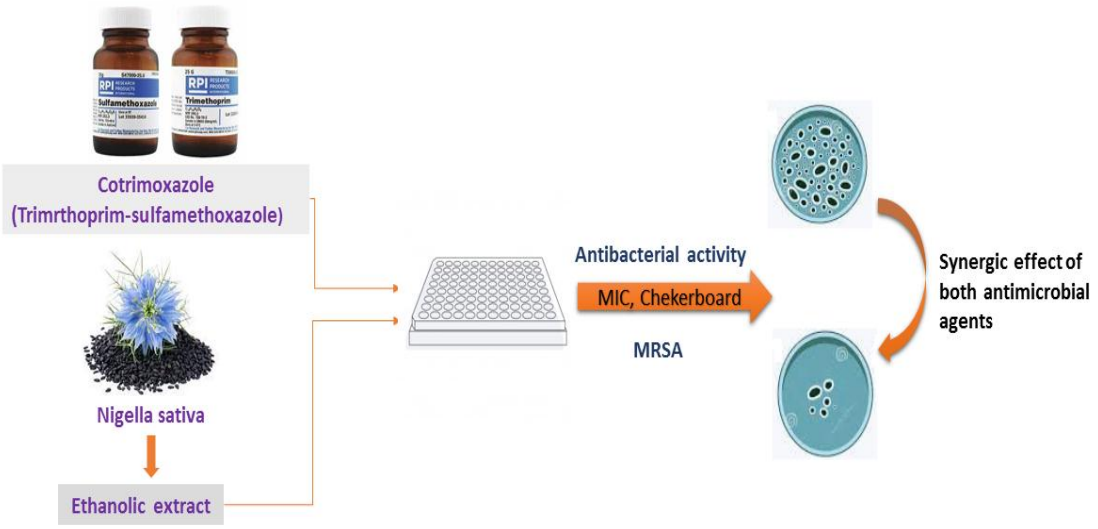
استافیلوکوکوس‌ها، میکروارگانیسم‌هایی مقاوم و پراکنده در محیط هستند. همچنین بر روی پوست و غشاهای مخاطی انسان و حیوانات نیز وجود دارند. این باکتری‌ها می‌توانند عفونت‌های سطحی یا عمیق و کشنده را ایجاد کنند و از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند (۱). استافیلوکوکوس اورئوس، مهم‌ترین گونه‌ی جنس استافیلوکوکوس می‌باشد که اولین بار از نمونه‌ی چرک آبسه‌ی جراحی جدا شد. این باکتری به صورت کوکسی گرم مثبت، کواگولاز مثبت و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد که زیر میکروسکوپ به صورت خوشه‌ای دیده می‌شود و در کشت‌های مایع به صورت کوکسی‌های منفرد، دوتایی، چهارتایی و زنجیره‌ای قابل مشاهده هستند (٤-۲). این باکتری به دلیل تولید رنگدانه طلایی کاروتنوئیدی به نام استافیلوگزانتین[1]، کلنی‌های زرد رنگی ایجاد می‌کند. این پیگمان به عنوان آنتی اکسیدان عمل کرده و از باکتری در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (۲). باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، آنزیم کاتالاز تولید می‌کند که باعث تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (۵). یکی از مشکلات جدی در پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت رو به افزایش این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج است که عمده‌ی آن‌ها آنتی بیوتیک‌های گروه بتالاکتام مانند پنی سیلین، متی سیلین، نفی سیلین، اگزاسیلین و سفالوسپورین‌ها می‌باشند (٦). در حال حاضر بیشتر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل کسب ژن *mecA* به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام و سایر کلاس‌های آنتی بیوتیکی مقاوم می‌باشند (۷). حضور ژن *mecA* باعث بروز استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین(*MRSA*)[2] و عدم حضور آن، استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین (*MSSA*)[3] را ایجاد می‌کند (۸). عفونت بیمارستانی عفونتی است که ظرف ٤۸ ساعت پس از بستری شدن در بیمارستان، ۳ روز پس از ترخیص یا ۳۰ روز پس از اعمال جراحی در فرد ایجاد شود (۹). سازمان بهداشت جهانی از عفونت های بیمارستانی به عنوان عامل طولانی شدن مدت زمان بستری در بیمارستان، افزایش مقاومت میکروارگانیسم ها نسبت به آنتی‌بیوتیک ها، افزایش هزینه های مراقبت های بهداشتی و همچنین افزایش مرگ و میر در بیماران بستری نام می‌برد (۹). حدود ۷۰٪ از عفونت های بیمارستانی توسط هفت پاتوژن ایجاد می‌شود که یکی از مهم‌ترین پاتوژن های ایجاد کننده ی این عفونت ها *MRSA* می‌باشد (۱،۱۰). گسترش عفونت با *MRSA* در بیمارانی که سیستم ایمنی آن‌ها تضعیف شده و زخم‌های عمیق یا سطحی پوست، سوختگی و یا زخم بستر دارند، علاوه بر عفونت های پوستی ، می‌توانند باعث عفونت‌های جدی و خطرناک در ارگان‌های مختلف بدن شود (۱۱). همچنین *MRSA* می‌تواند در بیماران بستری در بیمارستان، بیماری هایی مانند عفونت زخم جراحی یا پنومونی ناشی از ونتیلاتور ایجاد کند (۱۳،۱۲).

به دلیل افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، یکی از راهبردهای درمانی در برابر عفونت‌های *MRSA* توسل به مواد ضدمیکروبی قدیمی‌تر است. تری متوپریم/سولفامتوکسازول[4] (که با نام کوتریموکسازول[5] شناخته می‌شود) یک عامل خط دوم ارزشمند برای درمان عفونت‌های *MRSA* می‌باشد که درصد مقاومت‌های مختلفی نسبت به آن دیده شده است (١٤). کوتریموکسازول از ترکیب تری متوپریم و سولفامتوکسازول با نسبت ۱ به ۵ تشکیل می‌شود. این آنتی بیوتیک دارای عوارض جانبی بسیاری از جمله عوارض جلدی و گوارشی، لکومیا، ترومبوسیتوپنی، سندرم استیون جانسون و آسیب کبدی و کلیوی می‌باشد (۱۵). امروزه با افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک ها و عوارض جانبی ناشی از مصرف بی رویه‌ی آن‌ها، برای درمان بیماری ها از جمله عفونت‌ها، استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرارگرفته است . ایران کشوری غنی از تنوع زیستی گونه های گیاهی است که تصور می‌شود پتانسیل دارویی دارند. گیاهان دارویی مزیت های متعددی از قبیل ارزان و قابل دسترس بودن و سازگاری با طبع و پذیرش بهتر توسط بیماران را

[1] Staphyloxanthin
[2] *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus*
[3] *Methicillin-Susceptible Staphylococcus Aureus*
[4] Trimethoprim / Sulfamethoxazole
[5] Co-trimoxazole

دارند (۱۶). طبق بررسی های انجام گرفته، سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa* اثرات ضد باکتریایی خوبی داشته و همچنین اثر آن بر *MRSA* در مقالات ذکر شده است (۱۸-۱۶). از این گیاه دارویی برای معالجه بیماری هایی مانند آسم، برونشیت و بیماری‌های التهابی، بیماریهای پوستی، سر درد مزمن، میگرن، روماتیسم، مشکلات دستگاه گوارش نیز استفاده میشود (۱۷،۱۹). تاکنون مطالعات مختلفی از اثر عصاره سیاه‌دانه بر باکتری‌ها انجام شده است اما گزارشی مبنی بر بررسی اثر ترکیب این عصاره با آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر روی *MRSA* مشاهده نشد.

در این مطالعه اثر ضدباکتریایی کوتریموکسازول و عصاره‌ی سیاه‌دانه با استفاده از روش میکرودایلوشن براث بصورت جدا و در ترکیب با هم بر روی سویه استاندارد *MRSA* مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود، اثر ترکیب آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره سیاه‌دانه به روش چکربورد در پلیت ۹۶ خانه بررسی شد.



شکل ۱. شمایی از پژوهش حاضر مبنی بر فعالیت ضد باکتری آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره اتانولی سیاه‌دانه

مواد و روش‌ها

مواد استفاده شده در این پژوهش عبارتند از سویه استاندارد *MRSA* ATCC 33591، پودر آنتی بیوتیک تری متوپریم و سولفامتوکسازول از شرکت ایبرسکو، عصاره اتانولی سیاه‌دانه از دانشگاه یزد تهیه شدند. محیط‌های کشت مولرهینتون آگار و مولرهینتون براث سیگما آلدریچ مورد استفاده قرار گرفتند. انکوباتور (Memmert –Germany) برای رشد باکتری ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه طیف سنجی فرابنفش-مرئی (Perkin Elemer) USA – به منظور اندازه گیری غلظت و توده باکتریایی استفاده گردید.

در این مطالعه *MRSA* در محیط مولرهینتون آگار کشت داده شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد (۲۰). در تمام مراحل از کشت ۲۴ ساعته استفاده شد. برای تهیه آنتی بیوتیک کوتریموکسازول از پودر خالص تری متوپریم و سولفامتوکسازول به نسبت ۱ به ۵ استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده‌ی رشد (MIC) آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره اتانولی سیاه دانه علیه *MRSA*

برای تعیین MIC از روش میکرودیلوشن براث[1] استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، تعدادی کلنی *MRSA* در آب مقطر استریل حل شد تا کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند حاصل گردد. سپس OD[2] سوسپانسیون حاصله با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر

[1] Micro dilution broth
[2] Optical density

اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت سوسپانسیون باکتری با کدورت محلول نیم مک فارلند با آب مقطر رقیق شد. OD بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ معادل CFU/mL $۱/۵\times۱۰^{۸}$ می‌باشد. سپس غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ساخته شد. در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه شده سپس غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره به خانه‌ی اول افزوده شده و رقت سازی بدین صورت انجام شد که ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم افزوده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک دوم به چاهک سوم افزوده شد و به همین ترتیب تا چاهک آخر پیش رفته و از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد. به این ترتیب غلظت چاهک‌ها برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب زیر بود :

۳۰۰–۱۵۰–۷۵–۳۷/۵–۱۸/۷۵–۹/۳۷–۴/۶۸–۲/۳۴–۱/۱۷–۰/۵۸–۰/۲۹–۰/۱۴۲

سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم مک فارلند باکتری به هر چاهک افزوده شد. چاهک شماره یازده کنترل مثبت و چاهک شماره دوازده کنترل منفی در نظر گرفته شد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه، از چاهک ها روی محیط مولرهینتون آگار کشت تهیه و پلیت‌ها ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، محیط‌ها از نظر رشد کلنی بررسی شدند.

مراحل بالا برای آنتی بیوتیک کوتریموکسازول هم انجام شد. رقت آنتی بیوتیک در چاهک‌های میکروپلیت برحسب میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب زیر بود:

۰/۰۰۹–۰/۰۱۹–۰/۰۳۹–۰/۰۷۸–۰/۱۵۶–۰/۳۱۲–۰/۶۲۵–۱/۲۵–۲/۵–۵–۱۰

این مراحل برای عصاره و آنتی‌بیوتیک هرکدام با ۳ بار تکرار انجام شد (۲۱).

تعیین MIC و ارزیابی برهمکنش ترکیب کوتریموکسازول و عصاره‌ی سیاه‌دانه با روش چکربورد[1]

برای ارزیابی برهمکنش آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره سیاه‌دانه از روش چکربورد استفاده شد. ارزیابی توام اثر ضدمیکروبی آنتی بیوتیک کوتریموکسازول و عصاره سیاه‌دانه مطابق با معادلات ۱ تا ۳ انجام گردید.

معادله۱

$$FIC_A = \frac{MIC_A \text{ in combination}}{MIC_A \text{ alone}}$$

معادله ۲

$$FIC_B = \frac{MIC_B \text{ in combination}}{MIC_B \text{ alone}}$$

معادله ۳

$$FIC_{AB} = FIC_A + FIC_B$$

در این معادلات MIC_A in combination: حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی بیوتیک به صورت ترکیبی، MIC_A alone: حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی بیوتیک به تنهایی، MIC_B in combination : حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره به صورت ترکیبی، MIC_B alone: حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره به تنهایی، FIC_A: غلظت بازدارنده‌ی افتراقی آنتی بیوتیک و FIC_B: غلظت بازدارنده‌ی افتراقی عصاره می‌باشد. چنانچه $FIC<0/5$ باشد حالت هم افزایی، $1\leq FIC\leq 0/5$ حالت افزایشی، $1<FIC\leq 4$ حالت عدم تاثیر و در نهایت $FIC>4$ حالت کاهش اثر می‌باشد (۲۲).

در این روش در تمام چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه به میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث افزوده شد. سپس در چاهک اول تمام ردیف‌ها ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی سیاه‌دانه افزوده شده و تا چاهک شماره ۱۱ رقت سازی انجام شد. استوک اولیه‌ی عصاره دارای غلظت ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. سپس در ستون ها از بالا به پایین رقت‌های آنتی بیوتیک به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به تمام چاهک‌ها افزوده شد. بطوریکه ردیف A دارای رقت استوک و ردیف B دارای نصف رقت استوک و به همین ترتیب تا ردیف G ادامه داده شد. استوک اولیه‌ی آنتی بیوتیک دارای غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و سایر رقت ها بطور جداگانه ساخته شده سپس به چاهک‌ها افزوده شد. در مرحله‌ی بعد، از سوسپانیون باکتری با غلظت نیم مک فارلند، به میزان ۱۰ میکرولیتر به هرچاهک افزوده شد. ستون شماره‌ی ۱۲ به عنوان کنترل منفی آنتی بیوتیک و ردیف H به عنوان کنترل منفی عصاره در نظر گرفته شد و فاقد سوسپانسیون بودند. همچنین چاهک H12 نیز به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس از چاهک‌ها کشت

[1] Checkerboard

تهیه شده و پس از انکوباسیون، محدوده‌ی اثر ترکیب کوتریموکسازول و عصاره سیاه‌دانه بررسی شد (۲۳).

نتایج

محیط کشت‌های نمونه‌های حاوی عصاره و آنتی بیوتیک بصورت جدا مشاهده شده و نتایج در جدول۱ آورده شده است. MIC و MBC آنتی بیوتیک کوتریموکسازول به ترتیب برابر با ۵ و ٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر در هر سه بار تکرار بدست آمد. همچنین MIC و MBC برای عصاره سیاه‌دانه به ترتیب برابر با ٤/٦٨ و ۹/۳۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر سه بار تکرار بدست آمد (نمودار۱).

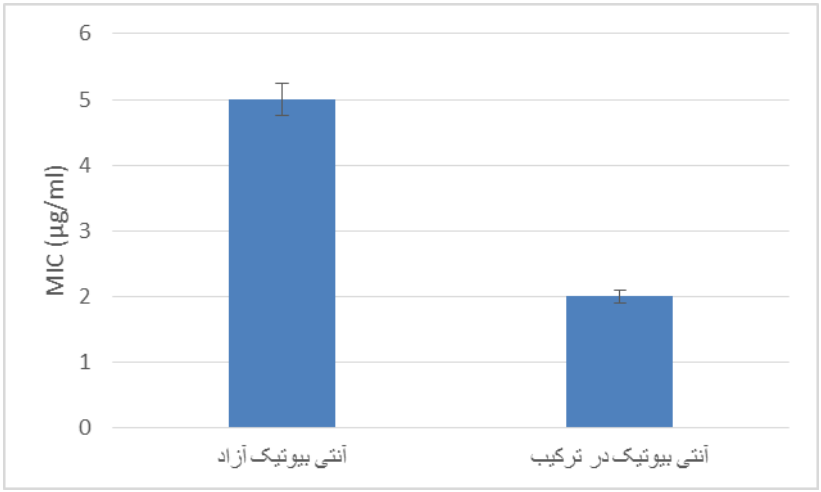
در بررسی محیط‌های کشت چکربورد، همانطور که در جدول ۱ اشاره شده است، مشاهده شد باکتری از چاهک دارای غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی بیوتیک و ۰/۲۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره شروع به رشد کرده بود و MIC وMBC در روش چکربورد برای آنتی بیوتیک ۲ و ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره ۰/۲۹۲ و ۰/۵۸۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (شکل ۱). در چاهک‌های کنترل مثبت، رشد مشاهده شد اما کنترل منفی فاقد رشد بود. اثر سینرژیسم عصاره و انتی بیوتیک با استفاده از معادله‌های ۱ تا ۳ به صورت زیر محاسبه شد.

$$FIC_{AB} = \frac{2}{5} + \frac{0/292}{4/68} = 0/462$$

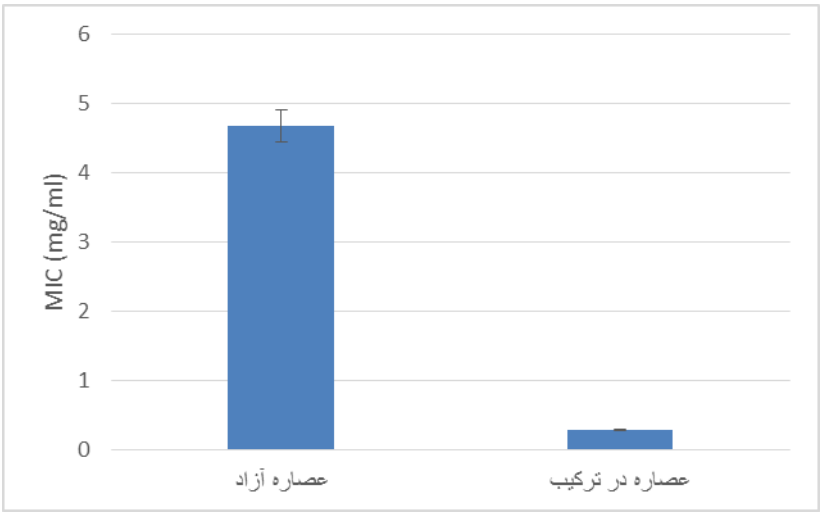
عدد بدست آمده برابر با ۰/٤٦۲ بود که کمتر از ۰/۵ می‌باشد و نشان‌دهنده‌ی اثر سینرژیسم آنتی بیوتیک و عصاره می‌باشد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزارآماری SAS نسخه ۹/٤ انجام شد و برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر سه بارتکرار شد. نمودار۱ و ۲ نشان دهنده‌ی میزان غلظت آنتی بیوتیک و عصاره و ترکیب هردو بر رشد باکتری می‌باشند.

جدول ۱. مقادیر MIC و MBC (mg/ml) عصاره سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر روی MRSA

عصاره (mg/ml)	آنتی بیوتیک (µg/ml)	عصاره در ترکیب (mg/m)	آنتی بیوتیک در ترکیب (µg/ml)	
4/68	5	0/292	2	MIC
9/37	12	0/585	2/5	MBC



نمودار ۱. میزان غلظت بازدارنده آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر باکتری



نمودار ۲. میزان غلظت بازدارنده عصاره سیاه‌دانه بر باکتری

بحث

این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بصورت جداگانه و همچنین بررسی اثر ترکیب آنتی بیوتیک کوتریموکسازول با عصاره سیاه‌دانه بر باکتری *MRSA* انجام شد. امروزه به علت استفاده‌ی بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها با افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی روبه‌رو هستیم. در ایران نیز انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتری‌های بیماری‌زا به یک چالش مهم در درمان بیماری‌های عفونی تبدیل شده است. طبق مطالعات انجام شده، کوکسی‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس‌ها از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند (۱۰). به دلیل افزایش مقاومت، یکی از راهبردهای درمانی در برابر عفونت‌های MRSA توسل به مواد ضدمیکروبی قدیمی‌تر است. کوتریموکسازول یک عامل خط دوم ارزشمند برای درمان عفونت‌های MRSA می‌باشد (۱٤). با افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک ها و عوارض جانبی ناشی از مصرف بی رویه‌ی آن‌ها، برای درمان بیماری ها از جمله عفونت ها، استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرارگرفته است . گیاهان دارویی مزیت های متعددی از قبیل ارزان و قابل دسترس بودن و سازگاری با طبع و پذیرش بهتر توسط بیماران را دارند (۱٦). علت خاصیت ضد میکروبی سیاه‌دانه وجود ماده‌ی تیموکینون و هیدروکینون می‌باشد که تاثیر آن در حد قابل مقایسه با آنتی بیوتیک آموکسی سیلین می‌باشد (۲٤،۲۵). گودرزی و همکاران در سال ۹٤ اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه‌دانه را بر باکتری‌های جدا شده از بیماران بخش مراقبت‌های ویژه بررسی کردند. نمونه‌های بررسی شده شامل نمونه های دستگاه تنفسی، نمونه‌ی خون، زخم، ادرار و مایع مغزی نخاعی بودند. رشد تمامی میکروارگانیسم‌ها در غلظت‌های متفاوتی از عصاره مهار شد. صرف نظر از نوع باکتری جدا شده، رشد ۲٤ ایزوله در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ٤٦ ایزوله در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۲۹ ایزوله در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و یک ایزوله در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مهار شد (۲٦). همچنین نامجو و همکاران در سال ۹۱ طی یک مطالعه نشان دادند عصاره‌ی اتانولی سیاه‌دانه در درمان عفونت ادراری ناشی از اشریشیاکولی موثر بوده همچنین از عوارض مسمومیت کلیوی ناشی از جنتامایسین جلوگیری می‌کند (۲۷).

طبق نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی عظیمی لیسار و همکاران در سال ۹۱ میزان اثر ضد باکتریایی روغن سیاه‌دانه و آموکسی سیلین بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس برابر اما اثر روغن سیاه‌دانه بر باکتری استرپتوکوکوس سنگوئیس بیش از آموکسی سیلین بوده است (۲۸).

در سال ۲۰۲۱ سومیا و همکاران طی مطالعه‌ای حساسیت جدایه‌های بالینی بیماری‌زای انسانی و سویه‌های MTCC استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی و باسیلوس سوبتیلیس به عصاره‌ی سیاه‌دانه و عصاره‌ی برگ و دانه‌ی ترمینالیا کاتپا را بررسی کردند. در این مطالعه از سنجش انتشار دیسک، میکرورقت و حداقل غلظت باکتری‌کشی استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده، سیاه‌دانه رشد بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و سویه‌های MTCC باکتری‌های سالمونلا تیفی و باسیلوس سوبتیلیس را مهار کرد (۲۹). مواکه و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثر ضد باکتری اسانس سیاه‌دانه و ترکیبات آن (شامل تیموکینون، کارواکرول و p-سیمن) را بر باکتری لیستریا مونوسایتوژنز بررسی کردند. طبق نتایج بدست آمده، لیستریا مونوسایتوژنز حساسیت قابل توجهی به اسانس سیاه‌دانه، تیموکینون و کارواکرول نشان داد. همچنین در این مطالعه کاهش قابل توجهی در MIC سیپروفلوکساسین در ترکیب با اسانس سیاه‌دانه، تیموکینون، کارواکرول و رزرپین مشاهده شد (۳۰).

سالم و همکاران در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای اثربخشی سیاه‌دانه را در ریشه‌کنی عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به سوءهاضمه غیر زخمی بررسی کردند. این پژوهش بر روی ۸۸ بیمار بزرگسال انجام شد و اثربخشی سیاه‌دانه در مقادیر مختلف با درمان سه‌گانه شامل کلاریترومایسین، آموکسی سیلین و امپرازول مقایسه شد. طبق نتایج بدست آمده میزان ریشه‌کنی با ۲ گرم سیاه‌دانه به همراه امپرازول تفاوت معناداری با درمان سه گانه نداشت. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده‌ی فعالیت مفید بالینی سیاه‌دانه بر ضد هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد که با درمان سه‌گانه قابل مقایسه است (۳۱).

در مطالعه کنونی، هدف اصلی بررسی اثر عصاره‌ی سیاه‌دانه و بررسی اثر همزمان عصاره‌ی سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر باکتری MRSA می‌باشد. سیاه‌دانه حاوی تیموکینون، P-سیمن، کارواکرول، نیجلیسین، نیجلیدین، ساپونین و غیره می‌باشد (۳۲). برای اولین بار ترکیب عصاره سیاه‌دانه با آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بر باکتری مذکور مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اثر هم‌افزایی مشاهده شده می‌توان در ترکیبات و داروهای ضدباکتریایی از آن استفاده کرد. در بررسی کنونی اثر عصاره اتانولی سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بصورت جدا و در ترکیب با هم بر سویه استاندارد *MRSA* بررسی شد. دراین بررسی تاثیرعصاره سیاه‌دانه بر باکتری مورد نظر بررسی شد. همچنین با توجه به نتایج حاصل از تست چکربورد، ترکیب عصاره سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتیموکسازول باعث افزایش اثر آنتی بیوتیک بر باکتری مذکور شده و و می‌تواند دوز مصرفی دارو را کاهش داده و باعث اثربخشی بهتر دارو بر باکتری شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با توجه به نتایج بدست آمده از تاثیر عصاره سیاه‌دانه و آنتی بیوتیک کوتریموکسازول بصورت جدا و همچنین تاثیر همزمان دو ماده مشاهده گردید که استفاده‌ی همزمان، اثر ضد باکتریایی قوی‌تری بر MRSA داشته و این دو ماده دارای اثر هم‌افزایی می‌باشند. در نتیجه عصاره‌ی سیاه‌دانه می‌تواند فعالیت کوتریموکسازول را بر سویه استاندارد باکتری MRSA بهبود بخشد. بنابراین این ترکیبات می‌توانند مزایای درمانی در برابر عفونت‌های ناشی از MRSA را ایجاد کنند.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر با کد اخلاق IR.SHAHED.REC.1400.077 توسط کمیته اخلاق دانشگاه شاهد تایید و انجام شد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

1. Rodríguez-Baño J, López-Prieto M D, Portillo M M, Retamar P, Natera C, Nuño E, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. Clinical Microbiology and Infection 2010;16(9):1408-1413.
2. Clauditz A, Resch A, Wieland K-P, Peschel A, Götz F. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. Infection and Immunity 2006;74(8):4950-4953.
3. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews 1997;10(3):505-520.
4. Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie M R. Prophage typing of *methicillin resistant staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in tehran, iran. Jundishapur Journal of Microbiology 2012;6(1):80-85.
5. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. Journal of Pathogens 2011;2011:601905-601905.
6. Becker K, Denis O, Roisin S, Mellmann A, Idelevich E A, Knaack D, et al. Detection of mecA- and mecC-Positive *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* Isolates by the New Xpert MRSA Gen 3 PCR Assay. Journal of Clinical Microbiology 2016;54(1):180-184.
7. Harrison E M, Ba X, Coll F, Blane B, Restif O, Carvell H, et al. Genomic identification of cryptic susceptibility to penicillins and β-lactamase inhibitors in *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Nature Microbiology 2019;4(10):1680-1691.
8. Pathare N A, Tejani S, Asogan H, Al Mahruqi G, Al Fakhri S, Zafarulla R, et al. Comparison of *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* in Healthy Community Hospital Visitors [CA-MRSA] and Hospital Staff [HA-MRSA]. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases 2015;7(1):e2015053-e2015053.
9. Curtis A, Moore Z, Patton D, O'Connor T, Nugent L. Does using a cellular mobile phone increase the risk of nosocomial infections in the Neonatal Intensive Care Unit: A systematic review. Journal of Neonatal Nursing 2018;24(5):247-252.
10. Mohajeri P, Izadi B, Falahi B. Frequency of hospital-acquired *methicillin resistant staphylococcus aureus* nasal carrier patients, Kermanshah, Iran. Hormozgan Medical Journal 2012;16(3):197-202.
11. Moradi N, Mousavi A, Rouzrokh S, Javadpour S. Frequency of nasal carriage for *methicillin-resistant staphylococcus aureus* among the hospital staff – bandar abbas, iran. Hormozgan Medical Journal 2011;15(2).
12. Khalili M B, Moshref M, Sharifi M, Sadeh M, Sazmand A. Prevalence Of *Staphylococcus Aureus (SA)* And *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* In Personnel Of Operation Room Of Shahid Sadoughi Hospital, Yazd, Iran. Payavard Salamat 2013;6(5):392-402.
13. Niederman M S. Treatment options for nosocomial pneumonia due to MRSA. Journal of Infection 2009;59 Suppl 1:S25-31.
14. Nurjadi D, Klein S, Hannesen J, Heeg K, Boutin S, Zanger P. Molecular analysis of an increase in trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant MRSA reveals multiple introductions into a tertiary care hospital, Germany 2012-19. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2021;77(1):38-48.
15. Rubin R H, Swartz M N. Trimethoprim-sulfamethoxazole. The New England Journal of Medicine 1980;303(8):426-432.
16. Niakan M, Miri S R A, Naseri M, Karimi M, Mansouri S. In vitro anti-*staphylococcus aureus* activity of *nigella sativa* l. Seed oil extract, compared with cxm, cec, man and caz antibiotics. Journal of medicinal Plants 2006;5(19):29-33.
17. Gholamnezhad Z, Havakhah S, Boskabady M H. Preclinical and clinical effects of Nigella sativa and its constituent, thymoquinone: A review. Journal of Ethnopharmacology 2016;190:372-386.
18. Hannan A, Saleem S, Chaudhary S, Barkaat M, Arshad M U. Anti bacterial activity of Nigella sativa against clinical isolates of *methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Journal of Ayub Medical College Abbottabad 2008;20(3):72-74.
19. Forouzanfar F, Bazzaz B S, Hosseinzadeh H. Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2014;17(12):929-938.
20. Shakiba M, Ashrafi F. Evaluation of prevalence of MepA, MdeA, NorA and NorC genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from Tehran hospitals. Daneshvar Medicine 2020;28(147):1-13.
21. Baron E J, Finegold S M. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Edition t, editor 1990.
22. Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. The combined effect of the combined Fennel and Clove essential oils on *Staphylococcus*

epidermidis, Bacillus cereus, Salmonella typhi and *Enterobacter aerogenes* using Checkerboard assay (fractional inhibitory concentration index). Iranian Journal of Food Science and Technology 2020;17(106):75-83.
23. Basri D F, Khairon R. Pharmacodynamic Interaction of Quercus infectoria Galls Extract in Combination with Vancomycin against MRSA Using Microdilution Checkerboard and Time-Kill Assay. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012;2012:493156.
24. Halawani E. Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. Advances in Biological Research 2009;3:148-152.
25. Kouidhi B, Zmantar T, Jrah H, Souiden Y, Chaieb K, Mahdouani K, et al. Antibacterial and resistance-modifying activities of thymoquinone against oral pathogens. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2011;10:29. doi: 10.1186/1476-0711-10-29.
26. Goudarzi h, Azad M, Navidinia M, Goudarzi M. Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Ethanolic Extract Against Isolated Bacteria from Intensive Care Unit Patients. Internal Medicine Today 2015;21(4):103-108.
27. Namjoo A, Sadri S M, Rafeian M, Ashrafi K, Shahin Fard N, Ansari samani R, et al. Comparing the Effects of *Nigella Sativa* Extract and Gentamicin in Treatment of Urinary Tract Infection Caused by Ecoli. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2013;22(96):22-29.
28. Azimi Laysar H, Niakan M, Mohammad Taghi G, Jafarian Z, Mostafavizade M, Niakan S. Comparison of the antibacterial activity of various concentrations of *Nigella Sativa* and Nanosilver on the growth of S.sanguis and S. mutans. Journal of Research in Medical and Dental Science 2013;9(4):179-186.
29. Sowmya, Raveesha K A. Antibacterial Activity and Time-kill Assay of Terminalia catappa L. and *Nigella sativa L*. against Selected Human Pathogenic Bacteria. Journal of Pure and Applied Microbiology 2021;15(1):285-299.
30. Mouwakeh A, Telbisz Á, Spengler G, Mohácsi-Farkas C, Kiskó G. Antibacterial and Resistance Modifying Activities of *Nigella sativa* Essential Oil and its Active Compounds Against Listeria monocytogenes. In Vivo 2018;32(4):737-743.
31. Salem E M, Yar T, Bamosa A O, Al-Quorain A, Yasawy M I, Alsulaiman R M, et al. Comparative study of *Nigella Sativa* and triple therapy in eradication of Helicobacter Pylori in patients with non-ulcer dyspepsia. Saudi Journal of Gastroenterology 2010;16(3):207-214.
32. Ziaei T, Moharreri N, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological and toxicological effects of nigella sativa and its active constituents. Journal of Medicinal Plants 2012;11(42).