# Eevaluation of the effectiveness of the combination of the antibiotic meropenem and the ethanolic extract of *Vaccinum arctostaphylus* plant on the standard strain of *Acintobacter baumannii bacteria*

**Zahra Shirzad[1], Mohammad Niakan[1]*, Fardin Rahimi[2], Fateme Haghiralsadat[3]**

1. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Nanobiotechnology research group and research laboratory of Shahed University, Tehran, Iran
3. 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:** *Acinetobacter baumannii* is a gram-negative opportunistic pathogen and one of the most important hospital pathogens. Antibiotic resistance helps *Acinetobacter baumannii* to survive in environments under antibiotic stress and complicates treatment. On the other hand, the excessive use of antibiotics causes destructive effects on body organs. *Vaccinium arctostaphylus* plant is used in the treatment of mental diseases due to its abundant polyphenols, including flavonoids, which have significant antibacterial properties. This research is the first to determine the antibacterial effect of meropenem and the ethanolic extract of *vacinium arctostaphylus* plant in combination, and it was done separately on the standard strain of *Acinetobacter baumannii* in laboratory conditions

**Materials and Methods:** Firstly, the antimicrobial effect of meropenem and ethanol extract of vaccinium alone on the standard strain of *Acinetobacter baumannii* (ATCC19606) was determined by the microdilution method, then the inhibitory concentration for the combination of antibiotic and extract was calculated using the checkerboard method and also the relative inhibitory concentration index was also obtained**.**

**Results:** The growth inhibitory concentration of this extract along with the antibiotic decreased significantly, and in the combination of extract and meropenem, the concentration of meropenem was 0.0156 µg/mLand the concentration of extract was 0.390 µg/ml. Factorial test was used for the statistical comparison of classification variables, which showed that there is a significant relationship between the increase in extract concentration and also the combination with antibiotics.

**Conclusion:** According to the results of this study, the ethanolic extract of *arctostaphylus vaccinium* has a synergistic effect on *Acinetobacter baumannii* with meropenem. Due to the good antimicrobial effect of the vaccinium arctostaphylus with the antibiotic meropenem on the standard strain of *Acinetobacter baumannii*, they can be used in addition to antibiotics**.**

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, Vaccinium arctostaphylus, Meropenem, Inhibitory effect, Antimicrobial effect

**Received:** Jan 02, 2023 **Revised:** 20 Feb, 2023 **Accepted:** Apr 04, 2023

**How to cite the article:** Shirzad Z, Niakan M, Rahimi F , Haghiralsadat F. Eevaluation of the effectiveness of the combination of the antibiotic meropenem and the ethanolic extract of Vaccinum Arctostaphylus plant on the standard strain of Acintobacter baumannii bacteria. Daneshvar Medicine 2023; 31(1):78-87.
doi: 10.22070/DANESHMED.2023.16814.1274

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

# ارزیابی اثربخشی ترکیب آنتی‌بیوتیک مروپنم و عصاره اتانولی گیاه وکسینیوم آرکتواستافیلوس برروی سویه‌ی استاندارد اسینتوباکتربومانی

**زهرا شیرزاد[1]، محمد نیاکان[1]*، فردین رحیمی[2]، فاطمه حقیرالسادات[3]**

۱. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. گروه پژوهشی نانوبیوتکنولوژی وآزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. 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:** *اسینتوباکتر بومانی* یک پاتوژن فرصت‌طلب گرم منفی و یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های بیمارستانی می-باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی به *اسینتوباکتربومانی* کمک می‌کند تا در محیط‌های تحت استرس آنتی‌بیوتیک زنده بماند و درمان را پیچیده کند. از طرفی استفاده‌ی بیش ازحد آنتی‌بیوتیک‌ها باعث تاثیرات مخرب براعضای بدن دارند. گیاه وکسینیوم آرکتوستافیلوس به دلیل دارابودن پلی فنول فراوان من جمله فلاونوئید خاصیت آنتی‌باکتریال چشمگیری که دارد در درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود.این تحقیق اولین بار با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی داروی مروپنم و عصاره اتانولی گیاه وکسینیوم آرکتوستافیلوس بصورت ترکیبی و جداگانه برروی سویه‌ی استاندارد *اسینتوباکتربومانی* درشرایط آزمایشگاهی انجام شد.

**مواد و روش ها:** ابتدا اثرات ضدمیکروبی مروپنم و عصاره به تنهایی بر روی سویه *اسینتوباکتربومانی* (ATCC19606) به روش میکرودایلوشن تعیین گردیدند. سپس غلظت بازدارندگی برای ترکیب آنتی‌بیوتیک و عصاره با روش چکربورد محاسبه و شاخص غلظت مهاری نسبی بدست آمد.

**نتایج:** غلظت بازدارندگی رشد این عصاره به همراه آنتی یوتیک به صورت چشم‌گیری کاهش پیداکرد که در ترکیب عصاره و مروپنم به ترتیب برابر با ۰/۰۱۵٦ میکروگرم بر میلی لیتر غلظت مروپنم ۰/۳۹۰ میکروگرم بر میلی لیتر غلظت عصاره اتانلی وکسینیوم آرکتوستافیلوس بدست آمد. برای مقایسه آماری متغیرهای طبقه‌بندی ازآزمون فاکتوریل استفاده شد که نشان داد، ارتباط معناداری بین افزایش غلظت عصاره و همچنین ترکیب با آنتی بیوتیک وجود دارد.

**نتیجه‌گیری:** طبق نتایج این مطالعه، عصاره ی اتانولی گیاه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* بر روی *اسینتوباکتربومانی* همراه با مروپنم اثر سینرژیسم دارند. بدلیل اثر ضدمیکروبی بالا و مقرون به صرفه‌شان، می‌توان از عصاره همراه با آنتی-بیوتیک‌ها استفاده کرد.

**واژه های کلیدی:** *اسینتوباکتربومانی*، *وکسینیوم آرکتوستافیلوس*،مروپنم، اثرمهارکنندگی، اثر ضد میکروبی

**وصول مقاله:** ۱۴۰۱/۱۰/۱۲
**اصلاحیه نهایی:** ۱۴۰۱/۱۲/۰۱
**پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

## مقدمه

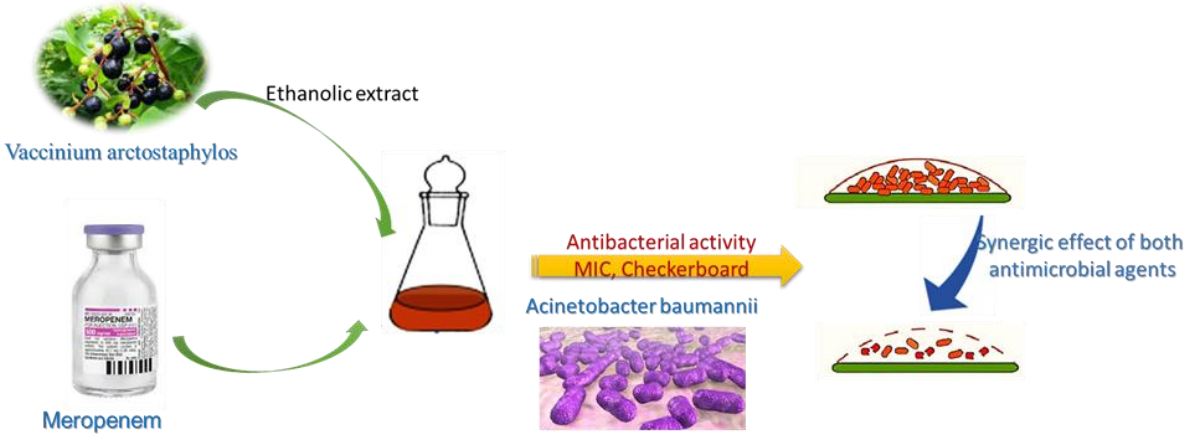
*باکتری اسینتوباکتر بومانی*[1] پاتوژن فرصت طلبی است که مشکلات شدیدی را در میزبان انسانی ایجاد می‌کند (۱). گونه‌های *اسینتوباکتر* در مواد غذایی هم رشد می‌کنند و معمولاً ساکن طبیعی پوست انسان هستند و همچنین از گلو و مجاری تنفسی جدا می‌شود. *اسینتوباکتر ها* می‌توانند بیشتر در محیط‌های بیمارستانی مشاهده می‌شوند و به علت مقاومت آنها در هر نوع شرایط محیطی باعث شده که به راحتی رشد کنند و در محیط بماند. یکی از دلایلی که باعث شده *اسینتوباکتربومانی* بیشتر در عفونت های بیمارستانی مشاهده شود به علت کولونیزاسیون به وسیله بیوفیلم در روی غشای مخاطی و همچنین پوست می‌باشد. فاکتورهای بیماریزایی *اسینتوباکتربومانی* عبارتست ازکپسول پلی‌ساکاریدی، تشکیل بیوفیلم، لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی ،سیدروفورها می‌باشند. همچنین این باکتری به همراه دیگر باکتری‌ها همچون کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس فکالیس و همچنین قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌تواند از طریق جریان خون باعث عفونت می‌شوند (۲). *اسینتوباکتربومانی* باعث عفونت‌هایی مثل باکتریمی، عفونت دستگاه ادراری، مننزیت ثانویه، سپتی سمی، عفونت‌های زخم و بافت نرم می‌باشد، ولی در بسیاری از بیماران بخش مراقبت‌های ویژه دراغلب موارد باعث پنومونی مخصوصاً پنومونی‌های همراه با ونتیلاتور می‌شود (۳). در افراد با نقص سیستم ایمنی و افراد مسن ابتلا به عفونت حاصل ازاین باکتری بیشتر است (٤). *اسینتوباکتربومانی* کوکوباسیل‌های گرم منفی، غیرتخمیری، غیرمتحرک، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی هستند (۵). گونه‌های *اسینتوباکتربومانی* جدا شده از نمونه های بالینی روی محیط جامد که در آزمایشگاه‌ها استفاده می‌شوند مانند نوترینت آگار، مولرهینتون آگار، بلادآگار در حرارت انکوباسیون ۳۷ درجه سلسیوس به راحتی رشد می‌کنند. بیشتر گونه‌های اسینتوباکتر کلنی‌های کوچکتر و روشنی را تولید می‌کنند. برای درمان عفونت‌های ناشی از *اسینتوباکتربومانی* از آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل بتالاکتام ها، آمینوگلیکوزیداز ها و فلوروکینولون ها استفاده می‌شود. اما در سال های اخیر به دلیل استفاده‌ی نامناسب و بی رویه از این آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت نسبت به آن‌ها افزایش چشمگیری داشته است. مروپنم یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف کارباپنم در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد که عملکرد خود را با نفوذ به سلول‌های باکتریایی و تداخل با آن‌ها انجام می‌دهد. مروپنم از سنتز دیواره‌ی سلولی باکتری جلوگیری کرده و باعث از بین رفتن باکتری می‌گردد که با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی کارایی این آنتی‌بیوتیک نسبت به قبل کاهش پیدا کرده است (٦). عصاره‌های گیاهی و ترکیبات موجود در اغلب گیاهان خاصیت ضد باکتریایی و خاصیت آنتی اکسیدانی و بسیاری از خواص دیگر می‌باشد و در سالهای اخیر به دلیل استفاده‌ی بی رویه از انتی‌بیوتیک‌ها، باعث اقزایش مقاومت‌های دارویی شده است و همچنین طی مطالعات که در گذشته انجام شده نشان می‌دهد استفاده از گیاهان دارویی به همراه داروهای شیمیایی تاثیرات مثبتی داشته و باعث عوارض کمتری می‌شود (۷). علاوه بر وجود مشکلات حاصل از مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، به طور قابل توجهی هزینه‌های درمان بالا رفته و بستری شدن طولانی مدت می‌شود، با افزایش این مقاومت‌ها عوارض جانبی ناشی از داروهای ضدمیکروبی می‌توانند بر قسمت‌های مختلف بدن آسیب چشمگیری داشته باشند (۸).

گیاه قره‌قاط یا بلوبری قفقازی[2] با نام علمی وکسینیوم[3] جزو خانواده اریکاسه[4] می‌باشد و تقریبا۴۵۰ گونه از این خانواده شناسایی شده است. این گیاه بیشتر در مناطق شمالی کشور و همچنین در مناطق مرتفع مشاهده می‌شود. از این گیاه عمدتاً در کشورهای اروپایی و آمریکا برای درمان بیماری‌ها استفاده زیادی می‌شود. این گیاه به صورت درختچه‌های کوتاه و با ساقه های کوچک می‌باشد و دارای دانه‌های فراوان که در بعضی از گونه های این گیاه این دانه‌ها به صورت خوراکی استفاده می‌شوند. وکسینیوم آرکتوستافیلوس[5] تنها گونه‌ی موجود درایران می‌باشد. میوه‌های این گیاه اغلب در اواخر تابستان و اوایل پاییز به صورت سیاه ارغوانی در آمده و آماده چیدن می‌شود. گیاه

[1] *Acinetobacter baumannii*

[2] Caucasian whortleberry
[3] *Vaccinium*
[4] Ericaceae
[5] Vaccinum arcetostaphylus

وکسینیوم در طب سنتی ایران بیشتر به عنوان داروی ضد دیابت شناخته شده است (۹). گزارشات زیادی حاکی از اثرات ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدسرطان و ضددیابت و آنتی‌اکسیدانی این گیاه است. ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، میریستین، کاروارکول و تیمول موجود در عصاره‌ی میوه این گیاه می‌تواند از رشد پاتوژن‌های روده‌ای و عوامل ایجادکننده عفونت ادراری ممانعت کند و همچنین، می‌توانند باعث درمان ناراحتی‌های گوارشی، کاهش فشار خون و کاهش التهاب و کاهش بیماری‌های چشمی شوند (۱۰). این گیاه به دلیل دارا بودن مقدارقابل توجه فلاونوئید می‌تواند خاصیت بالای آنتی‌باکتریال داشته باشد (۱۱). این مطالعه برای اولین بار با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی میوه گیاه وکسینیوم آرکتوستافیلوس *براسینتوباکتربومانی* و همچنین ترکیب آن با آنتی‌بیوتیک مروپنم در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود از پودر آنتی بیوتیک مروپنم و عصاره اتانولی *وکسینیوم به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی علیه باکتری اسینتوباکتربومانی* استفاده شد.




**شکل ۱.** شمایی از پژوهش حاضر مبنی بر فعالیت ضد باکتریالی عصاره اتانولی وکسینیوم و آنتی‌بیوتیک مروپنم

### مواد و دستگاه‌ها

پودر آنتی‌بیوتیک خالص مروپنم از شرکت داروسازی دانا و گیاه وکسینیوم آرکتوفیلوس که تحت نظر و تاییدیه کارشناسان حوزه گیاه شناسی دانشگاه یزد صورت گرفته شده بود، تهیه گردید همچنین عصاره‌ی این گیاه به روش خیساندن با نسبت اتانول ۷۰ به ۳۰ بدست آمد. محیط‌های کشت مولرهینتون آگار و مولرهینتون براث شرکت 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 25- USA*) به منظور اندازه گیری غلظت و توده باکتریایی استفاده گردید.

### مواد و روش‌ها

*باکتری اسینتوباکتر بومانی* در محیط مولرهینتون آگارکشت داده شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. در تمام مراحل از کشت ۲٤ ساعته استفاده شد.

**تعیین حداقل غلظت بازدارنده‌ی رشد (MIC) آنتی بیوتیک مروپنم و عصاره اتانولی وکسینیوم علیه *آسینتوباکتربومانی***

برای تعیین MIC از روش میکرو دایلوشن براث[1] استفاده شد (۱۲). ابتدا در چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه ۱۰۰میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه شده و به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از استوک اولیه‌ی آنتی‌بیوتیک با غلظت mg/ml ۱ افزوده شد. سپس رقت‌سازی به این صورت انجام شد که ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم افزوده شد. به همین ترتیب ۱۰۰

[1] Micro Dilution Broth

میکرولیتر از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم افزوده شد و این کار تا چاهک دهم ادامه داده شد و در انتها از چاهک دهم ۱۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد. کنترل + و − برای نمونه‌ها در نظر گرفته شده است. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، تعدادی کلنی *استنتوباکتربومانی* در آب مقطر استریل حل شده تا معادل نیم‌مک فارلند حاصل گردد. OD[1] سوسپانسیون حاصله با دستگاه الایزا ریدر در طول موج ٦٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. OD بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ معادل $1.5\times10^8$ CFU/mL می‌باشد (۱۳). به چاهک‌های شماره ۱ تا ۱۱ میزان ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی افزوده شد .

رقت چاهک‌های حاوی آنتی بیوتیک به صورت میلی گرم در میلی لیتر و بصورت زیر بود:

1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.031-0.015-0.0078-0.0039

مراحل بالا برای عصاره گیاه وکسینیوم تایید شده هم انجام شد. رقت عصاره در چاهک‌های میکروپلیت بصورت میکروگرم بر میلی‌لیتر وبه ترتیب زیر بود:

50-25-12.5-6.25-3.12-1.56-0.78-0.39-0.19-0.95

میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شد. پس از ٢٤ ساعت از همه‌ی چاهک (برای اطمینان یافتن کامل از مقدار غلظت بازدارندگی ومهارکنندگی رشد به دلیل رنگی بودن عصاره) روی پلیت حاوی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد، سپس محیط‌ها از نظر کلنی بررسی شدند. برای عصاره و آنتی‌بیوتیک هر کدام ۳ بار تکرار انجام شد. MIC ترکیب مروپنم و عصاره‌ی وکسینیوم با روش چکربورد[2] انجام شد (١٤). در این روش در تمام چاهک‌های پلیت ٩٦ خانه به میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث افزوده شد. سپس در چاهک اول تمام ردیف‌ها ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی وکسینیوم افزوده شده و تا چاهک شماره ۱۱ رقت سازی انجام شد. استوک اولیه‌ی عصاره دارای غلظت ۲۵ µg/mL بود. سپس در ستون ها از بالا به پایین رقت‌های آنتی بیوتیک به میزان ۱۰۰ میکرولیتر تا ردیف G به تمام چاهک‌ها افزوده شد. به طوری که ردیف A دارای رقت اولیه (استوک[3]) و ردیف B دارای نصف رقت استوک و به همین ترتیب تا ردیف G ادامه داده شد. استوک اولیه‌ی آنتی‌بیوتیک دارای غلظت ۰/۲۵ µg/mL بود و سایر رقت‌ها در آب مقطر استریل ساخته شده و سپس به چاهک‌ها افزوده شد. از سوسپانسیون باکتری به میزان ۱۰ میکرولیتر به هر چاهک افزوده شد. ستون شماره‌ی ۱۲ به عنوان کنترل منفی عصاره و ردیف H به عنوان کنترل منفی آنتی بیوتیک در نظر گرفته شد و فاقد سوسپانسیون بودند. همچنین چاهک H12 نیز به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. میکروپلیت به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از ٢٤ ساعت، از چاهک‌ها کشت تهیه شد و محدوده‌ی اثر ترکیب مروپنم و عصاره بررسی شد.

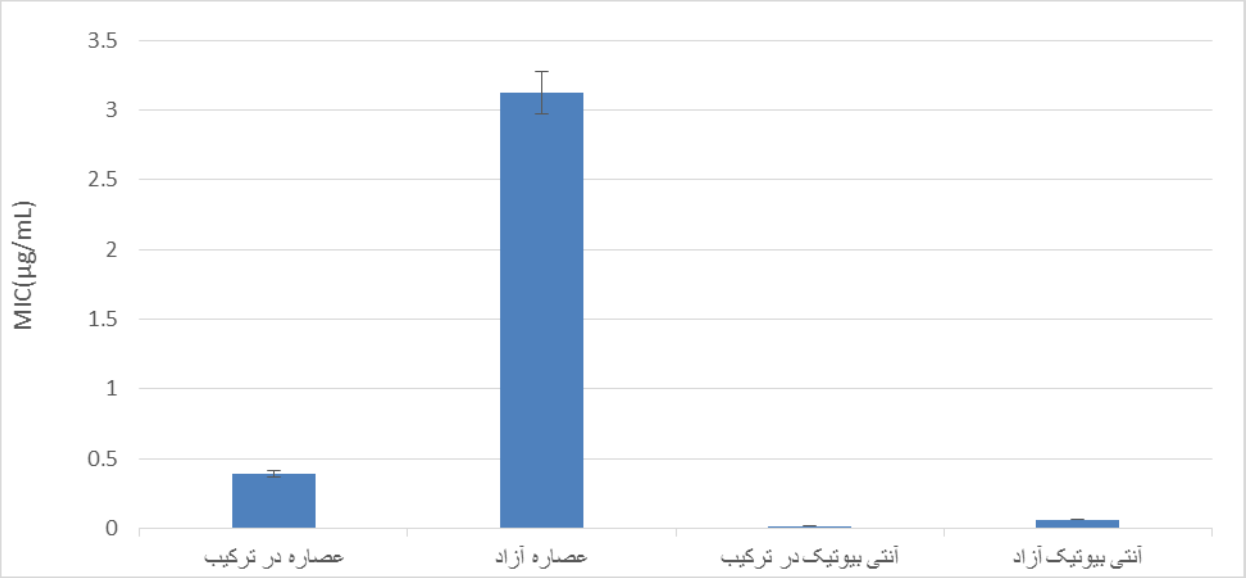
## نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/٤ انجام شد و برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر سه بار تکرار و میانگین‌ها با استفاده ازآزمون چند دامنه‌ای LSD درسطح احتمال ۵٪ با هم مقایسه شدند که در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس جدول تجزیه واریانس اثر متقابل آنتی‌بیوتیک و عصاره بر رشد باکتری اثر معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد. بر اساس مقایسه میانگین بیشترین اثر مهارکنندگی در ترکیب مروپنم و عصاره ی وکسینیوم دیده شد. نمودار ۱ نشان‌دهنده‌ی میزان غلظت عصاره و آنتی بیوتیک و ترکیب هر دو بر رشد باکتری است.

[1] Optical density
[2] Checkerboard
[3] Stock

**جدول ۱.** تجزیه واریانس

| منابع تغییرات (s.ov) | درجه آزادی (df) | میانگین مربعات (MS) |
|---|---|---|
| تیمار (T) | 2 | 0.89814** |
| غلظت (c) | 11 | 1.6052** |
| باکتری * غلظت(T*c) | 22 | 0.2112279** |
| خطا | 72 | 0.01851 |
| ضریب تغییرات (c.v) | | 9.863 |




**نمودار ۱.** میزان غلظت بازدارنده عصاره و آنتی‌بیوتیک بر باکتری

**# تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل منفی و پاراکوات در مقایسه با دیگر گروه ها**

**نتایج MIC آنتی بیوتیک مروپنم برسویه ی استاندارد *اسینتوباکتربومانی***

میزان MIC آنتی‌بیوتیک مروپنم برابر با ۰/۰۶۲ µg/mL در هر سه بار آزمایش تکرار بود. در چاهک های یازدهم و دوازدهم کنترل منفی و مثبت قرار داده شده است که درکنترل مثبت رشد مشاهده شد ولی کنترل منفی فاقد رشد بوده است.

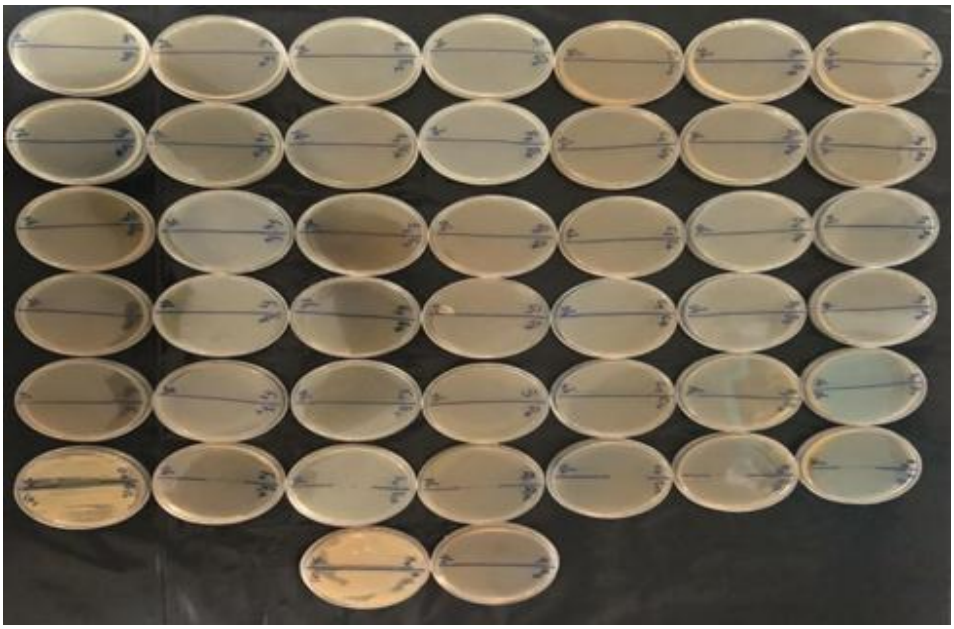
**نتایج MIC گیاه وکسینیوم آرکتواستافیلوس برسویه‌ی استاندارد *آسینتوباکتربومانی***

MIC عصاره اتانولی گیاه وکسینیوم آرکنواستافیلوس برابر با ۳/۱۲۵ µg/mL در هرسه بار تکرار بوده است.

**نتایج میزان MIC ترکیب عصاره و آنتی‌بیوتیک مروپنم برسویه‌ی استاندارد *اسینتوباکتربومانی***

نتایج MIC ترکیب عصاره و آنتی‌بیوتیک بر سویه‌ی *اسینتوباکتربومانی* با روش چکربورد مورد بررسی قرار گرفت. تصویر پلیت های و رشد و عدم رشد باکتری مورد نظر در حضور غلظت‌های مختلف عصاره و آنتی‌بیوتیک در شکل ۱ دیده می‌شود. MIC برابر با µg/mL ۰/۰۱۵۶ غلظت مروپنم و ۰/۳۹۰µg/mL غلظت عصاره وکسینیوم در هر سه بار آزمایش تکرار بوده است.

**FIC= (MIC combination/ MICalone) meropenem + (MIC combination/MICalone) Vaccinum arctostaphylos**
**FIC=0.0156/0.0625+0.390/3.125=0.374**



**شکل۳.** تصویر نتیجه اجرای روش چکربورد

عدد شاخص غلظت مهاری نسبی[1] حاصل از این آزمایش کمتر از 0.5 می‌باشد که همانطور که در جدول ۲ بیان شده است، نشان دهنده اثر سینرژیسم بین مروپنم و عصاره اتانولی گیاه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* می باشد. جدول ۳ بررسی و مقایسه غلظت های موثر عصاره، آنتی بیوتیک و ترکیب این دو بر MIC و غلظت کشندگی باکتری (MBC[2]) را نشان داده است.

**جدول ۲.** شاخص غلظت مهارکنندگی ترکیبات ضدباکتری

| اثر | شاخص غلظت مهارکننده نسبی |
|---|---|
| سینرژیسم (هم‌افزایی) | **FIC≤0.5** |
| بدون تعامل | **FIC> 0.5-4** |
| تضاد | **FIC> 4.0** |

**جدول ۳** . بررسی و مقایسه غلظت های **MIC** و **MBC** بر باکتری مورد هدف

| نمونه µg/mL | عصاره | آنتی بیوتیک | ترکیب عصاره | ترکیب بیوتیک | آنتی |
|---|---|---|---|---|---|
| **MIC** | ۳/۱۲۵ | ۰/۰۶۲ | ۰/۳۹۰ | ۰/۰۱۵۶ | |
| **MBC** | ٦/۲۵ | ۰/۱۲۵ | ۰/۷۸۱ | ۰/۰۳۱ | |

همانطور که دیده می‌شود به دلیل اثر سینرژیسم این دو ترکیب بایدکدیگر، میزان غلظت های MIC و MBC به صورت چشم‌گیری کاهش یافته است.

[1] Fractional inhibition concentration (FIC)
[2] Minimum Bactericidal Concentration

## بحث

استفاده بیش از اندازه از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث بروز مقاومت میکروب‌ها بدلیل تغییر در محل اتصال دارو و همچنین ایجاد آنزیم‌هایی که باعث تخریب مواد ضد میکروبی و تغییر در نفوذپذیری غشا می‌شوند (۱۵). برای جلوگیری از عفونت‌های حاد و مزمن حاصل از میکروارگانیسم‌ها که به دلیل مقاومت‌های دارویی استفاده از گیاهان دارویی بسیار مورد استقبال قرارگرفته است (۱٦). هدف اصلی مطالعه حاضر بررسی اثر گیاه *وکسینیوم* بر باکتری سویه استاندارد *استنتوباکتر بومانی* و ترکیب و بررسی ترکیب اثر آنتی‌بیوتیک مروپنم و گیاه *وکسینیوم* بر روی *استنتوباکتربومانی* می‌باشد. گیاه *وکسینیوم* شامل پکتین، فلاونوئیدها، آنتی سیانین‌ها، آمین‌ها، اسیدهایی مانند مالیک بنزوئیک و گلوکورونیک است. وجود پروانتوسیانیدین‌های موجود در عصاره وکسینیوم طی تحقیقات گذشته که انجام شده است باعث مهار اتصال باکتری‌ها به مخاطب می شود و در عفونت های ادراری موثر هستند (۱۷). از طرفی برای اولین بار ترکیب این عصاره با آنتی‌بیوتیک مروپنم بر روی باکتری مورد نظر مورد بررسی قرارگرفت که مطابق با اثر هم‌افزایی مشاهده شده می‌توان بصورت مناسبی در ترکیبات و داروهای ضدباکتریایی از آن استفاده کرد.

معینی و همکاران در سال ۲۰۱٦ نشان دادند که عصاره متانولی و آبی تهیه شده از میوه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* بر رشد سالمونلا اثر مهارکنندگی دارد و تمام سویه‌های مورد مطالعه سالمونلا به عصاره‌ی متانولی و آبی میوه‌ی وکسینیوم حساس بودند (۱۸). همچنین معینی و همکاران در طی مطالعه‌ای بر روی اشرشیاکلی انجام دادند مشاهده کردند که اشرشیاکلی نسبت به عصاره‌ی آبی و متانولی گیاه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* حساس می‌باشد (۱۹). کریمی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در مطالعه‌ای تاثیر عصاره‌ی آبی و اتانولی گیاه اتانولی گیاه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* بر علیه ایزوله‌های کلبسیلا مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف مولد عفونت ادراری مراکز درمانی کرج باروش دابل دیسک دیفیوژن توسط دیسک‌های ترکیبی انجام دادند و نتایج تست بیانگر اثر مهاری روی ایزوله‌های کلبسیلا دارند (۲۰). طاهرپور در سال ۲۰۱۱ طی تحقیقاتی بیان کرد گیاه *وکسینیوم* یک گیاه دارویی پرخاصیتی می باشد که در پزشکی بسیار حائز اهمیت می‌باشد و برای درمان بیماری‌های قلبی بیماری های دهان عفونت ادراری سنگ کلیه و سرطان و بیماری‌های گوارشی بسیار مفید است. بررسی‌هایی برای سنجش اثر سینرژیسم عصاره آبی گیاه *وکسینیوم* به همراه آنتی‌بیوتیک‌هایی همچون سیپروفلوکساسین آمیکاسین آمپی‌سیلین و نیتروفورازون توئین در عفونت‌های ادراری انجام داد و نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که مصرف گیاه *وکسینیوم آرکتوستافیلوس* به همراه آنتی بیوتیک‌ها باعث کاهش اثرات دارویی و همین طور افزایش عملکرد آنتی بیوتیک‌ها می‌شود (۲۱). طباطبایی و همکاران درسال ۱۳۹٤ بر روی عصاره های متانولی وآبی وهیدروالکلی گیاه *وکسینیوم* مطالعاتی برروی باکتری های همچون باسیلوس سوبتیلیس انتروباکتر لیستریااینوکوا و باسیلوس سرئوس داشته‌اند که حاصل آزمایش تحقیقاتی انجام شده نشان دهنده اثر ضدمیکروبی این عصاره برباکتری‌های نام برده بود و رابطه‌ی مستقیمی بین غلظت عصاره و رشد باکتری وجود دارد و همچنین اثر ضد باکتریایی این عصاره برروی باکتری لیستریااینوکوا مشاهده شد (۲۲). همچنین مطالعات بر روی دیگر گونه های گیاه *وکسینیوم نیز* انجام شده است. Weise و همکاران درسال ۲۰۰۲ اثر میوه‌هایی همچون انبه و هلو و تمشک و میوه‌ی گیاه *وکسینیوم* بر روی باکتری دهان و مخاط دهان مورد سنجش قراردادند که این مطالعه نشان داد فقط خانواده گیاه *وکسینیوم* از میان میوه‌های نام برده می‌تواند منجر به مهار تجمع باکتری ها دردهان شوند (۲۳). Di Martion و همکاران سال ۲۰۰۵ بررسی آب میوه گیاه *وکسینیوم* را بر بیوفیلم اشرشیاکلی یوروپاتوژنیک (UPEC) انجام دادند و این

مطالعه اشاره به اثر مهاری این میوه بر روی اشرشیاکلای داشته است (۲٤).

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از روش چکربورد مشخص گردید که ترکیبات مبتنی بر آنتی‌بیوتیک مروپنم همراه با عصاره اتانولی گیاه وکسینیوم آرکتوستافیلوس دارای فعالیت های هم‌افزایی بر باکتری‌های آسینتوباکتربومانی هستند. MIC ترکیب آنتی‌بیوتیک و عصاره نسبت به اثرات هر ترکیب به صورت جداگانه، کاهش یافته واثر ضد میکروبی بهتری را نشان داد. بنابراین، این ترکیبات می‌توانند مزایای درمانی در برابر عفونت های آسینتوباکتربومانی مقاوم به چنددارو را ایجاد کنند.

## ملاحظات اخلاقی

مقاله فوق دارای تاییدیه کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی با کد IR.SHAHED.REC.1400.073 تصویب گردید.

## تعارض و منافع

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

## منابع


1. Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview of Acinetobacter infections: a century of challenges. Clinical Microbiology Reviews 2017;30(1):409-47.
2. Bernards AT, Harinck HI, Dijkshoorn L, Van der Reijden TJ, Van den Broek PJ. Persistent Acinetobacter baumannii? Look inside your medical equipment. Infection Control & Hospital Epidemiology 2004;25(11):1002-4.
3. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007 ;51(10):3471-84.
4. Struelens MJ, Carlier E, Maes N, Serruys E, Quint WG, Van Belkum A. Nosocomial colonization and infection with multiresistant Acinetobacter baumannii: outbreak delineation using DNA macrorestriction analysis and PCR-fingerprinting. Journal of Hospital Infection 1993;25(1):15-32.
5. Juni E. Interspecies transformation of Acinetobacter: genetic evidence for a ubiquitous genus. Journal of Bacteriology 1972;112(2):917-31.
6. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clinical Microbiology Reviews 1996 ;9(2):148-65.
7. Hayder N, Abdelwahed A, Kilani S, Ammar RB, Mahmoud A, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) Myrtus communis. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 2004;564(1):89-95.
8. Weinstein RA. Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. Emerging Infectious Diseases 2001;7(2):188.
9. Noruzpour M, Zare N, Sheikhzadeh-Mosadegh P, Asghari-Zakaria R. The effect of auxin and signaling compounds on growth and production of secondary metabolites in vitro cultures of Whortleberry (Vaccinium arctostaphylos L.). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 2019;27(1):45-58.
10. Mahboubi M, Kazempour N, Taghizadeh M. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of Vaccinium arctostaphylos L. extracts. Journal of Biologically Active Products from Nature 2013;3(4):241-7.
11. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. Journal of Applied Microbiology 2001;90(4):494-507.

Sciences 2018;21(2):75-85.
21. Taherpour AA, Taherpour A. Effect investigation of aqueous cranberry (vaccinium arctostaphylos l.) extract in accompanied with antibiotics on urinary tract infections (uti) created by escherichia coli in vitro. Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection 2011. DOI: 10.5772/24655
22. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B , Vasiee A , Alghooneh A. Antibacterial Activity Extracts of Ribes rubrum against Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Listeria innocua and Enterobacter aeruginosa " in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases 2015; 20(68):49.
23. Weiss EI, Lev-Dor R, Sharon N, Ofek I. Inhibitory effect of a high-molecular-weight constituent of cranberry on adhesion of oral bacteria. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2002;42(S3):285-92.
24. Di Martino P, Agniel R, Gaillard JL, Denys P. Effects of cranberry juice on uropathogenic Escherichia coli in vitro biofilm formation. Journal of Chemotherapy 2005;17(5):563-5.

12. Ciftcioglu N, Miller-Hjelle MA, Hjelle JT, Kajander EO. Inhibition of nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2002 ;46(7):2077-86.
13. Ravichitra K, Prakash H, Rao US, Subbarayudu S. A study of aerobic pyogenic isolates from wounds and abscesses and their antibiograms. Medica Innovatica 2014;3(1):99-104.
14. Gunalan A, Sarumathi D, Sastry AS, Ramanathan V, Rajaa S, Sistla S. Effect of combined colistin and meropenem against meropenem resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa by checkerboard method: A cross sectional analytical study. Indian Journal of Pharmacology 2021 ;53(3):207.
15. Leite GC, Oliveira MS, Perdigao-Neto LV, Rocha CK, Guimaraes T, Rizek C, Levin AS, Costa SF. Antimicrobial combinations against pan-resistant Acinetobacter baumannii isolates with different resistance mechanisms. PloS one 2016;11(3):e0151270.
16. Huang WY, Cai YZ, Hyde KD, Corke H, Sun M. Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants. Fungal diversity 2008; 33: 61-75.
17. Mansour A, mahdinezhad M, Pourdangchi Z. Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. Jundishapur Journal of Microbiology 2009; 2(3): 118-123.
18. Moeini F, Mohammadi-Sichoni M, Shahanipoor K. Evaluation of the antibacterial effect of methanol and aqueous extracts of Vaccinium arctostaphylos Fruit against Salmonella spp in vitro. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences 2015;14(4):257-68.
19. Moini F, Mohammadi Sichani M, Shahanipoor K. The Antibacterial effect of methanol and aqueous extracts of vaccinium arctostaphylos fruit on enteropathogenic Escherichia coli in vitro. Qom University of Medical Sciences Journal 2016;9(12):16-24.
20. Karimi S, Haddadi A, Torabzadeh P. In vitro inhibitory effect of alcoholic and aqueous extract of Vaccinium Arctostaphylos on ESBLs producing klebsiella strains isolated from clinical specimens in Karaj. Journal of Arak University of Medical