دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال شانزدهم– شماره ۸۴
دی ۱۳۸۸

مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره زردچوبه با آنتی‌بیوتیک‌های منتخب بر باکتری‌های جدا شده از عفونت زخم سوختگی

محمدمهدی عطار پور یزدی [*1]، محمد کمالی‌نژاد[2] و دکتر نسیم سادات فلوایی‌کوچک[3]

۱. مربی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مربی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳. دانش آموخته دکترای داروسازی دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

[*]نویسنده مسئول: Email:attarpouryazdi@shahed.ac.ir

وصول: ۸۸/۱/۲۴
آخرین اصلاحات: ۸۸/۱۰/۷
پذیرش: ۸۸/۱۰/۱۴

چکیده

مقدمه و هدف: زخم سوختگی محل مناسبی برای بروز عفونت های مقاوم به درمان است، بنابراین تحقیق در زمینه به دست آوردن داروهای موثر بر این عفونت ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی ریزوم زردچوبه بر باکتریهای جدا شده از عفونت زخم سوختگی و مقایسه آن با اثر آنتی بیوتیک های منتخب بوده است .

روش تحقیق: ابتدا از ریزوم گیاه ، عصاره متانولی تهیه گردید. سپس فعالیت ضد باکتریایی آن بر علیه ۸ نوع باکتری جدا شده از عفونت زخم سوختگی ۱۰۰ بیمار ابتدا به روش چاهک و سپس رقت‌های متوالی در آگار بررسی شد . همچنین MIC (Minimum Inhibitory Concentration) عصاره تعیین گردید. اثر آنتی بیوتیک‌های منتخب به روش دیسک بررسی و برای مقایسه نتایج ، آزمون آنووای تک متغیره استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد ، عصاره گیاه بر علیه ۸۰ درصد از Pseudomonas aeruginosa، ۶۹ درصد از Acinetobacter و بیش از ۷۵ درصد از سه گونه Staphylococcus موثر است.MIC عصاره برای باکتری‌های مذکور به ترتیب ۱۳/۹۵ ، ۱۴/۵۵ و ۳/۷ mg/ml بود، در حالی که اکثر نمونه ها به آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند . تفاوت اثر آنتی‌بیوتیک و گیاه برای تمام آنها ($P<0/05$) معنادار بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می دهد که عصاره متانولیزردچوبه اثر ضد باکتریایی خوبی بر علیه اغلب باکتریهای جدا شده از عفونت زخم سوختگی دارد. به هر حال ما به مطالعات بیشتری به صورت آزمایشگاهی و بالینی نیاز داریم.

واژگان کلیدی: زردچوبه، عصاره متانولی، باکتریهای زخم سوختگی

مقدمه

در میان حوادثی که سلامتی و حیات انسان را به خطر می‌اندازد، سانحه سوختگی از سخت‌ترین آن‌ها به شمار می‌رود. سوختگی، جراحتی است که در آن پوست به وسیله عوامل گوناگون از جمله حرارت، سرما، الکتریسیته و... تخریب می‌شود. در اغلب موارد، علاوه بر تخریب پوست، اختلالات سیستمیک نیز در بدن به وجود می‌آید. هنگام آسیب پوست عوامل بیماری‌زا بدن را مورد تهاجم قرار داده و زخم‌های سوختگی در مدت کوتاهی بعد از ایجاد صدمه، دچار عفونت می‌شوند که مهم‌ترین عامل مرگ و میر بیماران (بیش از ۷۵درصد) به دنبال سوختگی است [۱، ۲، ۳، ٤، ٥، ٦و ۷]. همچنین می‌توان گفت، عفونت مهمترین عاملی است که باعث می‌شود زخم دیر بهبود یافته و مدت درمان طولانی شود [۳]. این عفونت هم به وسیله باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی ایجاد می‌شود [٤ و ۷]. در دهه‌های اخیر، مقاومت به داروهای ضد میکروبی در باکتری‌های ایجاد کننده عفونت زخم سوختگی، روند رو به رشدی داشته است [٦]. باید دانست، باکتری‌هایی که باعث عفونت زخم سوختگی می‌شوند، نسبت به همان نوع از باکتری‌ها در بیماری‌های دیگر، مقاومت بیشتری به داروهای ضد میکروبی نشان می‌دهند [٦].

با توجه به این موارد، تحقیقات متعددی در زمینه‌های مختلف از جمله بیوتکنولوژی، فارماکوگنوزی، شیمی‌دارویی و... در جهت یافتن داروهای جدید مؤثر بر این عفونت انجام گرفته که در این میان، توجه خاصی به گیاهان دارویی شده است.

یکی از این گیاهان دارویی زردچوبه است که با نام علمی زردچوبه شناخته می‌شود و به خانواده zingiberaceae تعلق دارد. این گیاه در مناطق استوایی آسیا، آمریکای مرکزی و آفریقا می‌روید. گیاه مذکور به‌طور وسیعی در همه قسمت‌های هند به ویژه مدرس (Madras)، بمبئی (Bombay) و بنگال (Bangal) همچنین در جنوب چین، تایوان، ژاپن، برمه، اندونزی و سراسر قاره آفریقا کشت می‌شود [۸ و ۹].

زردچوبه ، بوته‌ای به ارتفاع یک تا یک و نیم متر داشته و دارای ریزوم متورمی‌است که به‌عنوان دارو و ادویه استفاده می‌شود [۹].

این گیاه از زمان‌های قدیم در طب سنتی آسیا برای درمان بیماری‌های پوستی و بهبود زخم استفاده شد. به عنوان مثال، در هند روی زخم‌های عفونی مالیده شد و با از بین بردن باکتری‌های زخم، آن را التیام می‌داد. در طب نوین نیز از زردچوبه ، اثرات ضدباکتری، ضدقارچی، ضدانگلی و ضدویروسی گزارش شده است. برای نمونه، عصاره الکلی گیاه روی باکتری‌های گرم مثبت در in vitro مؤثر است. زردچوبه به شدت بر Salmonella اثر دارد، اما بر Esherichia coli چندان مؤثر نیست. در تحقیقی دیده شد که ماده مؤثره این گیاه روی ویروس HIV مؤثر است، در جایی که داروهای منتخب برای این بیماری مؤثر نبوده‌اند. همچنین گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر عصاره اتری و اتیل استانی زردچوبه بر Staphylococcus و klebsiella pneumonia وجود دارد [۱۰، ۱۱ و ۱۲].

با توجه به اثرات ضدمیکروبی موجود در زردچوبه و از آنجا که مطالعات در زمینه تاثیر آن بر عفونت زخم سوختگی اندک است، تصمیم گرفتیم تا اثر عصاره متانولی ریزوم این گیاه را بر باکتری‌های مولد عفونت زخم سوختگی بررسی کنیم. در صورت مؤثر بودن، می‌توان با انجام مطالعات فارماکولوژی، بالینی و صنعتی از زردچوبه در اشکال مختلف دارویی از جمله موضعی و خوراکی همراه با آنتی‌بیوتیک‌های منتخب برای درمان بیماران دچار عفونت سوختگی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و تعیین هویت میکروبی

ابتدا، از عفونت زخم یکصد بیمار دچار جراحت سوختگی که در بیمارستان سوانح و سوختگی شهید مطهری تهران بستری بودند، به مرور زمان به صورت تصادفی به مدت یازده ماه نمونه‌برداری انجام گرفت و در هر مورد، نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب شناسی

منتقل و پس از تهیه کشت خالص با انجام آزمایش‌های مستقیم و تست‌های بیوشیمیایی لازم [۱۳ و ۱٤]. اقدام به شناسایی و تعیین هویت آن‌ها شد. برای تشخیص باکتری‌های گرم مثبت به ترتیب از تست‌های کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، مانیتول و Novobiocin استفاده شد. برای انواع گرم منفی نیز از تست در محیط TSI (TripleSugar Iron Agar)، تست اکسیداز، تست اوره، تست در محیط EMB (Euezin Metilen lue)، تست IMVIC (IndolMethyl – Red Voges – Proskuaer) و تست در محیط SIM (SHEng. Indo Mutility) استفاده شد [۱۳و ۱٤].

عصاره‌گیری

زردچوبه از هند به ایران وارد می‌شود. برای انجام این مطالعه، ریزوم گیاه مذکور، خریداری شده، در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی شهید بهشتی شناسایی شد. سپس به وسیله آسیاب دانشکده به پودر تبدیل و برای عصاره‌گیری آماده شد. روش عصاره‌گیری، ماسراسیون، حلال مورد استفاده، متانول مرک بشکه‌ای خالص و مدت زمان انجام این کار ٤۸ ساعت بود. برای تهیه عصاره، مقدار صد گرم پودر گیاه در ml ۱۰۰۰ متانول خالص به مدت دو روز خیسانده و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره چهار صاف شد. عمل عصاره‌گیری سه بار انجام شد. در طول این مدت، به صورت متناوب همزن مغناطیسی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌های به دست آمده با دستگاه Rotary evaporator تغلیظ شدند. باقیمانده حلال نیز در دمای آزمایشگاه تبخیر شد.

آزمایش‌های تعیین حساسیت میکروبی

تعیین حساسیت نمونه‌ها به عصاره گیاهی

فعالیت آنتی‌باکتریال عصاره نخست به روش انتشار در آگار (چاهک یا Well Diffusion) در غلظت mg/ml٤۰ مورد آزمایش قرار گرفت. سپس در مورد نمونه‌هایی که در این غلظت‌هاله عدم رشد داشتند، Minimum Inhibitory Concentration (MIC) در رقت‌های پایین‌تر از mg/ml٤۰ به روش رقت در آگار (Agar Serial Dilution) تعیین شد [۱۳ و ۱٤].

در روش انتشار در آگار، چاهک‌هایی به قطر شش میلی‌متر در پلیت‌های محتوی مولر هینتون آگار ایجاد شد. از کشت ۲٤ ساعته هر یک از نمونه‌های میکروبی، سوسپانسیون با کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد و با استفاده از سوآب‌های پنبه‌ای استریل به صورت یکنواخت در پلیت‌ها تلقیح صورت گرفت. عصاره نیمه جامد در متانول خالص حل شده، محلولی با غلظت mg/ml٤۰ به دست آمد. مقدار µl۵۰ از این محلول در هر چاهک ریخته شد. در تعدادی چاهک نیز µl۵۰ متانول به عنوان شاهد ریخته شد. پلیت‌ها برای رشد به گرمخانه ۳۷°c منتقل و بعد از ۲٤ ساعت قطرهاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد [۱۳ و ۱٤].

برای تعیین MIC، هشتصد میلی‌گرم عصاره نیمه جامد در دو میلی‌لیتر متانول حل شد. از این محلول اولیه، ۱۰ رقت متوالی از عصاره در لوله‌های آزمایش که هر کدام محتوی دو میلی‌متر حلال بودند، تهیه شد. در ادامه، محتویات هر لوله با هیجده سی‌سی محیط مولر هینتون آگار مخلوط و درون پلیت ریخته شد. غلظت نهایی عصاره در پلیت‌ها به شرح زیر بود:

$\frac{mg}{ml}$ ۰/۰۳۹، ۰/۰۷۸، ۰/۱۵٦، ۰/۳۱۲، ۰/٦۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰

دو پلیت نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد که یکی حاوی محیط کشت و دیگری محتوی حلال و محیط کشت بود. از هر نمونه، سوسپانسیون میکروبی مطابق استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد و با استفاده از سوآب استریل روی همه پلیت‌ها تلقیح صورت گرفت. پلیت‌ها به گرمخانه ۳۷°c منتقل شدند و پس از ۲٤ ساعت برای رشد میکروب مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین غلظت عصاره که مانع از رشد باکتری شده بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۳ و ۱٤].

تعیین حساسیت نمونه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب

فعالیت ضدمیکروبی آنتی‌بیوتیک‌های منتخب]۱۵ و ۱۶]. شامل پنی‌سیلین، اگزاسیلین، وانکومایسین، فتازیدیم، توبرامایسین، ایمی‌پنم و آمیکاسین به روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک (Kirby-Bauer Diffusion) بررسی شد. از کشت ۲٤ ساعته هر نمونه، سوسپانسیون میکروبی مطابق استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه و با سوآب استریل به صورت یکنواخت در تمام سطح پلیت تلقیح شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی خریداری شده از شرکت پادتن طب با فاصله مناسب روی پلیت‌ها قرار داده شدند. پلیت‌ها به گرمخانه منتقل و پس از ۲٤ ساعت قطرهاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

نوع مطالعه

این پژوهش یک تحقیق توصیفی- تحلیلی از نوع غیرمداخله‌ای، غیرهم‌گروهی و مقطعی است. به منظور مقایسه حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها و عصاره بر باکتری‌های مورد مطالعه از آزمون آنووای تک‌متغیره با کاربرد برنامه‌های کامپیوتری SPSS و SAS استفاده شد. این توضیح لازم است که هر مرحله از آزمایش ۳ بار تکرار شد.

نتایج

جدول یک فعالیت ضدمیکروبی گیاه را بر نمونه‌ها به روش رقت در آگار در غلظت ۲۰ mg/ml و رقت‌های پایین‌تر نشان می‌دهد. مطابق این جدول، هر نمونه‌ای که حداقل در غلظت۲۰ mg/ml رشد نکرده باشد، حساس به گیاه است. در این حال کمترین غلظت عصاره که مانع از رشد باکتری شده باشد به عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. به این ترتیب، باکتری‌های مقاوم، همآن‌هایی هستند که در همه رقت‌های به کار رفته، رشد کرده‌اند.

از آنجا که در بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال عصاره به روش چاهک در غلظت ٤۰ mg/ml همه سویه‌های میکروبی‌هاله عدم رشد داشتند، روش رقت در آگار در رقت‌های پایین‌تر از ٤۰ mg/ml برای تمامی‌نمونه‌ها استفاده شد.

در جدول یک باکتری‌های MRSA (استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سیلین) و VRSA (استافیلوکوکوس مقاوم به وانکومایسین) در حقیقت، بخشی از همان ۲٦ مورد Staphylococcus aureus خانه یک هستند که در ستون‌های جداگانه نیز بررسی شده‌اند تا نحوه عملکرد گیاه بر آن‌ها بیشتر مشخص شود. همین امر در مورد انواع MRSE و VRSE نیز صدق می‌کند و آن‌ها بخشی از یازده مورد Staphylococcus epidermidis خانه دو هستند.

جداول دو تا چهار، اثر بخشی آنتی‌بیوتیک‌های منتخب را بر سویه‌های میکروبی به روش دیسک نشان می‌دهد. موارد مقاوم و حساس هر باکتری با اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد و مقایسه با جداول استاندارد ثبت شده‌اند.

در مقایسه حساسیت نمونه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و عصاره گیاهی، تفاوت اثر گیاه با پنی‌سیلین، اگزاسیلین وانکومایسین (p <۰/۰۵) بر انواع Staphylococcus، سفتازیدیم و توبرامایسین (p <۰/۰۵) بر Pseudomonas و همچنین ایمی‌پنم و آمیکاسین (p <۰/۰۵) برای Acinetobacter و Escherichia coli معنادار بود. این در حالی است که اختلاف معناداری در اثر ایمی‌پنم و آمیکاسین (p >۰/۰۵) با عصاره بر Klebsiella و Enterobacter مشاهده نشد.

۱- اثر گیاه با روش رقت در آگار در غلظت‌های mg/ml (۲۰-۰/۰۳۹) بررسی شده است. موارد مقاوم و حساس با توجه به رشد یا عدم رشد باکتری در غلظت‌های به کار رفته ثبت شده‌اند. به این ترتیب، نمونه‌ای را مقاوم می‌دانیم که در همه غلظت‌های به کار رفته از جمله ۲۰ mg/ml شد کرده باشد و نمونه‌ای حساس است که حداقل در غلظت ۲۰mg/ml رشد نکرده باشد.

۲-تعداد کل بیماران بیش از ۱۰۰ نفر است، زیرا بعضی از بیماران در زخم خود عفونت توام داشتند.

باکتری‌های خانه‌های ستاره‌دار نیز بخشی از همان باکتری‌های خانه‌های دو ستاره هستند که بر حسب مقاومتی که به یک آنتی‌بیوتیک خاص هستند به‌طور جداگانه بررسی شده‌اند.

۳- اثر گیاه بر یک یا چند مورد از بعضی انواع باکتری‌ها به دلیل اثر حلال بررسی نشد.

٤- Methicillin resistant Staphylococcus aureus

٥- Vancomycin resistant Staphylococcus aureus

٦- Methicillin resistant Staphylococcus epidermidis

٧- Vancomycin resistant Staphylococcus epidermidis

٨- Minimum Inhibitory Concentration

جدول ۱:. باکتری‌های جدا شده از زخم سوختگی ۱۰۰ بیمار، توزیع فراوانی نسبی و مطلق آن‌ها در رابطه با اثر[۱] Curcuma Longa بر آن‌ها و میانگین MIC گیاه برای انواع حساس

باکتری‌های مورد مطالعه	تعداد و درصد افرادی که در[۲] زخم خود دارای میکروب مورد نظر بودند		اثر زردچوبه				میانگین MIC[۸] گیاه ±انحراف معیار
			مقاوم		حساس		
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
**Staphylococcus aureus	۲٦	۲٦	٦	۲۳/۱	۲۰	۷٦/۹	۳/۷۷ ± (٦/۰۱)
**Staphylococcus epidermidis	۱۱	۱۱	۲	۱۸/۲	۹	۸۱/۸	۳/۷۰ ± (۳/۸٤)
Staphylococcus saprophyticus	۱	۱	۰	۰	۱	۱۰۰	۵
Escherichia coli[۳]	٦	٦	۵	۱۰۰	۰	۰	---
Klebsiella	۹	۹	۸	۸۸/۹	۱	۱۱/۱	۲۰
Enterobacter	۳	۳	۲	٦٦/۷	۱	۳۳/۳	۲۰
Pseudomonas aeruginosa[۳]	٤۱	٤۱	۷	۱۸/۵	۳۱	۸۱/۵	۱۳/۹۵ ± (۵/۳۹)
Acinetobacter[۳]	۳۰	۳۰	۸	۳۰/۸	۱۸	٦۹/۲	۱٤/۵۵ ± (۷/٦٤)
*MRSA[٤]	۱۳	۱۳	٤	۳۰/۸	۹	٦۹/۲	۳/۷۵ ± (٦/۲٤)
*VRSA[٥]	۳	۳	۱	۳۳/٤	۲	٦٦/۲	۱۰/۳۱ ± (۱۳/۷)
*MRSE[٦]	٦	٦	۱	۱٦/۷	۵	۸۳/۳	٤/۲۵ ± (۳/٤۹)
*VRSE[۷]	۱	۱	۰	۰	۱	۱۰۰	۱/۲۵

جدول۲- توزیع فراوانی نسبی و مطلق انواع Staphylococcus مورد مطالعه در رابطه با اثر پنی‌سیلین، اگزاسیلین و وانکومایسین[۱] برآن‌ها

میکرو ارگانیسم‌های مورد مطالعه	پنی سیلین				اگزاسیلین				وانکومایسین			
	مقاوم		حساس		مقاوم		حساس		مقاوم		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Staphylococcus aureus	۲۵	۹٦/۲	۱	۳/۸	۱۳	۵۰	۱۳	۵۰	۳	۱۱/۵	۲۳	۸۸/۵
Staphylococcus epidermidis	۱۱	۱۰۰	۰	۰	٦	۵٤/۵	۵	٤۵/۵	۱	۹/۱	۱۰	۹۰/۹
Staphylococcus saprophyticus	۱	۱۰۰	۰	۰	۱	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱۰۰

۱- اثر آنتی‌بیوتیک به روش دیسک بررسی شد. موارد مقاوم و حساس با اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و مقایسه با جدول استاندارد ثبت شدند.

جدول۳- توزیع فراوانی نسبی و مطلق Pseudomonas aeruginosaهای موردمطالعه در رابطه با اثر سفتازیدیم و توبرامایسین [1] برآن‌ها

باکتری مورد مطالعه	سفتازیدیم				توبرامایسین			
	مقاوم		حساس		مقاوم		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Pseudomonas aeruginosa	٤١	١٠٠	٠	٠	٤٠	٩٧/٦	١	٢/٤

۱- اثر آنتی‌بیوتیک به روش دیسک بررسی شد. موارد مقاوم و حساس با اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و مقایسه با جدول استاندارد ثبت شدند.

جدول٤- توزیع فراوانی نسبی و مطلق تعدادی از باکتری‌های مورد مطالعه در رابطه با اثر ایمی‌پنم و آمیکاسین [1] برآن‌ها

میکرو ارگانیسم‌های مورد مطالعه	ایمی‌پنم				آمیکاسین			
	مقاوم		حساس		مقاوم		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Escherichia coli	٠	٠	٦	١٠٠	٠	٠	٦	١٠٠
Klebsiella	٧	٧٧/٨	٢	٢٢/٢	٧	٧٧/٨	٢	٢٢/٢
Enterobacter	٢	٦٦/٧	١	٣٣/٣	٢	٦٦/٧	١	٣٣/٣
Acinetobacter	٢٨	٩٣/٣	٢	٦/٧	٢٨	٩٣/٣	٢	٦/٧

۱- اثر آنتی‌بیوتیک به روش دیسک بررسی شد. موارد مقاوم و حساس با اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و مقایسه با جدول استاندارد ثبت شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

علی‌رغم وجود گزارش‌های متعدد درباره آثار ضدمیکروبی زردچوبه ، داده‌ها در رابطه با اثر این گیاه بر عفونت زخم سوختگی بسیار اندک بود و بیشتر مطالعات بر سوش‌های استاندارد تمرکز یافته است. در مورد زخم سوختگی نیز اغلب در زمینه خاصیت التیام‌بخشی و ضدالتهابی گیاه گزارش‌هایی وجود دارد. این در حالی است که گسترش زیاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در عفونت زخم سوختگی، درمان بیماران را مشکل و پر هزینه کرده و مرگ و میرهای زیادی را به همراه داشته است. با توجه به اهمیت این موضوع بر آن شدیم تا اثر گیاه مذکور را بر باکتری‌های جداشده از زخم سوختگی بررسی کنیم. یافته‌های ما نشان داد که عصاره متانولی ریزوم زردچوبه ، اثر قوی بازدارنده رشد بر Staphylococcus، Pseudomonas aeruginosa و Acinetobacter دارد. در این بین شدت اثر گیاه بر انواع Staphylococcus بسیار بیشتر از دو نوع دیگر بود. همچنین از انواع Staphylococcus، سه گونه (aureus, epidermidis, saprophyticus) به دست آمد که اثر گیاه بر هر سه نوع تقریباً یکسان بود.

با توجه به این موارد می‌توان گفت، عصاره الکلی این گیاه بر عفونت زخم سوختگی مؤثر است، زیرا براساس این مطالعه و گزارش‌های دیگر [٦، ١٧ و ١٨]. باکتری‌های مذکور از عوامل عمده ایجاد عفونت در زخم بیماران به شمار می‌روند. اهمیت آثار ضدمیکروبی پیدا شده در این گیاه هنگامی‌بهتر مشخص می‌شود که بدانیم گزارش‌های متعددی در خصوص مقاومت دارویی باکتری‌ها در زخم سوختگی موجود است [٦، ١٩ و ٢٠]. در این مطالعه نیز بیش از ٩٠درصد انواع Acinetobacter و به طور تقریب ١٠٠درصد Pseudomonas از خود مقاومت نشان دادند. انواع Staphylococcus نیز به طور تقریب همگی به پنی‌سیلین مقاوم بودند، اما ٥٠درصد از آن‌ها به اگزاسیلین مقاومت نشان دادند. این در حالی است که گیاه مذکور بر در صد بالایی از سویه‌های جدا شده به طور معناداری مؤثر بود.

زردچوبه از زمان‌های قدیم در مناطق مختلف جهان از جمله آسیا، یونان و ماداگاسکار برای درمان زخم‌های باکتریایی و قارچی پوست، جوش، گال، بیماری‌های انگلی، عفونت چشم، سیفیلیس اولیه و... استفاده شده است [۸، ۲۱، ۲۲ و ۲۳]. مطالعات جدید نیز وجود اثرات ضدمیکروبی این گیاه را تأیید می‌کند. محققان معتقدند، زردچوبه خاصیت ضد باکتری داشته و می‌تواند زخم‌های عفونی را درمان کند [۱۰، ۲۱، ۲۲ و ۲٤].

بررسی سینگ و همکارانش فعالیت ضد باکتریایی اسانس زردچوبه را در رنج غلظتی۲۰-۲۰۰ µg/ml بر Staphylococcus epidermidis و Staphylococcus aureus استاندارد و بالینی و عصاره آبی گیاهرا در غلظت $\frac{mg}{mL}$ ۲۰۰۰ بر staplhyloccus areus بالینی نشان داده است [۲۵]. دیگر محققان فعالیت میکروب‌کشی عصاره آبی بر Staphylococcus aureus و اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت را گزارش کرده‌اند [۱۱، ۲٦ و ۲۷].

تامس و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدباکتریایی عصاره‌های اتری و اتیل‌استاتی این گیاه را بر انواع مقاوم باکتری‌های جداشده از بیماران یک بیمارستان آزمایش کرده و نشان دادند عصاره‌های مذکور بر انواع Staphylococcus aureus جداشده مؤثر هستند [۱۲].

پژوهش‌گران معتقدند، عصاره الکلی گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است و می‌تواند از عفونت زخم جلوگیری کند. Curcumin یکی از مواد مؤثره مهم این گیاه است که بر باکتری‌های گرم مثبت اثر دارد [۱۰، ۱۱، ۲۷، ۲۸ و ۲۹].

این نتایج با یافته‌های ما مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز عصاره الکلی گیاه بر انواع Staphylococcus اثر قابل‌توجهی داشت؛ به‌طوری‌که MIC گیاه برای انواع حساس mg/ml ۳/۷بود. با توجه به مطالعه سینگ به نظر می‌رسد خاصیت آنتی‌باکتریال اسانس و عصاره آبی گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از عصاره الکلی باشد. به هر حال، اثر بخشی گیاه بر این باکتری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا باکتری‌های گرم مثبت عامل شروع عفونت زخم سوختگی هستند. بنابراین با استفاده زود هنگام از این گیاه برای بیماران می‌توان از شروع عفونت جلوگیری کرد که البته این امر نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره اتیل‌استاتی زردچوبه روی Staphylococcusهای مقاوم به متی‌سیلین که توسط کیم و همکاران او انجام گرفت، نشان داد دامنه MIC عصاره بین (mg/ml 2-0/125)است [۳۰]. این نتایج با یافته‌های ما مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز عصاره متانولی گیاه بر بیشتر این باکتری‌ها مؤثر بود؛ به‌طوری‌که MIC آن برای Staphylococcus aureusهای مقاوم به متی‌سیلین mg/ml۳/۷ و برای Staphylococcus epidermidis mg/ml٤/۲ بود. براساس گزارش کیم، فعالیت میکروب کشی عصاره اتیل‌استاتی بر این باکتری‌ها بیشتر از عصاره‌های متانولی و آبی است که یافته‌های ما نیز این نظر را تأیید می‌کند [۳۰].

امروزه ظهور Staphylococcusهای مقاوم به متی‌سیلین و مقاوم به وانکومایسین یکی از مشکلات جدی در روند درمان بیماران به شمار می‌آید. در این مطالعه نیز ۵۰درصد Staphylococcusها مقاوم به متی‌سیلین بودند و چندین مورد مقاوم به وانکومایسین نیز در بین آن‌ها مشاهده شد. این در حالی است که عصاره متانولی گیاه به‌طور معناداری بر بیشتر آن‌ها مؤثر بود. این یافته‌ها می‌تواند نویدبخش درمان اینگونه عفونت‌های مقاوم باشد. از آنجا که باکتری‌های ایجادکننده عفونت زخم سوختگی نسبت به همان نوع از باکتری‌ها در بیماری‌های دیگر مقاوم‌ترند، به نظر می‌رسد فعالیت آنتی‌باکتریال گیاه بر Staphylococcusهای مقاوم جداشده از دیگر نمونه‌های بالینی به مراتب بهتر باشد. از طرفی این احتمال وجود دارد که با مصرف همزمان زردچوبه با آنتی‌بیوتیک‌های بی‌اثر بتوان فعالیت ضد میکروبی این داروها را افزایش داد. کیم و همکارانش این مطلب را به اثبات رساندند. براساس مطالعه آن‌ها آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند آمپی‌سیلین و اگزاسیلین که در شرایط عادی بر Staphylococcusهای مقاوم بی‌اثر بودند، در مصرف

همزمان با عصاره اتیل‌استاتی گیاه مذکور فعالیت ضد میکروبی خوبی از خود نشان دادند [۳۰].

یکی دیگر از معضلات زمان حاضر در روند درمان بیماری‌های عفونی، بروز Acinerobacterهای مقاوم به درمان در عفونت‌های بیمارستانی است که مرگ و میرهای زیادی را نیز به دنبال داشته است [۳۱ و ۳۲]. خاصیت بازدارندگی قوی زردچوبه بر انواع این باکتری لزوم استفاده از آن را در درمان عفونت‌های مقاوم به همراه آنتی‌بیوتیک‌ها می‌رساند.

گزارش‌هایی مبنی بر آثار ضدمیکروبی زردچوبه بر Pseudomonas وجود دارد که از آن جمله می‌توان به فعالیت میکروب‌کشی اسانس این گیاه در غلظت ۲۰۰۰µg/ml بر این باکتری اشاره کرد که سینگ و همکارانش گزارش کرده‌اند. همچنین اثر ممانعت‌کننده عصاره آبی این گیاه بر باکتری مورد نظر توسط عده‌ای دیگر از محققان نشان داده شده است [۱۰، ۲۱، ۲۲، ۲٤، ۲۵ و ۲٦]. این یافته‌ها با نتایج ما مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز اثر بازدارندگی عصاره الکلی گیاه بر Pseudomonas مشاهده شد. بنابراین با توجه به مقاومت روزافزون باکتری موردنظر به داروهای منتخب، استفاده از این گیاه در درمان عفونت‌های مقاوم ناشی از این باکتری باید مورد توجه قرار گیرد.

در پژوهش حاضر مشخص شد، عصاره الکلی گیاه بر انواع Escherichia coli، Klebsiella و Enterobacter جداشده مؤثر نیست. این مسئله مشکل چندانی در روند درمان ایجاد نمی‌کند، زیرا میزان فراوانی این باکتری‌ها براساس این مطالعه و تحقیقات دیگران در زخم سوختگی ناچیز است [٦، ۱۷ و ۱۸]. بررسی سینگ و همکارانش فعالیت ضد باکتریایی اسانس زردچوبه را در غلظت ۲۰۰۰µg/ml بر Escherichia coli نشان داد. همچنین اثر بازدارندگی عصاره آبی این گیاه بر باکتری مذکور در مطالعات دیگر نشان داده شده است. این نتایج با یافته‌های ما مغایرت دارد [۲۵ و ۲٦]. تامس و همکارانش نشان دادند، عصاره اتیل‌استاتی و اتری Curcuma Longa از رشد نمونه‌های مقاوم بالینی klebsiella جلوگیری می‌کند. این نتیجه نیز با یافته‌های ما مغایرت دارد [۱۲]. در بررسی عده‌ای دیگر از پژوهشگران، هیچ اثر ضدمیکروبی از عصاره آبی گیاه بر انواع Klebsiella مشاهده نشد که این نتیجه با نتایج ما مطابقت دارد [۲٦].

لالا و همکاران فرمولاسیونی را متشکل از چندین گیاه که زردچوبه نیز یکی از آن‌ها بود بر ۵۳ بیمار مبتلا به آکنه ولگاریس به صورت مصرف همزمان قرص و کرم آزمایش کردند. نتایج حاکی از اثربخشی این ترکیب در درمان آکنه بود. همچنین مشخص شد، استفاده توام از قرص و کرم در روند درمان بسیار مؤثرتر از استفاده از هر کدام به تنهایی است [۲۳]. آکنه ولگاریس به وسیله Propionibacterium و Staphyococcus به وجود می‌آید. یافته‌های ما نشان داد عصاره متانولی این گیاه اثر قابل توجهی بر انواعStaphylococcus (mic=۳/۷mg/ml)دارد. این مسئله روشن می‌سازد که می‌توان مطالعاتی را در زمینه خاصیت آنتی‌باکتریال این گیاه در درمان جوش‌های پوستی انجام داد.

آثار ضد میکروبی زردچوبه بر سایر باکتری‌ها مانندBacillus subtilis/ coaguloris/ cereus، Salmonella typhi/ paratyphi، Chromobecterium violaceum، Proteus mirabilis و Mycobacterium tuberculosis و حتی روی قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است [۸، ۱۰، ۱۱، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲٤، ۲۵، ۲٦، ۲۷، ۲۸، ۳۳ و ۳٤].

از آنجا که نتایج این تحقیق اثر عصاره الکلی زردچوبه را بر عفونت زخم سوختگی نشان می‌دهد و با توجه به ارزشمند بودن این اثر، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بیشتر در این مورد به صورت آزمایش‌های فارموکولوژی و بالینی صورت گیرد و در صورت نتیجه‌بخش بودن این آزمایش‌ها با ارائه آن به بخش صنعت، تولید اشکال مختلف دارویی از این گیاه از جمله پماد در دستور کار قرار گیرد، همچنین با توجه به فعالیت میکروب‌کشی قوی این گیاه بر عفونت زخم سوختگی، نتایج تحقیق حاضر می‌تواند راهگشای مطالعاتی در زمینه سایر عفونت‌های بالینی ایجاد شده توسط این باکتری‌ها باشد.

منابع

1- Brunicardia FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE , editors. Schwartz's principles of surgery. NewYork, McGraw – Hill Inc; 2005.

2- Unkhwan H, Shouguang I. Expression of the soxR gene of Pseudomonas aeruginosa is inducible during infection of burn wounds in mice and is required to cause efficient bacteria. Infect and Immun. 1999; 67(10): 5324-31.

3- Miri MR, Hemmati H, Shahraki S. Comparison of efficacy of honey versus silver sulfadiazine and acetate mafenid in the treatment of contaminated burn wounds in piggies. Pak J Med Sci. 2005; 21(2): 168-73.

4- Dale K MR , Schnell G, Wong PJ. Therapeutic efficacy of "Nubiotics" against burn wound infection by Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48 (8): 2918-23.

5- Cakir B , Yegen BC. Systemic responses to burn injury. Turkey J Med Sci. 2004; 34: 215-26.

6- Wonkeum S, kyu ML , Hee JK, Dong HS, Dong KK. Microbiologic aspects of predominant bacteria from the burn patients in korea. Burns. 2001; 27: 140-44.

7- Bowler PG, Duerden BI, Armistrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microb Rev. 2001; 14(2): 244-69.

8- Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J, editors. Herbal medicine.1st ed. USA: American Botanical Council; 2000.

9- Zargari A, editor. Medicinal plants.Vol:4. Fourth ed .Tehran:The Institue for publications and printing of Tehran university ; 1376.

10- Mesa MD, Ramirez – Tortosa MC, Aguilera CM, Ramirez- Bosca AY GIL A. Pharmacological and nutritional effects of Curcuma Longa extracts and curcuminoids. Ars Pharmaceutica. 2000; 41(3): 307-21.

11- Srimal RC. Turmeric: A brief review of medicinal properties. Fitoterapia. 1997; 68(6) : 483-93.

12- Thomose, Shanmugan J, Rafimm. Antibacterial activity of plants belogine to zingiberaceae family. Biomedicine.1995; 16(2): 15-20.

13- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, editors. Textbook of diagnostic microbiology. St. louis, Missouri: Saunders Elsevier; 2007.

14- Forbes BA, Sahrn DF, Weissfeld AS, editors. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. St. louis, Baltimore…: Mosby Inc; 2007.

15- Kasper DL , Braunwaid E, Fauci AS , Hauser Sl, Longo DI, Jameson JL, editors. Harrison's Principles of Internel medicine. NewYork, Chicago…: McGraw – Hill Inc; 2005.

29- Ramirez – Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez – Tortosa Cl , et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholestererolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. Atherosclerosis. 1999; 147: 371-8.

30- Kim KJ, YU HH, Cha JD, Seo SJ, Chio NY, You YO. Antibacterial activity of Curcuma Longa L.against

16- Brooks FG, Butel SI, Morse AS. Jawetz , Melniek & Adelberg's medical microbiology. Twenty third ed. NewYork, Chicago and Francisco: McGraw- Hill Inc; 2004.

17- Kamel AH, EL megeed EA. The role of aztreonam in the control of gram negative burn wound infection. Annals of Burns and Fire Disaster. 1997; vol.x-n,1.

18-Rezaie K , Rafiei E , Javadi T ,Tarrahi MJ. Study of infection outbreak rate in burn wounds using tissue culture metod.In :Ansari H editor. Burn. Tehran : Ebadifar publications ; 1382: 181- 87

19- Pirnary J-P, Vos DD , Coches C, Bilocq F, Pirson J, Struelens M, et al. Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa colonization in burn unit: persistence of a multidrug – resistant clone and a silver sulfadiazine – resistant clone. J of Clin Microb. 2003; 41(3):1192-202.

20- Bahar MA , Rezaie E , Rahbar P.Comparison of bacteria isolatated from wounds of burnt patients and study of their drug sensitivity in 1378-79-80-81.In : Ansari H editor . burn .Theran : Ebadifar Publications;1382: 156-8.

21- Eigner D, Scholz D. Ferula asa – foetida and Curcuma Longa in traditional medical treatment and diet in Nepal. J Ethnopharmacol. 1999; 67: 1-6.

22- Duke , JA, Bogenschutz – Godwin MI, Ducellier J, Duke P- Ak , editors. Handbook of medicinal herbs. Boca , Raton , London … : CRC Press; 2002.

23- Lalla JK , Nande Kar SY, Paranjape MH , Talreja NB. Clinical trials of ayurvedic formation in the treatment of acne vulgaris. J Ethnopharmacol. 2001; 78: 99-102.

24- Madan B, Gad WN , Ghosh Balaram. Curcuma Longa activates NF- KB and promotes adhesion of neutrophils to human umbilical vein endothelial cells. J Ethnopharmacol. 2001; 75: 23-5.

25- Singh R, Chandra R, Bose M, Pratibha Ml. Antibacterial activity of Curcuma Longa rhizome extract on pathogenic bacteria. Sci. 2002; 83(6): 737-40.

26- Srinivasan D, Nathan S, Suresh T, Perumalsamy Pl. Antimicrobial activity of certain indian medicinal plants used in folk medicine. J Ethnopharmacol. 2001; 74: 217-20.

27- Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extract from Curcuma Longa. J Ethnopharmacol. 1995; 49: 163-9.

28- Muelas – Serrano S, Nogal JJ, Martinez – Diaz RA, Escario JA, Martinez – Fernandez AR , Gomez – Barrio A. In vitro screening of American plant extracts on Trypanosoma cruzi and Trichomonas vaginalis. J Ethnopharmacol. 2000; 71: 101-7.

methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Phytother Res.2005; 19 (7): 599-604.

31- Sengupta S , Kumar P, Ciraj AM, Shivanada PG. Acinetobacter baumannii – an emerging nosocomial pathogen in the burns unit manipal, India. Burns. 2001; 27: 140-44.

32- David KA, Moran KA, Mcalister CK, Gray PG.Multidrug resistant Acinetobacter extremity infection in soldiers. Emerg Infect Dis [serial on the internet] 2005 Aug [date

cited] Available from http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol 11 no 08/05-0103.htm

33- Ataei Z, Ansari M, Ayat Elahi Mousavi A, Mirzaei A. In-Vitro study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strain of Candida albicans. Majalleh-i-dandanpizishki. 2007;19(2(63)):91-7.

34- Agrawal DK, Saikia D, Tiwari R, Ojha S, Shanker K, Kumar JK, et al. Demethoxycurcumin and its semisynthetic analogues as antitubercular agents. Planta Med.2008;74 (15):1828-31.

Daneshvar

Medicine

Comparison of Antimicrobial Effects of *Cucuma Longa* extract and selective Antibiotics against bacteria Isolated from Infected burn wounds

Attarpour Yazdi M.M[1*], Kamalinejad M[2] & Falvaei Koochak N.S.[3]

1- Microbiology Dept, Faculty of Medicin, Shahed University ,Tehran,Iran
2- Pharmacognosy Dept., Shahid Beheshti University of Medical Sciences
3- Faculty of Pharmacy , Azad University.

E-mail: attarpouryazdi@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Burn wound is a suitable site for the incidence of resistant infections. Thus, the research for finding of effective drugs against this infection is necessary. The purpose of this study was to determine antibacterial activity of methanolic extract of Curcuma longa rhizome against bacteria isolated from burn wound infections and to compare with effects of selected antibiotics.

Materials & Methods: First, a sample of methanolic extract of the plant rhizome was prepared . Then its antibacterial activity against 8 isolates of bacteria from 100 samples of burn wound infection was evaluated by well diffusion and then Agar Serial Dilution method. Also, the MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of extract was determined. The effect of selected antibiotics was tested by disk diffusion method. The onava test was used to compare the results.

Results: The results demonstrated that the plant extract had been effected against 80% of Pseudomonas aeruginosa , 69% of Acinetobacter and more than 75% of Staphylococcus species. The MIC of the extract for this bacteria was 13.95,14.55 and 3.7 mg/ml respectively,while they were often resistant to selected antibiotics .There was significant difference between the effects of plant and antibiotics on all of them (P<0/05).

Conclusion: This study demonstrates that methanolic extract of Curcuma longa have good antibacterial activity against most of bacteria isolated from burn wound infections. However, we need more investigation In vitro and In vivo.

Key words: *Curcuma longa*, Methanolic extract,Bum wound bacteria

Scientific-Research Journal of Shahed University
Sixteenth Year, No.84
December, January 2009-2010

Received: 20094/13
Last revised: 2009/12/28
Accepted: 2010/1/4