

مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره زردچوبه با آنتی بیوتیک های منتخب بر باکتری های جدا شده از عفونت زخم سوختگی

محمد مهدی عطار پور یزدی^{۱*}، محمد کمالی نژاد^۲ و دکتر نسیم سادات فلوایی کوچک^۳

۱. مربی، گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

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

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

Email: attarpouryazdi@shahed.ac.ir

* نویسنده مسئول:

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 می رسد. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی ریزوم زردچوبه بر باکتری های 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 رقت های متوالی در آگار بررسی شد. همچنین MIC (Minimum Inhibitory Concentration) عصاره تعیین گردید. اثر آنتی بیوتیک های منتخب به روش دیسک بررسی و برای مقایسه نتایج، آزمون آنوای 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 باکتری های 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 آنتی بیوتیک و گیاه برای تمام آنها ($P < 0/05$) معنادار بود.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان می دهد که عصاره متانولیزردچوبه اثر ضد باکتریایی خوبی بر علیه اغلب باکتری های 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، باکتری های زخم سوختگی

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

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

مقدمه

در میان حوادثی که سلامتی و حیات انسان را به خطر می‌اندازد، سانحه سوختگی از سخت‌ترین آن‌ها به شمار می‌رود. سوختگی، جراحی 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 ۷۵ درصد) به دنبال سوختگی است [۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و 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 [۴ و ۷]. در دهه‌های اخیر، مقاومت به داروهای ضد میکروبی در باکتری‌های ایجاد کننده عفونت زخم سوختگی، روند رو به رشدی داشته است [۶]. 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 [۶].

با توجه به این موارد، تحقیقات متعددی در زمینه‌های مختلف از جمله بیوتکنولوژی، فارماکولوژی، شیمی دارویی 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 متورمی است 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 *Eshcherichia 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 ضد میکروبی موجود در زردچوبه و از آنجا که مطالعات در زمینه تأثیر 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 آنتی بیوتیک‌های منتخب برای درمان بیماران دچار عفونت سوختگی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری و تعیین هویت میکروبی

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

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) در رقت‌های پایین‌تر از $mg/ml 40$ به روش رقت در آگار (Agar Serial Dilution) تعیین شد [۱۳ و ۱۴].

در روش انتشار در آگار، چاهک‌هایی به قطر شش میلی‌متر در پلیت‌های محتوی مولر هیتون آگار ایجاد شد. از کشت ۲۴ 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 $mg/ml 40$ به دست آمد. مقدار $1150 \mu l$ از این محلول در هر چاهک ریخته شد. در تعدادی چاهک نیز $1150 \mu l$ متانول به عنوان شاهد ریخته شد. پلیت‌ها برای رشد به گرمخانه $37^\circ C$ منتقل و بعد از ۲۴ ساعت قطره‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد [۱۳ و ۱۴].

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 هیتون آگار مخلوط و درون پلیت ریخته شد. غلظت نهایی عصاره در پلیت‌ها به شرح زیر بود:

$\frac{mg}{ml}$
۰/۰۳۹، ۰/۰۷۸، ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵،
۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲

دو پلیت نیز به عنوان 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 $37^\circ C$ منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت برای رشد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین غلظت عصاره که مانع از رشد باکتری شده بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۳ و ۱۴].

منتقل و پس از تهیه کشت خالص با انجام آزمایش‌های مستقیم و تست‌های بیوشیمیایی لازم [۱۳ و ۱۴]. 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 (Triple Sugar Iron Agar)، تست اکسیداز، تست اوره، تست در محیط EMB (Euzin Metilen lue)، تست در محیط IMVIC (IndolMethyl – Red Voges – Proskauer) و تست در محیط SIM (SHEng. Indo Mutility) استفاده شد [۱۳ و ۱۴].

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 ۴۸ ساعت بود. برای تهیه عصاره، مقدار صد گرم پودر گیاه در $1000 ml$ 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 $mg/ml 40$ مورد آزمایش قرار گرفت. سپس در مورد نمونه‌هایی که در این غلظت‌ها عدم رشد داشتند،

تعیین حساسیت نمونه‌ها به آنتی بیوتیک‌های منتخب فعالیت ضد میکروبی آنتی بیوتیک‌های منتخب [۱۵] و [۱۶]. شامل پنی سیلین، اگزاسیلین، وانکومايسين، فتازیدیم، توبرامايسين، ایمی پنم و آمیکاسین به روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک (Kirby-Bauer Diffusion) بررسی شد. از کشت ۲۴ 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 آنتی بیوتیکی خریداری شده از شرکت پادتن طب با فاصله مناسب روی پلیت‌ها قرار داده شدند. پلیت‌ها به گرمخانه منتقل و پس از ۲۴ ساعت قطر هاله 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 آنتی بیوتیک‌ها و عصاره بر باکتری‌های مورد مطالعه از آزمون آنوای 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 ضد میکروبی 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 غلظت ۲۰ 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، همان‌هایی هستند که در همه رقت‌های به کار رفته، رشد کرده‌اند.

از آنجا که در بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال عصاره به روش چاهک در غلظت ۴۰ mg/ml همه سویه‌های

میکروبی هاله عدم رشد داشتند، روش رقت در آگار در رقت‌های پایین‌تر از ۴۰ mg/ml برای تمامی نمونه‌ها استفاده شد.

در جدول یک باکتری‌های MRSA (استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سیلین) و VRSA (استافیلوکوکوس مقاوم به وانکومايسين) در حقیقت، بخشی از همان ۲۶ 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 قطر هاله عدم رشد و مقایسه با جداول استاندارد ثبت شده‌اند.

در مقایسه حساسیت نمونه‌ها به آنتی بیوتیک‌ها و عصاره گیاهی، تفاوت اثر گیاه با پنی سیلین، اگزاسیلین و وانکومايسين ($p < 0/05$) بر انواع *Staphylococcus*، سفنازیدیم و توبرامايسين ($p < 0/05$) بر *Pseudomonas* و همچنین ایمی پنم و آمیکاسین ($p < 0/05$) برای *Acinetobacter* و *Escherichia coli* معنادار بود. این در حالی است که اختلاف معناداری در اثر ایمی پنم و آمیکاسین ($p > 0/05$) با عصاره بر *Klebsiella* و *Enterobacter* مشاهده نشد.

۱- اثر گیاه با روش رقت در آگار در غلظت‌های ۲۰-۳۹ mg/ml (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 رشد کرده باشد و نمونه‌ای حساس است که حداقل در غلظت ۲۰ mg/ml رشد نکرده باشد.

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

- ۴- Methicillin resistant Staphylococcus aureus
 ۵- Vancomycin resistant Staphylococcus aureus
 ۶- Methicillin resistant Staphylococcus epidermidis
 ۷- Vancomycin resistant Staphylococcus epidermidis
 ۸- Minimum Inhibitory Concentration

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.

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

میانگین MIC ^۸ گیاه ± انحراف معیار	اثر زردچوبه				تعداد و درصد افرادی که در ^۲ زخم خود دارای میکروب مورد نظر بودند		باکتری‌های مورد مطالعه
	حساس		مقاوم		درصد	تعداد	
	درصد	تعداد	درصد	تعداد			
۳/۷۷ ± (۶/۰۱)	۷۶/۹	۲۰	۲۳/۱	۶	۲۶	۲۶	**Staphylococcus aureus
۳/۷۰ ± (۳/۸۴)	۸۱/۸	۹	۱۸/۲	۲	۱۱	۱۱	**Staphylococcus epidermidis
۵	۱۰۰	۱	۰	۰	۱	۱	Staphylococcus saprophyticus
---	۰	۰	۱۰۰	۵	۶	۶	Escherichia coli ^۳
۲۰	۱۱/۱	۱	۸۸/۹	۸	۹	۹	Klebsiella
۲۰	۳۳/۳	۱	۶۶/۷	۲	۳	۳	Enterobacter
۱۳/۹۵ ± (۵/۳۹)	۸۱/۵	۳۱	۱۸/۵	۷	۴۱	۴۱	Pseudomonas aeruginosa ^۴
۱۴/۵۵ ± (۷/۶۴)	۶۹/۲	۱۸	۳۰/۸	۸	۳۰	۳۰	Acinetobacter ^۵
۳/۷۵ ± (۶/۲۴)	۶۹/۲	۹	۳۰/۸	۴	۱۳	۱۳	*MRSA ^۴
۱۰/۳۱ ± (۱۳/۷)	۶۶/۲	۲	۳۳/۴	۱	۳	۳	*VRSA ^۵
۴/۲۵ ± (۳/۴۹)	۸۳/۳	۵	۱۶/۷	۱	۶	۶	*MRSE ^۱
۱/۲۵	۱۰۰	۱	۰	۰	۱	۱	*VRSE ^۶

جدول ۲- توزیع فراوانی نسبی و مطلق انواع Staphylococcus مورد مطالعه در رابطه با اثر پنی‌سیلین، آگزامایسین و وانکومایسین^۱ بر آن‌ها

وانکومایسین				آگزامایسین				پنی‌سیلین				میکرو ارگانیزم‌های مورد مطالعه
حساس		مقاوم		حساس		مقاوم		حساس		مقاوم		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۸۸/۵	۲۳	۱۱/۵	۳	۵۰	۱۳	۵۰	۱۳	۳/۸	۱	۹۶/۲	۲۵	Staphylococcus aureus
۹۰/۹	۱۰	۹/۱	۱	۴۵/۵	۵	۵۴/۵	۶	۰	۰	۱۰۰	۱۱	Staphylococcus epidermidis
۱۰۰	۱	۰	۰	۰	۰	۱۰۰	۱	۰	۰	۱۰۰	۱	Staphylococcus saprophyticus

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

جدول ۳- توزیع فراوانی نسبی و مطلق *Pseudomonas aeruginosa* های مورد مطالعه در رابطه با اثر سفنازیدیم و توبرامایسین^۱ بر آن‌ها

توبرامایسین		سفنازیدیم				باکتری مورد مطالعه	
		مقاوم		حساس			
حساس	مقاوم	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۲/۴	۱	۹۷/۶	۴۰	۰	۰	۱۰۰	۴۱
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							

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

جدول ۴- توزیع فراوانی نسبی و مطلق تعدادی از باکتری‌های مورد مطالعه در رابطه با اثر ایمپنم و آمیکاسین^۱ بر آن‌ها

آمیکاسین		ایمپنم				میکرو ارگانیزم‌های مورد مطالعه	
		مقاوم		حساس			
حساس	مقاوم	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱۰۰	۶	۰	۰	۱۰۰	۶	۰	۰
۲۲/۲	۲	۷۷/۸	۷	۲۲/۲	۲	۷۷/۸	۷
۳۳/۳	۱	۶۶/۷	۲	۳۳/۳	۱	۶۶/۷	۲
۶/۷	۲	۹۳/۳	۲۸	۶/۷	۲	۹۳/۳	۲۸
<i>Escherichia coli</i>							
<i>Klebsiella</i>							
<i>Enterobacter</i>							
<i>Acinetobacter</i>							

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

بحث و نتیجه‌گیری

(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 بر اساس این مطالعه و گزارش‌های دیگر [۶، ۱۷ و ۱۸]. باکتری‌های مذکور از عوامل عمده ایجاد عفونت در زخم بیماران به شمار می‌روند. اهمیت آثار ضد میکروبی پیدا شده در این گیاه هنگامی بهتر مشخص می‌شود که بدانیم گزارش‌های متعددی در خصوص مقاومت دارویی باکتری‌ها در زخم سوختگی موجود است [۶، ۱۹ و ۲۰]. در این مطالعه نیز بیش از ۹۰ درصد انواع *Acinetobacter* و به طور تقریب ۱۰۰ درصد *Pseudomonas aeruginosa* از خود مقاومت نشان دادند. انواع *Staphylococcus* نیز به طور تقریب همگی به پنی‌سیلین مقاوم بودند، اما ۵۰ درصد 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.

علی‌رغم وجود گزارش‌های متعدد درباره آثار ضد میکروبی 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 ضد التهابی گیاه گزارش‌هایی وجود دارد. این در حالی است که گسترش زیاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در عفونت زخم سوختگی، درمان بیماران را مشکل و پرهزینه 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 جدا شده 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 aureus*، سه گونه (

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 *Staphylococcus* های مقاوم به متی‌سیلین که توسط کیم و همکاران او انجام گرفت، نشان داد دامنه MIC عصاره بین (2-0/125 mg/ml) است [۳۰]. این نتایج با یافته‌های ما مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز عصاره متانولی گیاه بر بیشتر این باکتری‌ها مؤثر بود؛ به طوری که MIC آن برای *Staphylococcus aureus* های مقاوم به متی‌سیلین ۳/۷ mg/ml و برای *Staphylococcus epidermidis* ۴/۲ mg/ml 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 *Staphylococcus* های مقاوم به متی‌سیلین و مقاوم به وانکومایسین یکی از مشکلات جدی در روند درمان بیماران به شمار می‌آید. در این مطالعه نیز ۵۰ درصد *Staphylococcus* ها مقاوم به متی‌سیلین بودند و چندین مورد مقاوم به وانکومایسین نیز در بین آن‌ها مشاهده شد. این در حالی است که عصاره متانولی گیاه به طور 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 *Staphylococcus* های مقاوم جدا شده 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 *Staphylococcus* های مقاوم بی‌اثر بودند، در مصرف

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، سیفلیس اولیه و... استفاده شده است [۸، ۲۱، ۲۲ و ۲۳]. مطالعات جدید نیز وجود اثرات ضد میکروبی این گیاه را تأیید می‌کند. محققان معتقدند، زردچوبه خاصیت ضد باکتری داشته و می‌تواند زخم‌های عفونی را درمان کند [۱۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۴].

بررسی سینگ و همکارانش فعالیت ضد باکتریایی اسانس زردچوبه را در رنج غلظتی ۲۰-۲۰۰ µg/ml بر *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* استاندارد و بالینی و عصاره آبی گیاه را در غلظت $\frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ ۲۰۰۰ بر *staphylococcus aureus* بالینی نشان داده است [۲۵]. دیگر محققان فعالیت میکروب‌کشی عصاره آبی بر *Staphylococcus aureus* و اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت را گزارش کرده‌اند [۱۱، ۲۶ و ۲۷].

تامس و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدباکتریایی عصاره‌های اتری و اتیل‌استاتی این گیاه را بر انواع مقاوم باکتری‌های جدا شده از بیماران یک بیمارستان آزمایش کرده و نشان دادند عصاره‌های مذکور بر انواع *Staphylococcus aureus* جدا شده 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 قابل توجهی داشت؛ به طوری که MIC گیاه برای انواع حساس ۳/۷ mg/ml بود. 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

اثر ضد میکروبی از عصاره آبی گیاه بر انواع *Klebsiella* مشاهده نشد که این نتیجه با نتایج ما مطابقت دارد [۲۶].

لالا و همکاران فرمولاسیونی را متشکل از چندین گیاه که زردچوبه نیز یکی از آن‌ها بود بر ۵۳ بیمار مبتلا به آکنه و لگاریس به صورت مصرف همزمان قرص و کرم آزمایش کردند. نتایج حاکی از اثربخشی این ترکیب در درمان آکنه بود. همچنین مشخص شد، استفاده توأم از قرص و کرم در روند درمان بسیار مؤثرتر از استفاده از هر کدام به تنهایی است [۲۳]. آکنه و لگاریس به وسیله *Propionibacterium* و *Staphylococcus* به وجود می‌آید. یافته‌های ما نشان داد عصاره متانولی این گیاه اثر قابل توجهی بر انواع *Staphylococcus* ($\text{mg/ml}^3/\text{Vmic} =$) 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 مانند *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *coagulor/ cereus*, *Proteus*, *Chromobacterium violaceum*, *typhi/ paratyphi*، *Mycobacterium tuberculosis* و حتی روی قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است [۸، ۱۰، ۱۱، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۳۳ و ۳۴].

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.

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 *Acinero bacter*‌های 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 ضد میکروبی زردچوبه بر *Pseudomonas* وجود دارد که از آن جمله می‌توان به فعالیت میکروب‌کشی اسانس این گیاه در غلظت $2000 \mu\text{g/ml}$ 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، ۲۴، ۲۵ و ۲۶]. 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 مورد نظر 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 *Enterobacter*، *Klebsiella*، *Escherichia coli* جداسازی شده مؤثر نیست. این مسئله مشکل چندانی در روند درمان ایجاد نمی‌کند، زیرا میزان فراوانی این باکتری‌ها بر اساس این مطالعه و تحقیقات دیگران در زخم سوختگی ناچیز است [۶، ۱۷ و ۱۸]. بررسی سینگ و همکارانش فعالیت ضد باکتریایی اسانس زردچوبه را در غلظت $2000 \mu\text{g/ml}$ 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 ۲۶]. 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

منابع

- 1- Brunicaudia 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 P.J. 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, Armstrong 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 Institute 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 SI, Longo DI, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal medicine.* NewYork, Chicago...: McGraw – Hill Inc; 2005.
- 29- Ramirez – Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez – Tortosa CI , et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic 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 , Melnick & 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, Duceulier 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 MI. Antibacterial activity of *Curcuma Longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. *Sci.* 2002; 83(6): 737-40.
- 26- Srinivasan D, Nathan S, Suresh T, Perumalsamy PI. 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/vol11no08/05-0103.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.

Archive of SID

Received: 2009/4/13

Last revised: 2009/12/28

Accepted: 2010/1/4

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

Attarpour Yazdi M.M^{1*}, Kamalinejad M² & 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