پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۱۷۸ تا ۱۸۱

مقاله اصلی
(Original Article)

مقایسه تاثیر گیاه شیرین‌بیان با آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ‌ها وعفونت ادراری

دکتر گیتا اسلامی[۱]، سودابه طاهری[۱]، دکتر سید عبدالمجید آیت اللهی[۲]، دکتر سولان باقرپور*[۳]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] دکترای داروسازی، دانشکده علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی

چکیده

سابقه و هدف: *از مشکلات طب جدید با وجود امتیازهای ظاهری آن نسبت به طب سنتی مصرف روزافزون داروهای شیمیایی است که باعث مقاومت دارویی و عوارض جانبی می‌شود. با توجه به خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره شیرین بیان به منظور مقایسه تأثیر این عصاره با آنتی‌بیوتیکهای نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ ها و عفونتهای ادراری این تحقیق انجام شد.*

روش بررسی: *تحقیق با طراحی تجربی و بر روی ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به سنگ‌ها و عفونت‌های ادراری انجام شد. ریزوم گیاه شیرین بیان ۴-۳ ساله به روش پرکولاسیون با حلال متانول ۸۵ درصد عصاره گیری شد. حلال به وسیله روتاری تبخیر و به وسیله دستگاه لیوفیلیزه گردید. اثر ضدباکتریایی عصاره با دو روش دیسک دیفیوژن و MIC بررسی و پس از خیساندن دیسک‌های بلانک در عصاره تام و قرار دادن آنها روی محیط مولر هینتون آگار که باکتری‌ها با غلظت ۰/۵ مک فارلند کشت داده شده بودند، به همراه دو دیسک آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین هاله های عدم رشد حاصل از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با عصاره تام برحسب نوع باکتری مقایسه گردید. تحلیل آماری بین گروه‌های آنتی‌بیوتیکی با آزمون ANOVA و در داخل گروه‌ها با آزمون Paird t test انجام شد.*

یافته‌ها: *در آزمایش دیسک دیفیوژن، استرپتوکوک‌ها و MRSA ۱۰۰ درصد به عصاره حساس بودند، درحالی که، Ecoli ۶۷ درصد مقاومت و ۳۳ درصد حساسیت متوسط از خود نشان داد. در آزمایش MIC، استرپتوکوک‌ها و MRSA و انتروکوک فکالیس به رقت ۱/۱۲۸ عصاره و Ecoli به رقت ۱/۶۴ عصاره حساسیت از خود نشان دادند. باکتری‌های کلبسیلا و سراشیا و انتروکوک فاسیوم مقاوم بودند. اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های عدم رشد بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در کاربرد نالیدیکسیک اسید مشاهده نشد ($p=۰/۹$)، در حالی که در کاربرد نیتروفورانتوئین و عصاره اختلاف معنی‌داری دیده شد ($p<۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که عصاره گیاه شیرین‌بیان می‌تواند همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ادراری کاربرد داشته باشد.*

واژگان کلیدی: *عصاره گیاه شیرین بیان، باکتری‌های جدا شده، آنتی‌باکتریال، باکتری‌های گرم مثبت، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.*

مقدمه

مسئله و دغدغه در درمان آنتی‌بیوتیکی مقاومت دارویی و پس از آن عوارض جانبی می‌باشد بر این اساس پس از انجام تحقیقات بر روی اثرات گیاهان، بشر اقدام به بهره گیری از آنها در صنایع مختلف نموده است (۱). اکثر داروهای شیمیایی با تقلید از داروهای گیاهی، اما به صورت مصنوعی در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه می‌شوند. برآورد شده که دست کم یک سوم از کلیه فرآورده‌های مورد مصرف، منشاء گیاهی دارند (۲). اکثر سنگ‌های عفونی مجرای ادراری توسط میکروارگانیزم‌هایی ایجاد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم دارویی، دکتر سولان باقرپور
(**e-mail:** g_eslami@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۹/۲۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۳/۲۲

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شوند کـه آنـزیم اوره‌آز را تولیـد مـی‌کننـد. آمونیـاک در اثـر هیدرولیز اوره توسط اوره‌آز ایجاد می‌شود که در نتیجه آن ادرار به مقدار زیادی قلیایی شده و استرووایت و کربنات آپاتیـت تـشکیل می‌شود. قرار گرفتن ارگانیزم‌های عفونی در درون سنگ در حـال تشکیل، کانونی از عفونت را ایجاد می‌کند که معمـولاً بـه درمـان ضد میکروبی مقاوم است و در اکثـر مـوارد بـا بـاکتریوری پایـدار همراه می‌باشد (۳).

گیـــاه شـــیرین بیـــان (Glycyrrhiza Glabra) از تیـــره Leguminosae اسـت. ایـن گیـاه دارای خـواص آرام کننـده تحریکـــات، ادرارآور و اسپاســـمولیتیک بـــوده و در معالجـــه روماتیسم و بیماری ادیسون و در التهابات مـوثر اسـت کـه در ایران کشت داده می شود. قسمت مورد استفاده ریشه و ریزوم گیاه است و مواد موثر آن جز دسته ساپونین گلیکوزیدها است. به طور کلی می‌توان به وجود مواد زیر در عصاره شیرین بیـان اشاره داشت: تری‌ترپن، فلاوونوئید، ایزوفلاوونوئید و کومـارین (۴). گزارش شده است که عصاره این گیـاه بـه علـت داشـتن برخی مواد، خاصیت آنتی‌باکتریال دارد (۸-۵). به منظـور ایـن که آیا می‌توانند روی باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ‌ها و عفونت‌های ادراری مانند آنتی‌بیوتیک‌های بکار رفته مـوثر باشـد، ایـن تحقیـق در سـال ۱۳۸۸ و در آزمایـشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشـکی شـهید بهشتی انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. برداشت ریزوم گیاه شیرین بیان در اواخر پاییز و اوایل زمستان از گیاه ۴-۳ ساله از مزرعه تحقیقاتی انجام شد و پس از خشک کردن و آسیاب نمودن به روش پرکولاسیون با حلال متانول ۸۵ درصد عصاره‌گیری انجام شد (۹). بعد از عصاره‌گیری حلال به وسیله روتاری تبخیر و بوسیله دستگاه لیوفیلیزه شد. اثر ضد باکتریایی عصاره با دو روش دیسک دیفیوژن و MIC بر باکتری های جدا شده از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سنگ‌های ادراری بررسی شد که تکرارپذیری در باکتری‌های گرم مثبت ۱۴ و در باکتری‌های گرم منفی ۱۰ بود. مراحل انجام کار در روش دیسک دیفیوژن با خیساندن دیسک‌های بلانک در عصاره تام و قرار دادن آنها روی محیط مولرهینتون آگار که باکتری‌ها با غلظت ۰/۵ مک فارلند کشت داده شده بودند به همراه دو دیسک آنتی‌بیوتیک‌های نالیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین انجام شد و هاله‌های عدم رشد حاصل از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با عصاره تام مقایسه و نتایج به صورت حساس، متوسط و مقاوم گزارش شدند.

در روش MIC، ۷ عدد لوله آزمایش تمیز و سترون انتخاب و در هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر محیط TSB ریخته شد. محیط داخل لوله آزمایش توسط اتوکلاو استریل و به ترتیب زیر شماره‌گذاری شدند:

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
رقت	$\frac{۱}{۲}$	$\frac{۱}{۴}$	$\frac{۱}{۸}$	$\frac{۱}{۱۶}$	$\frac{۱}{۳۲}$	$\frac{۱}{۶۴}$	$\frac{۱}{۱۲۸}$

۰/۵ میلی‌لیتر نمونه توسط پی‌پت استریل کشیده، به لوله شماره ۱ اضافه و لوله به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس Shake شد. پس از یکنواختی محیط، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول در لوله آزمایش شماره ۱ برداشته شد و به لوله آزمایش شماره ۲ منتقل و پس از مخلوط کردن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول شماره ۲ به لوله شماره ۳ و بالاخره تا لوله آخر ادامه یافت. در نهایت ۰/۵ میلی‌لیتر از لوله شماره ۷ کشیده و دور ریخته شد. پس از تهیه رقت‌های فوق، ۰/۱ میلی‌لیتر باکتری مورد نظر در هر لوله ریخته، به مدت ۳۰ ثانیه در ورتکس Shake و بعد از گذشت مدت زمان مقرر به تعداد لوله‌ها پلیت حاوی محیط مولر هینتون تهیه و شماره هر لوله روی پلیت مربوط به آن نوشته شد و کنار شعله توسط آنس یک لوپ پر از محتوی لوله برداشته به صورت زیگزاگ در پلیت مربوط به هر رقت کشت داده شد. در هر بار آزمایش، برای یک سوش باکتریایی ۷ لوله مربوط به عصاره بودند (۱۱،۱۰) و در نتیجه MICهای عصاره بر حسب نوع باکتری بدست آمد.

تحلیل آماری بر روی مقاومت بین گروه‌های آنتـی‌بیـوتیکی بـا آزمون ANOVA و در داخل گـروه بـا آزمـون Paired t test انجام شد و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

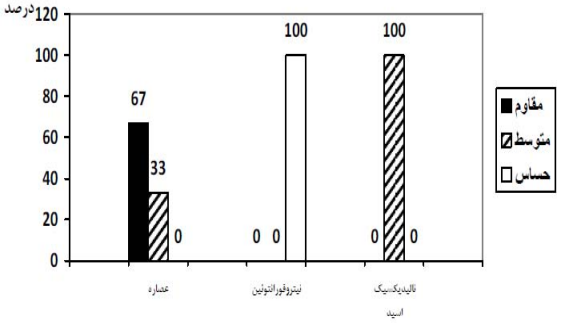
تحقیق در ۱۰۰ نمونه با ۱۴ تکرار در گرم مثبت‌ها و ۱۰ تکرار در گرم منفی‌ها انجام شد و نشان داد که عصاره گیـاه شـیرین بیان بر باکتری‌های گـرم مثبـت (اسـتافیلوکوک، آنتروکـوک) مؤثرتر از باکتری‌های گرم منفی واقع شد. نتایج نشان داد کـه اختلاف معنی‌داری بـین قطـر هالـه‌هـای عـدم رشـد بـر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفـی در کـاربرد نالیدیکـسیک اسید مشاهده نشد ($p=۰/۹$) و نیـز در کـاربرد نیتروفورانتـوئین همین نتیجه حاصل شد ($p>۰/۰۵$). در حـالی کـه در کـاربرد

Archive of SID

www.SID.ir

عصاره شیرین بیان اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های عدم رشد مشاهده شد (P<۰/۰۵) و نیز اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های عدم رشد در کاربرد نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین بر روی باکتری‌های گرم مثبت (p=۰/۱۵)، نیتروفورانتوئین و عصاره بامشاهده نشد (p=۰/۲) و در مقایسه نالیدیکسیک اسید و عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های عدم رشد در کاربرد نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین بر روی باکتری‌های گرم منفی مشاهده نشد (P=۰/۳). در مقایسه نالیدیکسیک اسید و عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۰۱)، واما در مقایسه نیتروفورانتوئین و عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p=۰/۲).

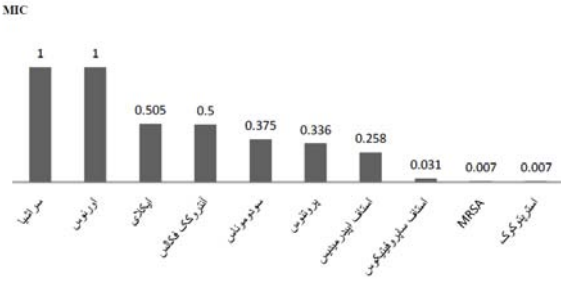
استرپتوکوک‌ها و MRSA در آزمایش دیسک دیفیوژن حساسیتی برابر ۱۰۰ درصد به عصاره شیرین بیان داشتند که نظیر نالیدیکسیک اسید و نیترو فورانتوئین بود و در آزمایش MIC به رقت ۱/۱۲۸ عصاره حساس بودند. آنتروکک فکالیس در آزمایش دیسک دیفیوژن حساسیتی برابر ۱۰۰ درصد به عصاره داشت که مشابه نیتروفورانتوئین بود. E.coli در آزمایش دیسک دیفیوژن ۶۷ درصد مقاومت و ۳۳ درصد حساسیت متوسط به عصاره نشان داد و در آزمایش MIC در برابر رقت ۱/۶۴ عصاره حساس بودند (نمودار یک). باکتری‌های کلبسیلا و آنتروکوک فاسیوم و سراشیا در برابر عصاره مقاوم بودند.



نمودار ۱- میزان مقاومت E.coli جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ‌های ادراری در برابر عصاره و آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده

درصد تاثیر دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج و عصاره شیرین بیان بر روی رشد E.coli بیانگر آن است که این باکتری در آزمایش دیسک دیفیوژن در برابر عصاره ۳۳ درصد حساسیت متوسط و ۶۷ درصد مقاومت داشته است و در برابر نالیدیکسیک اسید ۱۰۰ درصد حساسیت متوسط و در برابر نیتروفورانتوئین ۱۰۰ درصد حساس بود.

MIC عصاره برحسب نوع باکتری‌ها در نمودار ۲ ارائه شده است و نشان می‌دهد که MIC در سراشیا و اورئوس بیشترین (برابر ۱) و در MRSA و استرپتوکوک کمترین میزان بوده است (برابر ۰/۰۱).



نمودار ۲- MIC عصاره شیرین بیان به تفکیک بر روی رشد باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ‌های ادراری

بحث

تحقیق نشان داد که عصاره گیاه شیرین بیان دارای خواص آنتی‌باکتریال است. Toshio Fukai و همکارانش در سال ۲۰۰۲ مشاهده کردند که ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه شیرین بیان اثرات ضد هلیکوباکتر پیلوری در افراد مبتلا به زخم پپتیک دارند (۵) که احتمالاً مؤید اثرات آنتی‌باکتریال عصاره است که مشابهت با تحقیق حاضر دارد. بر اساس تحقیقات Decio Armanini و همکارانش در سال ۲۰۰۵ عصاره گیاه شیرین بیان بر علیه تعدادی باکتری و ویروس از خود فعالیت نشان داد (۶) که مؤید اثرات عصاره فوق در این تحقیق بود. در مطالعه Vivet K. Gupta و همکارانش در سال ۲۰۰۸، عصاره گیاه شیرین بیان در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثرات مایکوباکتریال از خود نشان داد و فعالیت آنتی‌باکتریال آن بر علیه هر دو گروه گرم مثبت و گرم منفی بود (۷) که در این تحقیق نیز نتیجه مشابهی حاصل شد، با این تفاوت که عصاره گیاه شیرین بیان بر باکتری‌های گرم مثبت مقاوم مؤثرتر از گرم منفی بود.

تحقیقات فاطمه عبداللهی و همکاران در سال ۱۳۸۵ بر روی عصاره آبی گیاه شیرین بیان بود (۱۲)، ولی در این تحقیق خواص عصاره متانولی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تحقیقات Rathi SG و Suthar M و همکارانش در سال ۲۰۰۹ درصد گلیسریتیک اسید موجود در عصاره شیرین بیان در عصاره کلروفرمی در مقایسه با عصاره آبی و متانولی بیشتر است (۱۳). به نظر می‌رسد در صورت به کار بردن عصاره کلروفرمی به جای متانولی در این تحقیق احتمالاً اثرات بهتری مشاهده می‌گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

تحقیقات دکتر گیتا اسلامی و همکارانش در سال ۱۳۸۳ بر باکتری‌های شایع در عفونت ادراری با سنگ‌های ادراری بود (۸) که از لحاظ انتخاب سوش‌های مقاوم با این تحقیق مشابهت داشت و نتایج مشابهی حاصل آمد.

رویش گیاه شیرین بیان در نواحی خاص و دسترسی به ریشه و ریزوم و تهیه عصاره در فصول خاصی امکان‌پذیر است. همچنین برداشت گیاه برای عصاره‌گیری در کلیهٔ نمونه‌ها باید هم‌زمان صورت گیرد که مشکلاتی برای این تحقیق محسوب می‌شود و نیز حضور میکروارگانیسم‌هایی غیر از سوش‌های مورد بررسی به علت انواع آلودگی‌ها محدودیت هایی را موجب شدند.

با توجه به این که عصاره‌هایی که با روش‌ها و حلال‌های متفاوتی از یک گیاه گرفته شده می‌تواند اثرات ضد باکتریایی متفاوتی بر روی یک باکتری خاص از خود نشان دهند، پیشنهاد می‌شود که سایر عصاره‌ها مورد بررسی قرار گیرد و نیز اثرات آنتی‌باکتریال اسانس هم بررسی شود و با توجه به این که اثر آنتی‌باکتریال عصاره شیرین بیان بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود، پیشنهاد می‌شود اثر عصاره فوق در سایر عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت بررسی شود.

به نظر می‌رسد عصاره گیاه شیرین بیان به همراه آنتی‌بیوتیکها در عفونت‌های ادراری بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سنگ‌های ادراری تاثیر دارد.

قدردانی و تشکر

بر خود لازم می‌دانیم که از سرکار خانم فاطمه عبداله گرجی مسئول امور پژوهشی بیمارستان کودکان مفید به عنوان مشاور متدولوژی تحقیق و آنالیز داده‌ها سپاسگزاری نمائیم.

REFERENCES

1. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Sage leaf. In: Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J, Eds. Herbal medicine. Newtown: Integrative Medicine Communications; 2000. p.330-32.
2. Zargari A, Ed. Medicinal plants. 4th edition. Tehran: Tehran University Publication; 1988. p.188-91. [In Persian]
3. Torzewska A, Staczek P, Rotalskia A. Struvite. J Med Microbial 2003; 7: 471.
4. Available from: http://plants.usda.gov/java/profile/symbol=CAOF. Accessed at: Jan 1, 2009.
5. Fukai T, Marumo A, Kaito UK, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti- *helicobacter pylori* flavonoids form licorice extract. Life Sci 2002; 71: 1449-63.
6. Armanini D, Fior C, Bielenberg J, Ragazzi E. Encyclopedia of dietary supplements, 2005. Available from: http:/www.informaworld.com/smpp/content~db =all~content=a713479751. Accessed at: Aug 1, 2009.
7. Gupta V, Fatima A, Faridi U, Negi AS, Shanker K, Kumar JK, et al. Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra root. J Ethnopharmacol 2008; 116: 377-80.
8. Eslami G, Taghavi A, Nowrouzi J. A suevey on corrolation between bacteria in patient with UTI and struvite at Labbafi Nejad hospital in 2004. Pejouhesh Dar Pezeshki 2006; 30: 97-100. [In Persian]
9. Available from: http:/www.ayurvedicdietsoution.com/Licorice-root.php. Accessed at: Jan 4, 2009.
10. Omidbeigi R. Production and processing of medicinal plants. Tehran: Tarahan Publication; 1995. p.191-99. [In Persian]
11. Hornok L. Cultivation and processing of medicinal plants. Kiadobudapest: Akadeimiai; 1992. p.407.
12. Abdollahi F, Azadbakht M, Shabankhani B. Effects of *Glycyrrhiza glabra* extract on menopausal side effects. Mazandaran University of Medical Sciences 2006; 16: 142-46. [In Persian]
13. Rathi SG, Suthar M, Patel P, Bhaskar VH, Rajgor NB. In vitro cytotoxic screening of *Glycyrrhiza glabra* L. (faba ceae): a natural anticancer drug. J Young Pharmacist 2009; 1: 239-43.

Archive of SID

www.SID.ir