

گزارش کوتاه

اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی چای سبز و چای سیاه (*Camellia Sinensis*) روی سوبه‌های پseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز

علی هاشمی*^۱، سعید شمس^۲، داوود کلانتر^۳، آرزو طاهرپور^۱، محمد براتی^۴

۱- دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. ۲- کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قم. ۳- دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۴- دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

چکیده

زمینه و هدف: پseudomonas آئروژینوزا یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی بوده و در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها به علت تولید بتالاکتاماز مقاوم می‌باشد. این مطالعه به منظور شناسایی پseudomonas آئروژینوزا تولیدکننده بتالاکتاماز با طیف وسیع و متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران و اثر عصاره متانولی چای سبز و چای سیاه بر روی آنها انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی نمونه زخم ۲۴۵ بیمار سوختگی مراجعه کننده به بیمارستان شفاء کرمان در سال ۱۳۸۷ انجام شد. برای تعیین باکتری‌های دارای *ESBL* (Extended-spectrum- β -Lactamase) از روش *PCT* (Phenotypic Confirmatory Test) و برای شناسایی *MBL* (Metallo- β) Lactamase از نوارهای *E-test* استفاده گردید. برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد آنتی‌بیوتیک‌های ایمپنم، مروپنم، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و آزترونام و عصاره‌های متانولی چای سبز و سیاه از روش رقت در آگار استفاده گردید. عصاره متانولی چای سبز و سیاه به روش خیساندن تهیه شد. ۲۰ گرم پودر گیاه با متانول به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد و صاف گردید و اثر عصاره گیاه چای روی سوبه‌های استاندارد و ۴۱ ایزوله پseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع بررسی شد.

یافته‌ها: از تعداد کل بیماران مورد بررسی ۱۲۰ ایزوله پseudomonas شناسایی شد که ۴۱ نمونه دارای بتالاکتاماز با طیف وسیع و همگی فاقد متالوبتالاکتاماز بودند. ۶۰ درصد از نمونه‌ها مقاوم به سفوتاکسیم، ۶۶ درصد مقاوم به سفنازیدیم، ۴۲ درصد مقاوم به آزترونام، ۳ درصد مقاوم به ایمپنم و ۵ درصد مقاوم به مروپنم بودند. عصاره متانولی چای سبز در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قادر به مهار رشد تمام سوبه‌های استاندارد و نمونه‌های بالینی پseudomonas آئروژینوزا حاوی *ESBL* داشت.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی چای سبز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر سفوتاکسیم و سفنازیدیم دارای اثرات ضدباکتریایی مؤثرتری در برابر پseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز می‌باشد.

کلید واژه‌ها: پseudomonas آئروژینوزا، بتالاکتاماز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، چای سبز، چای سیاه

* نویسنده مسؤول: علی هاشمی، پست الکترونیکی hashemi1388@yahoo.com

نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه میکروب شناسی، تلفن ۰۲۱-۲۳۸۷۲۵۴۸-۲۳۸۷۲۵۵۶، نمابر ۲۳۸۷۲۵۵۶

وصول مقاله: ۸۹/۹/۲، اصلاح نهایی: ۹۰/۱/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۳۱

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا باکتری فرصت طلبی است که موجب عفونت‌های مختلفی از قبیل سپتی‌سمی، پنومونی، عفونت‌های دستگاه ادراری، اندوکاردیت، عفونت‌های پوست، گوش و چشم می‌شود (۱). همچنین این باکتری یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی بوده و عامل اصلی مرگ و میر در افراد مبتلا به سیستمیک فیروزیس، نوتروپنی، افراد دچار سوختگی شدید و مبتلا به ایدز می‌باشد (۲) و به عنوان یک تهدید جدی برای بیماران بستری در بیمارستان‌های سراسر دنیا مطرح است (۳).

کلاس A، بتالاکتامازهای با طیف وسیع (ESBLs) و کلاس B، متالوبتالاکتاماز (MBL) در بعضی از سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا یافت می‌شود (۴). بتالاکتامازهای با طیف وسیع بیشتر به وسیله پلاسמידها کد می‌شوند (۵) و باکتری‌ها را به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده سفالوسپورین و مونوباکتام مقاوم می‌کنند (۶). همچنین متالوبتالاکتامازها که روی عناصر ژنتیکی وجود دارند؛ قادر به هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم و تقریباً همه عوامل دارویی بتالاکتام با طیف وسیع می‌باشند (۷).

چای سبز (*Camellia Sinensis L.*) از برگ‌های گیاه کاملیاسیننسیس تهیه می‌شود. اگر به آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز اجازه فعالیت بیشتری داده شود و درجه تخمیر نیز افزایش یابد؛ چای سیاه حاصل می‌شود. چای سبز غنی از مواد آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و ضدسرطان، پلی‌فنل‌ها و کافئین می‌باشد (۸). مطالعات مختلفی از تاثیر عصاره‌های گیاهی از جمله چای روی پسودوموناس آئروژینوزا وجود دارد (۹ و ۱۰)؛ ولی گزارشی مبنی بر اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی روی پسودوموناس آئروژینوزا دارای آنزیم‌های نامبرده انجام نشده است. لذا این مطالعه به منظور شناسایی باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز با طیف وسیع و متالوبتالاکتاماز، تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و بررسی اثر عصاره متانولی چای سبز و سیاه روی سویه‌های بالینی و استاندارد پسودوموناس آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی نمونه زخم

۲۴۵ بیمار سوختگی مراجعه کننده به بیمارستان شفاء کرمان در سال ۱۳۸۷ انجام شد. از عمق زخم‌های حاصل از سوختگی که ترشح داشتند و مشکوک به آلودگی بودند؛ نمونه‌گیری انجام شد. از بیماران رضایت‌نامه آگاهانه کتبی اخذ گردید.

نحوه جداسازی و تشخیص آزمایشگاهی

ابتدا محل زخم بیماران با سرم فیزیولوژی شستشو و سپس به وسیله یک سواب استریل، نمونه‌گیری به عمل آمد. سواب‌ها داخل محیط استوارت انتقال یافتند و بر روی محیط‌های سیتیماید آگار و مک کانکی آگار کشت داده شدند. محیط‌های کشت در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس کلنی‌های مشکوک از نظر رنگ، تولید پیگمان، بوی محیط کشت و لام مستقیم بررسی شدند. برای تشخیص قطعی از تست‌های بیوشیمیایی شامل تست اکسیداز، تخمیر قند، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

شناسایی بتالاکتامازهای وسیع الطیف

برای شناسایی باکتری‌های حاوی ESBL از روش Combined Test با توجه به دستورالعمل CLSI استفاده شد. بر روی محیط مولر هینتون آگار دیسک سفنازیدیم را به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفنازیدیم/کلاوونیک اسید، دیسک سفنوتاکسیم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفنوتاکسیم/کلاوونیک اسید و دیسک سفنودوکسیم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفنودوکسیم/کلاوونیک اسید (MAST انگلیس) قرار دادیم. ایزوله‌هایی که قطر هاله ممانعت از رشد دیسک سفالوسپورین همراه کلاوونیک اسید نسبت به دیسک سفالوسپورین فاقد کلاوونیک اسید بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر داشتند؛ به عنوان باکتری‌های تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شدند. از کلبسیلا پنومونیه ATCC700603 حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع به عنوان سوش کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین متالوبتالاکتاماز (MBL)

ابتدا نمونه‌هایی که حداقل غلظت مهارکننده از رشد (MIC) آنها نسبت به داروهای ایمی‌پنم و مروپنم بیشتر یا مساوی ۳۲ میکروگرم و نسبت به داروی سفنازیدیم بیشتر یا مساوی ۶۴ میکروگرم بود؛ برای تعیین متالوبتالاکتاماز (MBL)

انتخاب شدند. سپس از نوآرهای E-test MBL برای تشخیص متالوبتالاکتاماز طبق دستورالعمل شرکت سوئدی AB BIODISK استفاده شد. در تفسیر Etest MBL اگر نسبت IP MIC به IPI بزرگ تر یا مساوی ۸ شود؛ بیانگر تولید متالوبتالاکتاماز است.

روش عصاره گیری

گیاه چای خریداری و توسط گیاه‌شناس نام علمی آن (*Camellia Sinensis L.*) (هرباریوم L48I-8732) تایید گردید. عصاره آن به روش خیساندن تهیه شد. ۲۰ گرم پودر گیاه را با متانول به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار دادیم و سپس صاف نموده و در حرارت آزمایشگاه قرار دادیم تا خشک شود و تا زمان انجام آزمایشات در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری نمودیم.

تهیه سوش‌های استاندارد

سوش کلبسیلا پنومونیه حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع (ATCC700603) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و سوش‌های پseudomonas آئروژینوزا 8821M، ATCC27853 و PAO1 از بخش میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد آنتی‌بیوتیک‌ها

حساسیت ۱۲۰ ایزوله pseudomonas آئروژینوزا براساس حداقل غلظت مهارکننده از رشد با استفاده از روش رقت در آگار تعیین گردید. سپس نیم مک فارلند و محیط‌های مولر هیتون آگار (شرکت مرک) که حاوی مقدار مشخصی آنتی‌بیوتیکی ایمپی‌پنم، مروپنم، آزترونام، سفوتاکسیم و سفتازیدیم (GLAXO England Co) بودند؛ تهیه شد. در مرحله بعد با استفاده از دستگاه Hand inoculators (شرکت MAST) عمل تلقیح حدود ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری بر روی محیط‌های کشت مولر هیتون آگار حاوی رقت‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی انجام گردید. بعد از ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، پلیت‌ها بررسی شدند. از pseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 به عنوان کنترل استفاده شد. باکتری‌هایی که MIC $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ برای ایمپی‌پنم و مروپنم، MIC $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ برای سفتازیدیم و آزترونام و MIC $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ برای سفوتاکسیم داشتند؛ به عنوان ایزوله‌های

مقاوم در نظر گرفته شدند.

تعیین کمترین غلظت بازدارنده از رشد گیاهان

ابتدا عصاره چای سبز و سیاه در DMSO حل گردید. سپس مقدار مشخصی از محلول‌های تهیه شده به محیط‌های مولر هیتون آگار اضافه گردید. غلظت حاصله به ترتیب ۰/۰۷۸، ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. بعد از مخلوط کردن کامل، محیط‌های حاوی هر یک از عصاره‌ها در داخل پلیت‌های استریل توزیع شدند. برای انجام MIC ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (معادل نیم مک فارلند) به پلیت‌های حاوی عصاره اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس نتایج مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت بعد از اثر هر دو عصاره بر روی سوش‌های استاندارد، اثر عصاره‌ها بر روی باکتری‌های ایزوله شده از بیماران مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نوع مطالعه توصیفی - تجربی - کاربردی، برای تجزیه و تحلیل آماری از برنامه MINITAB13 استفاده گردید.

یافته‌ها

از تعداد کل ۲۴۵ بیمار مورد مطالعه، ۱۲۰ نمونه آلوده به pseudomonas آئروژینوزا جدا گردید. ۷۷ ایزوله (۶۴ درصد) مربوط به مردان و ۴۳ ایزوله (۳۴ درصد) مربوط به زنان بود. بیشتر بیماران آلوده به pseudomonas آئروژینوزا در سنین بین ۱۱ تا ۲۰ سالگی قرار داشتند (جدول یک).

سویه‌های بالینی pseudomonas آئروژینوزا بیشترین مقاومت را در مقابل سفتازیدیم و سفوتاکسیم از خود نشان دادند و بیشترین میزان حساسیت نیز در مورد ایمپی‌پنم و مروپنم مشاهده گردید (جدول ۲).

از مجموع ۱۲۰ ایزوله، ۴۱ ایزوله (۳۴ درصد) به عنوان باکتری‌های تولیدکننده ESBL شناسایی شدند.

ایزوله‌هایی که قطر هاله ممانعت از رشد دیسک سفالوسپورین همراه کلونیک اسید نسبت به دیسک سفالوسپورین فاقد کلونیک اسید بیشتر یا مساوی ۵ میلی متر داشتند؛ به عنوان باکتری‌های تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شدند.

از مجموع ۱۲۰ ایزوله، هیچ کدام از نمونه‌ها متالوبتالاکتاماز

جدول ۱: توزیع فراوانی بیماران دچار سوختگی بر حسب سن و درصد سوختگی

کل	تعداد (درصد)			سن (سال)		
	پیش از ۴۰	۳۱-۴۰	۲۱-۳۰	۱۱-۲۰	۱-۱۰	۱-۳۰
۶۹ (۵۷)	۸ (۵۷)	۴ (۲۵)	۲۱ (۵۸)	۲۹ (۷۱)	۷ (۵۴)	۱-۳۰
۱۹ (۱۶)	۴ (۲۹)	۴ (۲۵)	۵ (۱۴)	۳ (۷)	۳ (۲۳)	درصد سوختگی
۷ (۶)	۱ (۷)	۳ (۱۹)	۱ (۳)	۲ (۵)	۰ (۰)	۴۱-۵۰
۲۵ (۲۱)	۱ (۷)	۵ (۳۱)	۹ (۲۵)	۷ (۱۷)	۳ (۲۳)	بیش از ۵۰
۱۲۰ (۱۰۰)	۱۴ (۱۰۰)	۱۶ (۱۰۰)	۳۶ (۱۰۰)	۴۱ (۱۰۰)	۱۳ (۱۰۰)	کل

جدول ۲: فراوانی حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC)

آنتی بیوتیک	کمتر از ۲	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	تعداد (درصد)	
								۱۲۸	۲۵۶
ایمی پنم	۷۳ (۶۰/۸)	۸ (۶/۶)	۱۵ (۱۲/۵)	۲۱ (۱۷/۵)	۱ (۰/۸۳)	۱ (۰/۸۳)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۰/۸۳)
مروپنم	۶۹ (۵۷/۵)	۴ (۳/۳)	۱۴ (۱۱/۶)	۲۷ (۲۲/۵)	۲ (۱/۶)	۲ (۱/۶)	۱ (۰/۸۳)	۰ (۰)	۱ (۰/۸۳)
آزترونام	۳۸ (۳۱/۶)	۱ (۱/۶)	۰ (۰)	۱۵ (۱۲/۵)	۱۶ (۱۳/۳)	۲۳ (۱۹)	۲۲ (۱۸/۳)	۳ (۲/۵)	۲ (۱/۶)
سفتازیدیم	۵ (۴/۱)	۱۸ (۱۵)	۴ (۳/۳)	۷ (۵/۸)	۷ (۵/۸)	۷ (۵/۸)	۱۳ (۱۰/۸)	۴۱ (۳۴/۱)	۱۸ (۱۵)
سفتو تاکسیم	۳ (۲/۵)	۱۱ (۹/۱)	۲ (۱/۶)	۴ (۳/۳)	۱۰ (۸/۳)	۱۸ (۱۵)	۱۹ (۱۵/۸)	۴۶ (۳۸/۳)	۷ (۵/۸)

جدول ۳: فراوانی حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) نمونه پseudomonas آئروژینوزا

عصاره	متانولی جای	حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (میکروگرم بر میلی لیتر) / تعداد (درصد)					
		۰/۰۷۸	۰/۱۵۶	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵	۱/۲۵	۲/۵
سبز	۳ (۷/۳۱)	۵ (۱۲/۱۹)	۳ (۷/۳۱)	۴ (۹/۷)	۲۶ (۶۳/۴۱)	۰ (۰)	
سیاه	۴ (۹/۷)	۵ (۱۲/۱۹)	۳ (۷/۳۱)	۵ (۱۲/۱۹)	۱۷ (۴۱/۴۶)	۷ (۱۷/۰۷)	

نداشتند. برای این منظور از نوارهای E-test MBL استفاده گردید.

از بین عصاره های متانولی، عصاره چای سبز در غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد تمام سویه های استاندارد و نمونه های بالینی pseudomonas آئروژینوزای حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع جلوگیری نمود. عصاره متانولی چای سیاه در غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر قادر به مهار رشد سویه های استاندارد و ۸۲/۹۳ درصد از نمونه های بالینی pseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع شد.

بحث

در این مطالعه ۱۲۰ نمونه آلوده به pseudomonas آئروژینوزا جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های سفتازیدیم ۶۶ درصد، آزترونام ۴۲ درصد، سفتو تاکسیم ۶۰ درصد، مروپنم ۵ درصد و ایمی پنم ۳ درصد مقاوم بودند. مطالعات مختلف (۱۱-۱۳) شیوع بالای مقاومت را در ایران و کشورهای دیگر نشان می دهد. در تحقیقی که شاهچراغی و همکاران در بخش سوختگی بیمارستان مطهری و توحید تهران انجام دادند؛ pseudomonas آئروژینوزا به داروهای سفتازیدیم (۹۶ درصد)،

کاناماسین (۹۶ درصد)، جنتاماسین (۹۳/۷ درصد)، آمیکاسین (۹۳/۴ درصد)، تتراسیکلین (۹۱ درصد) و سپیروفلوکساسین (۸۶/۷ درصد) مقاوم بود (۱۴). در مطالعه Japoni و همکاران در شیراز روی ایزوله های pseudomonas آئروژینوزا جدا شده از بخش سوختگی؛ از ۱۷۰ ایزوله ۳ نمونه دارای ESBL بودند و هیچ کدام از نمونه ها MBL نداشتند (۱۵). در مطالعه Moubareck و همکاران تمام نمونه های ESBL مثبت مقاوم به سفتازیدیم بودند (۱۶). در مطالعه خلجی و همکاران در تهران، توان آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز در مقایسه با عصاره چای سیاه به طرز معنی داری بالاتر گزارش شد. به طوری که افزودن ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره چای سبز به دیسک های استاندارد آنتی بیوگرام به آمپی سیلین به طور وابسته به دوز، اثر سینرژستیک داشت و باعث مهار رشد باکتری استرپتوکوکوس پیورنز شد (۱۷). در مطالعه نیستانی و همکاران در تهران، عصاره های چای سبز و چای سیاه به طور انتخابی و وابسته به دوز روی آنتی بیوتیک ها اثر هم افزاینده یا مهاری داشتند. توان آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز در مقایسه با عصاره چای سیاه به طور معنی داری بالاتر بود (۱۸). در

فراکشن‌ها و اسانس‌های آنها نیز استفاده شود. برای اثبات نهایی اثر عصاره‌های فوق بهتر است این کار در *In vivo* نیز انجام پذیرد. در ضمن بهتر است در آینده باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز در آزمایشگاه بیمارستان‌ها شناسایی شده تا داروی مناسب توسط پزشکان تجویز گردد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که عصاره متانولی چای سبز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر سفوتاکسیم و سفتازیدیم دارای اثرات ضدباکتریایی بهتری در برابر پseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز می‌باشد. انجام مطالعات تکمیلی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بخشی از این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۸۶/۷۳) معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان بود. بدین وسیله از آن معاونت محترم به خاطر حمایت مالی و از بخش میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و کارکنان بخش سوختگی بیمارستان شفاء کرمان به خاطر همکاری در نمونه‌گیری قدردانی می‌شود. همچنین از خانم‌ها دکتر شاهچراغی، دکتر مبین و دکتر منصوری به دلیل اهدای سوش‌های استاندارد کمال تشکر و سپاس خود را اعلام می‌داریم.

References

1. Tredget EE, Shankowsky HA, Rennie R, Burrell RE, Logsetty S. Pseudomonas infections in the thermally injured patient. *Burns*. 2004 Feb;30(1):3-26.
2. Misaghi A, Akhondzadeh Basti A. Effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control*. 2007 Sep; 18(9): 1043-9.
3. Villegas MV, Lolans K, del Rosario Olivera M, Suarez CJ, Correa A, Queenan AM, et al. Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First detection of metallo-beta-lactamase VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jan;50(1):226-9.
4. Pasteran F, Faccone D, Petroni A, Rapoport M, Galas M, Vázquez M, et al. Novel variant (bla(VIM-11)) of the metallo-β-lactamase bla(VIM) family in a GES-1 extended-spectrum-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jan; 49(1):474-5.
5. Villegas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T,

مطالعه شعاع‌حسنی و همکاران در تهران، اثر ممانعت‌کنندگی از تشکیل بیوفیلم در چای سیاه بیشتر از چای سبز بود (۸). در مطالعه قائمی و همکاران عصاره چای سبز و سیاه در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی روی هلیکوباکتر پیلوری داشت (۱۹). در مطالعه Mihalik و همکاران در آمریکا، عصاره چای سبز اثر مهارکنندگی بر تشکیل Quorum Sensing پseudomonas آئروژینوزا داشت (۲۰). باکتری‌های حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع در مطالعه حاضر نسبت به شیراز (۱۵) بیشتر، ولی نسبت به شهر تهران (۲۱) و تبریز (۲۲) کمتر می‌باشد که علل آن می‌تواند به عامل جغرافیایی، نحوه تجویز آنتی‌بیوتیک توسط پزشکان و مدت زمان بستری بیماران در بیمارستان اشاره کرد.

مطالعه حاضر نشان داد که یکی از علل بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران بخش سوختگی، باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز با طیف وسیع می‌باشد و این آنزیم‌ها باعث مقاومت باکتری‌ها به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ویژه سفالوسپورین‌های نسل سوم می‌شوند. عصاره متانولی چای سبز و سیاه در مقایسه با داروها اثر نسبتاً بهتری بر روی سویه‌های استاندارد و نمونه‌های بالینی پseudomonas آئروژینوزا حاوی بتالاکتاماز داشت. چرا که عصاره‌های متانولی چای در غلظت کمتری نسبت به داروها قادر به مهار رشد باکتری‌ها بودند.

پیشنهاد می‌شود علاوه بر عصاره متانولی چای سبز، از سایر

Quinn JP. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004 Jul;49(3):217-22.

6. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Sep; 50(9):2990-5.

7. Altöparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns*. 2005 Sep;31(6):707-10.

8. Shoa Hassani AR, Ordouzadeh N, Ghaemi A, Nazari R, Hamdi K, Hekmatpou D. [Comparing black and green tea (*Camellia Sinesis L*) extracts effects on the growth inhibition and biofilm formation of enterobacteriaceae]. *J Arak Univ Med Sci*. 2008; 11(2):64-73. [Article in Persian]

9. Rao PV, Goudu AS, Sasikala S, Naidu MD. Efficacy of antimicrobial activity of rhinacanthus nasutus (LINN) leaves in different extractions. IJPBS. 2010; 1(2): 1-4.
10. Silva NCC, Fernandes Júnior A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2010; 16(3): 402-13.
11. Jean SS, Hsueh PR. High burden of antimicrobial resistance in Asia. Int J Antimicrob Agents. 2011 Apr;37(4):291-5.
12. Kalantar E, Maleki A, Khosravi M, Mahmodi S. [Evaluation of ultrasound waves effect on antibiotic resistance pseudomonas aeruginosa and staphylococcus aureus isolated from hospital and their comparison with standard species]. Iran J Health Environ. 2010; 3(3): 319-26. [Article in Persian]
13. Tajbakhsh S, Mahmoodpour M, Haghghi MA. [Antibacterial activity of Avicennia marina leaves extract on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa]. ISMJ. 2005; 8(1):1-7. [Article in Persian]
14. Shahcheraghi F, Feizabadi MM, Yamin V, Abiri R, Abedian Z. Serovar determination, drug resistance patterns and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients at two hospitals of Tehran (IRAN). Burns. 2003 Sep;29(6):547-51.
15. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the South of Iran. Burns. 2006 May;32(3):343-7.
16. Moubareck C, Daoud Z, Hakimé NI, Hamzé M, Mangeney N, Matta H, et al. Doucet-Populaire F. Countrywide spread of community- and hospital-acquired extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15)-producing Enterobacteriaceae in Lebanon. J Clin Microbiol. 2005 Jul;43(7):3309-13.
17. Khalaji N, Neyestani Tirang R. [The inhibitory effects of black and green teas (*Camellia Sinesis*) on growth of pathogenic escherichia coli in vitro]. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2007; 1(3):33-38. [Article in Persian]
18. Neyestani TR, Khalaji N, Gharavi A Black and green teas may have selective synergistic or antagonistic effects on certain antibiotics against Streptococcus pyogenes in vitro. J Nutr Environ Med. 2007;16(3-4):258-66. [Article in Persian]
19. Ghaemi A, Mohammadi I, Shoaie Hassani A, Hamdi K, Ordouzadeh N. [Inhibitory effect of green and black teas ethyl acetate extracts on helicobacter pylori the causative agent of peptic ulcers]. JQUMS. 2010, 13(4):12-18. [Article in Persian]
20. Mihalik K, Chung DW, Crixell SH, McLean RJC, Vattam D. A Quorum sensing modulators of Pseudomonas aeruginosa characterized in Camellia sinensis. AJTM. 2008;3(1):12-23.
21. Feizabadi MM, Mahamadi-Yeganeh S, Mirsalehian A, Mirafshar SM, Mahboobi M, Nili F, et al. Genetic characterization of ESBL producing strains of Klebsiella pneumoniae from Tehran hospitals. J Infect Dev Ctries. 2010 Oct;4(10):609-15.
22. Pornour M, Nahaei MR, Mobayen H, Mobasher AR. [Molecular Study of TEM Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes in Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae Isolates]. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2010;32(2): 30-4. [Article in Persian]

Archive

Short Communication

Antibacterial effect of Methanolic extract of *Camellia Sinensis L.* on *Pseudomonas aeruginosa* strains producing β -lactamases

Hashemi A (MSc)*¹, Shams S (MSc)², Kalantar D (MSc)³
Taherpour A (MSc)¹, Barati M (MSc)⁴

¹PhD candidate in Medical Bacteriology, Shahid-beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
²Microbiologist, Department of Microbiology, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. ³PhD Candidate in Medical Bacteriology, Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ⁴PhD Candidate in Medical Parasitology, Department of Parasitology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the important causes of nosocomial infections. Extended spectrum-beta Lactamases (ESBLs) and Metallo-beta Lactamase (MBL) producing strains have become resistant against a wide range of antibiotics. The aim of this study was to determine the effect of Methanol extract of *Camellia Sinensis* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL isolated from burnt wounds of patients.

Materials and Methods: This descriptive study was done on burnt wounds of 245 hospitalized patients in Shafa hospital, Kerman, Iran during 2006-07. ESBLs producing strains were detected by phenotypic confirmatory test and also E-test strips were used for MBL detection. *P.aeruginosa* MIC was determined for Cefotaxime, Ceftazidime, Azteronam, Imipenem, Meropenem and methanol extracts of plant *Camellia Sinensis* prepared by Maceration method.

Results: 120 of burnt wound infected with *P.aeruginosa*, out of them 41 isolates contained ESBL while lacked MBL. 60% of isolates were resistant to Cefotaxime, 66% to Ceftazidime, 42% to Azteronam, 3% to Imipenem and 5% to Meropenem. Among the extracts, green Tea had the highest antibacterial effect on standard strains and *P.aeruginosa* producing ESBLs in 1.25mg/ml concentration.

Conclusion: This study showed that methanolic extract of green tea has higher antibacterial effect against β -lactamase *P.aeruginosa* strains than Cefotaxime and Ceftazidime.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, ESBL, Antibiotic Resistance, *Camellia Sinensis*

* Corresponding Author: Hashemi A (MSc), E-mail: hashemi1388@yahoo.com

Received 23 November 2010

Revised 9 April 2011

Accepted 20 April 2011