اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ روی اسینتوباکتربومانی در شرایط آزمایشگاهی

محمود قاسمی[۱]، رضا حبیبی [۲]، مصطفی صدیقی [۳]، مازیار وکیلی امینی [۴]، شهرام باقرآبادی[۵]*

۱. استادیار، گروه اطفال، فوق تخصص غدد و متابولیک کودکان، بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۲. استادیار، گروه اطفال، فوق تخصص بیماری های عفونی اطفال، بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۳. استادیار، گروه اطفال، فوق تخصص مغز و اعصاب اطفال، بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۴. استادیار، گروه اطفال، فوق تخصص نوزادان، بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۵. کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی، بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** : کرمانشاه. چهارراه هلال احمر. بیمارستان دکتر محمد کرمانشاهی، تلفن: ۰۹۳۳۱۸۸۰۶۹۹، sh_bagherabadi@yahoo.com

دریافت مقاله : مرداد نود و شش پذیرش برای چاپ: مهر نود و شش

چکیده

سابقه و هدف: *اسینتوباکتر بائومانی پاتوژن فرصت طلب و عامل عفونت بیمارستانی، مشکلات بسیاری از نظر عدم موفقیت درمان و بروز مرگ و میر در بیماران به علت بروز مقاومت آنتی بیوتیکی ایجاد کرده است. در طب سنتی ایران و مناطق مختلف جهان گیاه شنگ بواسطه داشتن اثرات درمانی متعدد همواره مورد استفاده بوده است. هدف این مطالعه تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ روی اسینتوباکتر بائومانی در شرایط آزمایشگاهی می باشد.*

روش کار: *در این مطالعه تجربی، گیاه شنگ در فصل بهار جمع آوری و پس از تایید در سایه و دور از نور خورشید خشک گردید. عصاره گیری به روش خیساندن انجام و عصاره های آبی و الکلی حاصل با غلظت های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر تهیه و تا زمان انجام کار در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سویه استاندارد اسینتوباکتر بائومانی در این غلظت ها به روش انتشار دیسک تعیین حساسیت شد. قطر هاله عدم رشد اندازه گیری و ثبت گردید.*

یافته ها: *در این مطالعه عصاره آبی گیاه شنگ در بیشترین غلظت (۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) هاله عدم رشد به قطر ۲ میلی متر ایجاد نمود ولی عصاره الکلی هیچ گونه هاله عدم رشد ایجاد نکرد.*

نتیجه گیری: *با توجه به اثر مهاری رشد بسیار ضعیف عصاره آبی و بی تاثیری عصاره الکلی می توان گفت گیاه شنگ فاقد اثر ضدباکتریایی موثر بر علیه اسینتوباکتربائومانی می باشد.*

واژگان کلیدی: عصاره هیدروالکلی، شنگ (Tragopogon graminifolius DC)، اسینتوباکتربائومانی

مقدمه

اسینتوباکتر بائومانی متعلق به خانواده *Moraxellaceae*، کوکوباسیل گرم منفی، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، هوازی، غیر تخمیری و پاتوژنی فرصت طلب بوده و ویرولانس کمی دارد ولی در طی دهه گذشته عفونت های بیمارستانی ناشی از آن در حال افزایش بوده است. اهمیت حضور این باکتری به ویژه در بیماران بستری و بخش های مراقبتی ویژه سوختگی و جراحی است و از طریق تجهیزات مرتبط با دستگاه های تنفسی و کاتترهای آلوده باعث دامنه وسیعی از عفونت ها می شود(۴-۱). این باکتری بعنوان یکی از میکروارگانیسم های عامل عفونت بیمارستانی مشکلات بسیاری از نظر عدم موفقیت درمان و بروز مرگ و میر در بیماران به علت بروز مقاومت آنتی بیوتیکی ایجاد کرده است(۵).

این باکتری از منابع مختلفی نظیر خاک، آب، حیوانات و انسان جدا شده است. در برابر شرایط محیطی مقاومت بالایی از خود نشان می دهد به نحوی که در مدت ۱۱ روز در رطوبت نسبی ۳۱ درصد و ۴ روز در رطوبت نسبی ۱۰ درصد زنده می ماند، همچنین باکتری در ترشحات انسانی مثل خلط ، ادرار، مدفوع و ترشحات واژن یافت شده به شکلی که در ۲۵ درصد افراد باکتری در سطح پوست و ۷ درصد نوزادان و بزرگسالان باکتری را ناحیه فارنژیال دارند(۶و۷). یکی از مشکلات امروزه بشر در درمان عفونت های باکتریایی و جود پدیده مقاومت به آنتی بیوتیک هاست و اسینتو باکتر بائومانی نیز از این نظر مستثنی نیست.

بر اساس گزارش مرکز کنترل و مدیریت بیماری های امریکا، بروز مقاومت اسینتوباکتر به کارباپنم ها در این باکتری از ۹ درصد در سال ۱۹۹۵ به ۴۰ درصد در سال ۲۰۰۴ رسیده است و توانایی انتقال این مقاومت به سایر باکتری های پاتوژن را هم دارند که بیانگر افزایش روزافزون خطر عفونت های ناشی از این باکتری است(۱۱-۸). یکی از راه های مقابله با پدیده مقاومت آنتی بیوتیکی استفاده از داروهای گیاهی به جای آنتی بیوتیک ها است. گونه های مختلف جنس *Tragopogon* در مناطق مختلف جهان به عنوان دارویی برای درمان سرفه، ترمیم پوست و اختلالات زخم های ایجاد شده در سیستم گوارشی استفاده می شوند(۱۲،۱۳). در ایران گیاه شنگ (*Tragopogon graminifolius DC*) از دیرباز تاکنون در طب سنتی مناطق بختیاری، لرستان، کرمانشاه (دامنه زاگرس) به عنوان یک التیام دهنده زخم برای جراحات ایجاد شده در دام ها مانند گوسفند و بز استفاده می شود. گیاه شنگ از خانواده *Asteraceae* بوده و در ارتفاعات ۱۴۰۰ متری مناطق زاگرس رشد می کند و دارای فرم رویشی علفی چند ساله می باشد که عموما از برگ های این گیاه استفاده می شود(۱۴). رویشگاه این گیاه مناطق مرطوب و معتدل در علفزارها، چمنزارها و زمین های کشاورزی غرب کشور می باشد. ریشه شنگ دوکی شکل، سفید مایل به زرد و برگ های آن نواری دراز می باشد. مهمترین ترکیبات شیمیایی این گیاه شامل اینولین، ترکیبات فنولی همچون کافئیک، گالیک، کوماریک، فرولیک و کاتکین و ترکیباتی نظیر فلاونوئیدهای آپیژنین، ایز وویتکسین، لوسنین-۱، لوتئولین، اورینتین، ایزواورینتین، لوسنتنین، ویتکسین، ویسنین-۲، ویسنین -۲، کوئرستین وساپونین های تریترپنوئیدی است. شنگ از نظر طبع سرد و خشک است و از جمله خواص آن قابض کنندگی است، خونریزی را بند می آورد و اسهال خونی و اسهال صفراوی را نیز قطع می کند. عصاره آن مقوی معده و آشامیدن عصاره آن با سرکه رقیق برای جلوگیری از خون ریزی رحم مفید است. ضماد آن مقوی اعصاب ضعیف و دهانه معده و کبد است. برخی دیگر از خصوصیات درمانی شنگ شامل اثر ریشه آن در بند آوردن چرک گوش و خشک کردن آن، بند آوردن خونریزی زخم سینه، التیام زخم معده، رفع کم اشتهایی، رفع احساس سوزش مری و معده می باشد(۱۸-۱۵). با توجه به اهمیت بیماریزایی باکتری اسینتوباکتر بائومانی و توانایی آن در بروز و انتقال مقاومت به تعداد زیادی از داروهای ضدمیکروبی و نیاز روز افزون به داروهای جایگزین، هدف این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ بر علیه باکتری اسینتوباکتر بائومانی می باشد.

روش کار

گیاه شنگ در فصل بهار جمع آوری و پس از شناسایی نهایی در سایه و به دور از نور خورشید خشک گردید. ابتدا برای تهیه عصاره آبی ۱۲۵ گرم از برگ آسیاب شده را با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در یک بشر ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و مخلوط حاصل با یک میله شیشه ای به هم زده شد. عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد و عصاره حاصل جهت صاف شدن و حذف ذرات زائد با فیلترهای ۴۵صدم میکرون (میلی پور، آلمان) فیلتر شد و عصاره حاصل با رقت های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر تهیه و تا زمان انجام کار در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. عصاره گیری سه بار انجام شد و میانگین نتایج ثبت گردید.برای تهیه عصاره الکلی (اتانولی) ۱۲۵ گرم از برگ آسیاب شده را در یک بشر ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد به آن اضافه گردید و مخلوط حاصل با یک میله شیشه ای به هم زده شد. عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد و عصاره حاصل جهت صاف شدن و حذف ذرات اضافی با فیلترهای ۴۵صدم میکرون (میلی پور، آلمان) فیلتر شده و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) تغلیظ گردید و در نهایت عصاره حاصل با رقت های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر تهیه و تا زمان انجام کار در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. عصاره گیری سه بار انجام شد و میانگین نتایج ثبت گردید. سویه باکتری استاندارد مورد استفاده اسینتوباکتر بائومانی (ATCC:19606) بود. حساسیت باکتری به عصاره ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و براساس استاندارد (CLSI, 2014) تعیین شد(۱۹). در روش دیسک دیفیوژن دیسک های کاغذی ۶ میلی متری (پادتن طب، ایران) با غلظت های مختلف عصاره ها آغشته شدند و به منظور تبخیر حلال همراه عصاره، دیسک ها مدتی در محیط استریل نگهداری شدند، پس از کشت سویه استاندارد اسینتوباکتر بائومانی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار با غلظت نیم مک فارلند دیسک‌های حاوی عصاره با فواصل منظم از یکدیگر روی سطح محیط قرار داده شدند. دیسک های کنترل منفی که فقط آغشته به حلال(آب یا اتانول) بودند نیز به طریق مشابه استفاده شدند. محیط های دیسک گذاری شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند، سپس پلیت ها خارج و قطر هاله عدم رشد اندازه گیری گردید. آزمایش سه بار برای هر رقت تکرار شد و میانگین نتایج حاصله ثبت گردید. همچنین از دیسک حاوی ۱۰ میکروگرم کولیستین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد(۲۰).

یافته ها

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد باکتری عصاره آبی گیاه شنگ بر روی باکتری اسینتوباکتر بائومانی به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱ ارائه شده است. عصاره الکلی گیاه شنگ روی باکتری اسینتوباکتر بائومانی به روش دیسک دیفیوژن هیچ گونه اثری مهاری از خود نشان نداد

جدول ۱) اثر ضد باکتری عصاره آبی گیاه شنگ بر روی باکتری اسینتوباکتر بائومانی به روش دیسک دیفیوژن

غلظت عصاره (میلی گرم در میلی لیتر)	حجم های مورد استفاده عصاره (میکرولیتر) و قطر هاله ممانعت از رشد (میلی متر)					
	۵	۱۰	۲۰	۵۰	۱۰۰	شاهد (آب)	کولیستین
۶/۲۵	-	-	-	-	-	-	S**
۱۲/۵	-	-	-	-	-	-	
۲۵	-	-	-	-	-	-	
۵۰	-	-	-	-	-	-	
۱۰۰	-	-	-	-	*۲	-	

*قطر هاله عدم رشد برحسب میلی متر ** S= Sensitive

بحث

گیاهان همواره در طول تاریخ نقش بسزایی در زندگی بشر داشته اند و نه تنها تامین کننده بخشی از غذای انسان ها بوده بلکه در درمان بیماری های مختلف نیز استفاده قرار گرفته اند. در حال حاضر با توجه به افزایش روز افزون مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها، نیاز به منابع دارویی جایگزین به خصوص در بیماران دچار ضعف ایمنی یا بیماری های مزمن و زمینه ای بیش از پیش احساس می شود. از این نظر با توجه به ویژگی داروهای گیاهی از نظر عوارض جانبی کمتر و اثرگزاری بهتر در مقایسه با داروهای سنتتیک و نقش تغذیه ای شنگ و خواص درمانی ذکر شده آن در طب سنتی، توجه محققین به داروهای گیاهی بیشتر معطوف شده است. از اینرو در این مطالعه به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ در شرایط برون تنی بر روی باکتری اسینتوباکتر بائومانی پرداختیم. در این پژوهش غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه شنگ در روش دیسک دیفیوژن هیچ گونه اثر مهاری بر روی رشد باکتری اسینتوباکتر بائومانی از خود نشان ندادند. هاله عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره آبی گیاه شنگ بر روی اسینتوباکتر بائومانی در روش دیسک دیفیوژن در بیشترین حجم عصاره بکار رفته (با غلظت نهایی ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) تنها ۲ میلی قطر داشت و به اندازه ای نبود که بتوان در ادامه کار حداقل غلظت مهار کننده رشد (Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشنده باکتری (Minimum Bactericidal Concentration) را تعیین نمود. مطالعات متعددی در جهت بررسی اثرات گوناگون عصاره های گیاه شنگ صورت گرفته است.اثر حفاظتی شنگ (Tragopon graminifolius DC) در برابر اولسر ایجاد شده بوسیله اتانول در معده موش صحرایی در سال ۲۰۱۳ توسط فرضایی و همکاران به اثبات رسید(۱۷). در مطالعه طالعی و همکاران اثر عصاره گیاه شنگ (Tragopon carcifolus) بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بررسی هیچ گونه اثر ضد باکتریایی گیاه شنگ را نشان ندادند(۲۱). در نتایج حاصل از مطالعه مشهدی و همکاران با عنوان اثرات مهاری عصاره های گیاهی نظیر گیاه شنگ بر تشکیل بیوفیلم توسط سودوموناس آئروژینوزا، عصاره گیاه شنگ (Tragopon graminifolius DC) در غلظت های ۱/۵، ۳/۱، ۶/۲۵ و ۱۲/۵ ppm موجب کاهش سرعت تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا شد(۲۲). جهانی و همکاران در پژوهش بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره های گیاهی بر روی سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیا کولی، ppm ۲۵ بعنوان حداقل غلظت عصاره شنگ (Tragopon pratensis) مهار کننده رشد و حداقل غلظت کشندگی باکتریایی بر علیه سودوموناس آئروژینوزا تعیین شد(۲۳).

یافته ها

Mroueh و همکاران در سال ۲۰۱۱ در تحقیق بررسی اثر آنتی اکسیدانی و محافظ کبدی عصاره متانولی گیاه شنگ (*Tragopogon porrifolius*)، اثر آنتی اکسیدانی این گیاه را در شرایط برون تنی نشان دادند(۲۴). Pal و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه ای به این نتیجه رسیدند که عمده ترین ترکیبات فنلی گیاه شنگ شامل گالیک اسید، کاتچین، اسیدکافئیک و اسیدفرولیک می باشد و گالیک اسید موجود در گیاه نقش محافظتی در برابر اولسر القاء شده توسط ایندومتاسین و دیکلوفناک در معده موش صحرایی دارد(۲۵).

نتیجه گیری

مقاومت بالای اسینتوباکتر بومانی نسبت به تعداد زیادی از آنتی بیوتیک ها، عوامل ضد عفونی کننده و اهمیت این باکتری در عفونت های بیمارستانی و سوختگی ها، اهمیت شناسایی و تهیه داروهای درمانی موثر و بی خطر را یادآوری می کند. این مطالعه در جهت شناسایی اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدوالکلی گیاه شنگ (*Tragopon graminifolius DC*) برروی رشد باکتری اسینتوباکتر بائومانی بود و نتایج بدست آمده در این پژوهش بیانگر عدم وجود اثر ضدباکتریایی موثر عصاره هیدوالکلی گیاه شنگ برروی رشد باکتری اسینتوباکتر بائومانی بودند.

REFERENCES

1. Chittawatanarat K, Jaipakdee W, Chotirosniramit N, et al.Microbiology, resistance patterns, and risk factors of mortality inventilator-associated bacterial pneumonia in a Northern Thaitertiary-care university based general surgical intensive care unit.*Infect Drug Resist* 2014;7:203e10.
2. Babay H , Kambal A, Al-Anazy A, Saidu A,Aziz Sh. *Acinetobacter* Blood Stream Infection in a Teaching Hospital - Riyadh,Saudi Arabia. *Kuwait Med J* 2003; 35(3): 196-201.
3. Hsueh P, Teng L, Chen CH , Chen W, Yu Ch, Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(8):827-831.
4. Manchanda V, Sanchaita S, Singh N.Multidrug Resistant Acinetobacter. *JGlob Infect Dis* 2010; 2**:** 291-304.
5.Curtis LT. Prevention of hospital-acquired infections: review of non-pharmacological interventions. *J Hosp Infect*. 2008; 69: 204-19.
6. Allen DM, Hartman BJ. Acinetobacter species. In Mandell GL. Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Disease. Elsevier, *Churchill Livingstone*, USA. 6th ed. 2005; chapter 219 , pp. 2632-5.
7. Nhu NT, Lan NP, Campbell JI, et al. Emergence of carbapenemresistant *Acinetobacter baumannii* as the major cause ofventilator-associated pneumonia in intensive care unit patients atan infectious disease hospital in southern Vietnam. *J Med Microbiol* 2014;63(10):1386e94.
8. Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K**.** VEB-1 Extended-Spectrum β-Lactamase–producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infec Dis* 2006; 12(8): 1214-1220.
9. Einas Awad Ibrahim Osman, Nagwa El Mustafa El Amin. High prevalence of multidrug resistant *Acinetobacter* species in Khartoum Intensive Care Units (ICUs). *American Journal of Research Communication* 2015; 3(2): 35-42.
10. Carey RB, Banerjee SN, Srinivasan A. Multidrug-resistant Acinetobacter infections, 1995-2004. Presented at the 46th Inter science Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, September. 2006: 27–30.
11. Urban C, Maurer-Segal, Rahal JJ. Considerations in control and transmission of nosocomial infections due to multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 2003;36:1268-74.

12. Guarrera MP. Food medicine and minornourishment in the folk traditions of CentralItaly. *Fitoterapia* 2003; 74:515-44.
13. Singh KN, Brij Lal. Ethno-medicines used by tribal communities against four common ailments in Lahaul-Spiti, western Himalaya. *Journal of Ethnopharmacology* 2008; 115: 147- 159.
14. Heidari M, Malekmoohamadi L. Medicinal plants in Ghasemloo valley of Uro mieh. Iran *J Med Arom Plants* 2007; 3;14-20. [persian]
15. Zargari A. Herbal Medicine. 5th Edition. *Tehran University Publications*, Tehran; 1992; 249-54. [persian]
16. Farzaei MH, Rahimi R, Abbasabadi Z, Abdollahi M. "An evidence-based review on medicinal plants used for the treatment of peptic ulcer in traditional Iranian medicine, *Int J of Pharmacology*2013; 9(2): 108–124.
17. Farzaei MH, Khazaei M, Abasabadi Z, Feyzmahdavi M, Mohseni GR. "Protective effect of *Tragopogon graminifolius DC* against ethanol induced gastric ulcer in rat, *J of IRCM* 2013; 15(9): 813–816.
18. Farzaei MH, Khanavi M, Moghaddam G, Dolatshahi F, Rahimi R, Shams-Ardekani MR, Amin G, Hajimahmoodi M. Standardization of *Tragopogong graminifolius DC* Extracts based on phenolic compounds and antioxidant activity. *J Chem*. 2014; 425965.
19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 24th informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institue 2014;34:M100-S24.
20. Biswas S, Brunel J, Dubus J, Reynaud-Gaubert M, Rolain J. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2012;10(8):917-934.
21. Talei GR, Meshkatalsadat MH, Mosavi Z.Antibacterial Activity of Fumaria parviflora Lam, Allium haementhaides, Tragopon carcifolus, Buxus hyrecana pojark and two variant of Thymus native Lorestan. *J of GUMS* 2008;10(1):31-35. [persian]
22. Mashhady MA, Abkhoo J, Jahani S, Abyar S, Khosravani F. Inhibitory Effects of Plant Extracts on *Pseudomonas aeruginosa* BiofilmFormation. *Int J Infect*; 2016: In press (In press): e38199.
23. Jahani S, Saeidi S, Javadian F, Akbarizadeh Z, Sobhanizade A. Investigating the Antibacterial Effects of Plant Extracts on *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli. Int J Infect.* 2016; 3(2): e34081.
24. Mroueh M.C, Daher M.E, Sibai and C Tenkerian. Antioxidant and Hepatoprotective activity of *Tragopogon porrifolius* methanolic extract. *Planta Med* 2011:Vol 77.10.1055/s-0031-1282460.
25. Pal C.S, Bindu S. Dey .S, Alam A, Manish G and et al. Gallic acid prevents nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy in rat by blocking oxidative stress and apoptosis. *Free Radical Biol Med* 2010;49:258-267.