



## مقایسه اثرات ضد میکروبی چند نوع عصاره گیاهی همراه با سیلورسولفادiazین در درمان سوختگی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی

فرشته امیری: کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران  
رضا شاپوری: استادیار، دکتری باکتری شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

مهدی جعفرزاده: کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران (\*نویسنده مسئول) mahdijafarzadeh56@yahoo.com

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

عصاره،  
اسانس،  
سودوموناس آئروژینوزا،  
MIC  
MBC

**زمینه و هدف:** بیماری‌های عفونی از جمله مهم‌ترین بیماری‌های شایع در جهان می‌باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به سودوموناس آئروژینوزا اشاره کرد. در زخم‌های سوختگی، سودوموناس آئروژینوزا در درمان سوختگی‌ها به کار می‌رود، اما یکسری از مقاومت‌ها نسبت به آن ایجاد شده است که سبب شده که استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌ها مورد توجه قرار بگیرد. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه اثرات ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره گل همیشه بهار، اکالیپتوس، برگ گردو، عنب، روغن سقز همراه با سیلورسولفادiazین جهت ایجاد دارویی موثر در درمان سوختگی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

**روش کار:** عصاره‌های الکلی و استونی از برگ گردو و عنب در آزمایشگاه و اسانس اکالیپتوس، روغن سقز و عصاره گل همیشه بهار به صورت آماده تهیه و از پماد سیلورسولفادiazین نیز استفاده کردیم. در مرحله بعد میزان MIC و MBC عصاره‌ها تعیین شد. در مدل حیوانی ابتدا سوختگی و سپس عفونت توسط باکتری سودوموناس آئروژینوزا ایجاد شد. سپس پماد سیلورسولفادiazین به تنهایی و در ترکیب با هر کدام از عصاره‌ها به صورت جداگانه استفاده گردید و به مقدار یک گرم و به مدت سه روز متوالی به محل زخم موش‌های سوری ماده زده شد و تعداد کلنی‌های باکتری پس از کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار و محیط نوتریت آگار شمارش گردید.

**یافته‌ها:** MIC و MBC عصاره گل همیشه بهار ۵/۲۵ mg/ml و ۱۰/۵۰، اکالیپتوس ۱/۷۵ mg/ml و ۳/۵۰، عصاره الکلی برگ گردو ۵۹/۰۸۷۵ mg/ml و ۱۱۸/۱۷۵، عصاره استونی برگ گردو ۸/۳۷۵ mg/ml و ۱۶/۷۵، عصاره الکلی عنب ۳۹/۸۷۵ و ۷۹/۷۵، عصاره استونی عنب ۸/۶۲۵ mg/ml و ۱۷/۲۵ و سقز ۸/۳۷۵ mg/ml و ۱۶/۷۵ بود. مطالعه مدل موشی نیز اثر عصاره‌ها به همراه سیلورسولفادiazین را بر علیه سودوموناس آئروژینوزا تایید کرد. عصاره استونی برگ گردو و عصاره استونی و الکلی عنب و همچنین عصاره اکالیپتوس سبب کاهش تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا شده و نسبت به سایر گروه‌ها دارای اثر ضد میکروبی بهتری علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** عصاره الکلی و استونی عنب دارای اثر بهتری نسبت به سایر گروه‌ها هستند.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۷

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

شیوه استناد به این مقاله:

Amiri F, Shapouri R, Jafarzadeh M. Comparison of antimicrobial effects of several plant extracts with silversulfadiazine in the treatment of burns caused by *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. Razi J Med Sci. 2020;26(11):112-123.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

## Comparison of antimicrobial effects of several plant extracts with silversulfadiazine in the treatment of burns caused by *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo

**Fereshteh Amiri**, Msc in Microbiology, Faculty of Science, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

**Reza Shapouri**, PhD of Medical bacteriology, Assistant Professor, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

**Mahdi Jafarzadeh**, Msc in Microbiology, Faculty of Science, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran  
(\*Corresponding author) mahdijafarzadeh56@yahoo.com

### Abstract

**Background:** Infectious diseases are one of the most common diseases in the world, including *Pseudomonas aeruginosa*. In burn wounds, *Pseudomonas aeruginosa* is used to treat burns, but a number of resistances have been created, which has led to the use of plants to treat diseases. The aim of this study was to compare the effects of antimicrobial and healing marigold extract, eucalyptus, walnut, jujube, turpentine oil with silver sulfadiazine to create an effective agent in the treatment of burns is due to *Pseudomonas aeruginosa*.

**Methods:** Alcoholic and ethanolic extracts of walnut and jujube leaves were prepared in the laboratory and Eucalyptus oil, turpentine oil and marigold extracts were prepared for ready and we also used silver sulfadiazine ointment. In the next step, the MIC and MBC extracts were determined. In the animal model, the burn was initially burned and then infected by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. Then the silver sulfadiazine ointment was used alone and in combination with each of the extracts separately and one gram and for three consecutive days, was injected into the wound of mice and The number of bacterial colonies was counted after the culture on the Muller Hinton Agar and culture Nutriant Agar.

**Results:** MIC and MBC of Extracts of Marigold 5.25 and 10.50 mg/ml, Eucalyptus 1.75 and 3.50 mg/ml, Alcoholic Extract of Walnut 59.0875 and 118.175 mg/ml, Estonian Extract of Walnut 8.375 and 16.75 mg/ml, Alcoholic extracts of jujube 39.875 and 79.75 mg/ml, Estonia extracts of jujube 8.625 and 17.25 mg/ml and Turpentine 8.375 and 16.75 mg/ml. The study of mouse model confirmed the effect of extracts with silver sulfadiazine against *Pseudomonas aeruginosa*. The acetone extract of walnut leaf, the acetone and alcoholic extract of jujube, as well as the eucalyptus extract, reduced the number of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria and had better antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* than other groups.

**Conclusion:** Alcoholic juices and Estonian jujube have a better effect than other groups.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** Islamic Azad University, Zanjan Branch

### Keywords

Extract,  
Essential oil,  
*Pseudomonas aeruginosa*,  
MIC,  
MBC

Received: 27/07/2019

Accepted: 28/12/2019

### Cite this article as:

Amiri F, Shapouri R, Jafarzadeh M. Comparison of antimicrobial effects of several plant extracts with silversulfadiazine in the treatment of burns caused by *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. Razi J Med Sci. 2020;26(11):112-123.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.



اگزوتوکسین A در موش سوری آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که گونه‌های گیاهی ذکر شده می‌تواند به عنوان یک داروی ضد سودوموناسی مورد استفاده قرار گیرد (۸). اخیراً علاقه زیادی به فعالیت بیولوژیکی و ضد میکروبی عصاره‌های فعال از محصولات طبیعی ایجاد شده است، به خصوص ترکیباتی که در گیاهان دارویی یافت می‌شوند. گیاهان ممکن است عوامل درمانی ضد میکروبی را به شکل عصاره‌ها، آلكالوئیدها، لاتکس، فنول‌ها، فلاون‌ها، تانن، فلاونوئیدها و روغن‌های ضروری تولید کنند (۹). روغن اکالیپتوس عملکردهای بسیاری مانند اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد التهابی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروسی، سوختگی، التیام سوختگی، جلوگیری از سرطان، درمان سرطان، دیابت و بسیاری دیگر دارد (۱۰). لوکمن و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی فعالیت ضد میکروبی روغن ضروری *کالیپتوس سیتریودورا* پرداختند. طبق نتایج آن‌ها اسانس این گیاه در برابر *کاندیدا آلبیکنس* و *کریپتوکوکوس نئوفورمانز* فعال بوده است. به‌طور مشابه این گیاه در برابر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اثر ضد باکتریایی بیشتری داشته است. طبق یافته‌ها عصاره این اکالیپتوس می‌تواند یک عامل با ارزش برای مقابله با عفونت‌های قارچی و مقاوم به دارو باشد (۱۱). عصاره‌های میوه و دانه عناب فعالیت متوسطی را در برابر آفات مهم قارچی نشان داده‌اند (۱۲). عصاره میوه یک گونه عناب وحشی به نام *Ziziphus Lotus (L.) Desf* فعالیت‌های ضد قارچی و ضد باکتریایی را در باکتری‌های دخیل در بیماری و مسمومیت انسانی و همچنین در برابر قارچ‌های مسئول مسمومیت دامی نشان داد (۱۳). شریف عبدالرحمن و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی عصاره دانه عناب پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره اتانولی - آبی ۵۰ درصد در مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تأثیر قوی دارد. آن‌ها همچنین نشان دادند که عصاره عناب در مهار

سوختگی‌ها یکی از شایع‌ترین و مخرب‌ترین شکل از تروما هستند (۱). سودوموناس *اُروژینوزا* یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل است که معمولاً در خاک و آب نیز یافت می‌شود (۲). بیماری‌زایی سودوموناس *اُروژینوزا* به واسطه ظرفیت آن در تولید طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زا است که توسط مقاومت ذاتی خود به تنش‌های محیطی و عوامل زنوبیوتیک مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، ضد عفونی‌کننده‌ها و فلزات سنگین تقویت شده است (۳). آنزیم‌های خارج سلولی و سموم ممکن است به عنوان نیروهای حمله برای شکستن موانع فیزیکی و آسیب به سلول‌های میزبان همچون فرار از فاگوسیتوز و سایر دفاع‌های سیستم ایمنی ذاتی باشند. کپسول باکتریایی سلول‌های باکتریایی را از کشته شدن به وسیله آنتی‌بادی‌های میزبان، کمپلمان و فاگوسیتوز نیز حفظ خواهد کرد (۴). سودوموناس *اُروژینوزا* مکانیسم‌های متعددی از مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مانند بتالاکتام‌های طیف گسترده، متالو بتالاکتام‌ها (MBL)، تغییر پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP)، جهش‌های منفذ، اصلاح آنزیمی پلاسمید، جهش *DNA-gyrase* و پمپ‌های دفع فعال را از خود نشان می‌دهد (۵). آنتی‌بیوتیک‌ها مورد استفاده برای درمان عفونت‌های سودوموناس *اُروژینوزا* از دیواره سلولی عبور می‌کنند تا به هدف‌های خود دست یابند. در نهایت پلی‌میکسین‌ها (کلوماکسین، کولستین) به فسفولیپیدها در غشا سیتوپلاسمی متصل شده و عملکرد مانعی آن را از بین می‌برند (۶). ارزانلو و همکارانش در سال ۲۰۰۷ اثر سیر در برابر عفونت زخم سوختگی ناشی از سودوموناس *اُروژینوزا* را بررسی کردند و دریافتند که عصاره سیر پتانسیل بالایی در درمان عفونت زخم سوختگی ناشی از سودوموناس *اُروژینوزا* دارد (۷). همچنین فروغ قشقایی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثر اسانس گیاهان اسفند، آویشن دناپی و چویل را در برابر عفونت سوختگی ناشی از سودوموناس *اُروژینوزا* مولد

در این محصولات استفاده می‌شود، ضروری است (۱۹). وو کینگ جان و همکاران در سال ۲۰۰۸ فعالیت ضد باکتریایی و مکانیسم عمل یون نقره در استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی را بررسی کردند. آن‌ها یک کاهش را در هر دو باکتری اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس پس از ۹۰ دقیقه درمان با محلول یون نقره را تأیید کردند. طبق نتایج آن‌ها یون‌های نقره ممکن است باعث شود باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی به یک حالت فعال ولی غیر قابل رشد و کشت برسند که در نهایت منجر به مرگ آن‌ها می‌شود (۲۰). با توجه به اینکه اثرات ضد میکروبی عصاره‌های ذکر شده بر روی میکروب‌های مختلف تأیید شده است، هدف از مطالعه حاضر، بررسی میزان فعالیت عصاره‌های گل همیشه بهار، اکالیپتوس، برگ گردو، عناب، روغن سقز همراه با سیلورسولفادiazین به عنوان روشی جدید جهت درمان سوختگی‌های حاصل از سودوموناس آئروژینوزا در مدل موشی می‌باشد.

### روش کار

در این مطالعه تجربی، سویه PAO1 سودوموناس آئروژینوزا از (مرکز علوم تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان) تهیه گردید. عصاره‌های الکلی و استونی از برگ گردو (۱/۲ الکل و ۱/۲ استون همراه با عصاره‌ها - گونه گردوی ایرانی - محل شناسایی و جمع آوری: نهاوند همدان) و عصاره‌های الکلی و استونی عناب (۱/۲ الکل و ۱/۲ استون همراه با عصاره‌ها - گونه عناب خرمایی - محل شناسایی و جمع آوری: خراسان جنوبی) در آزمایشگاه تهیه شد. اسانس اکالیپتوس (اسانس اکالیپتوس طبیعی استاندارد شده - ساخت شرکت طبیب دارو - تشکیل شده از: سینئول، پینن‌ها، لیمونن)، روغن سقز (سقز صمغ، رزین یا شیره غلیظ درختی به نام بنه یا درخت پسته وحشی است - ساخت شرکت اکسیر حیات) و عصاره گل همیشه بهار (ساخت شرکت دارویی زریند - گیاهی است علفی و متعلق به خانواده کاسنی) به صورت آماده تهیه گردید. پماد سیلورسولفادiazین (ساخت شرکت ایران ناژو - محلولی سفید و قابل حل - از سیلور نیترات و سدیم سولفادiazین تولید می‌شود - در غلظت ۱٪ حل شده

رشد استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و لستریا مونوسییتوزن مؤثر است (۱۴). عصاره‌های آبی گل‌های گل همیشه بهار فعالیت ضد باکتریایی بهتری را نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی نشان داده‌اند. در میان ارگانسیم‌های آزمایش شده استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت بیشتری نسبت به عصاره آبی گل‌های گل همیشه بهار داشته است (۱۵). در مطالعه‌ای هفت میکروارگانسیم برای مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره گل همیشه بهار استفاده شدند. پاتوژن‌های باکتریایی مورد استفاده از میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا در انسان بودند که از جمله آن‌ها اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوکوس، استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت، استافیلوکوکوس کواگولاز منفی، کاندیدا، آلبیکنس و کاندیدا پاراپسیلویس بودند. عصاره ریشه، ساقه، برگ و گل ایجاد شده در n-بوتانول، اتانول و آب مقطر برای فعالیت ضد میکروبی آزمایش شدند. عصاره‌ها از تمامی سه محلول در برابر اکثر میکروارگانسیم‌ها مؤثر بودند (۱۶). فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف درخت گردو در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ بررسی شده است. تمامی عصاره‌ها رشد باکتری گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کرده اند (۱۷). باکتری گرم منفی مانند اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه و قارچ‌ها مانند کاندیدا آلبیکنس و کریپتوکوکوس نئوفورمنس نسبت به عصاره با غلظت ۱۰۰ میلی گرم/لیتر مقاوم بوده اند (۱۷). در گیاه درمانی مدرن خصوصیات روغن سقز بسیاری شرح داده شده است که شامل خصوصیات ضد درد، ضد انگل، تهوع آور، ضد عفونی‌کننده (استعمال خارجی)، فعال بر روی ترشح نایی و عفونت‌های دستگاه ریوی و ادراری تناسلی، هموستاتیک، محلول سنگ کیسه صفرا، ادرار آور، ضد اسپاسم، ضد روماتیسم، دافع کرم، به عنوان پادزهر برای مسمومیت های ناشی از فسفر می‌باشد (۱۸). امروزه یون‌های نقره برای کنترل رشد باکتری در انواع کاربردهای بالینی، از جمله کارهای دندانپزشکی، کاتترها و التیام زخم‌های سوختگی استفاده می‌شوند، بنابراین، روشن شدن فعالیت ضد میکروبی یون نقره که به طور گسترده

در آب به صورت کرم عرضه می‌شود) نیز تهیه گردید. محیط های کشت مورد استفاده (مولر هینتون آگار و مولر هینتون برات) از شرکت (مولتی مدیا) محصول کشور مجارستان تهیه شد. موش های سوری ماده شش الی هشت هفته ای با وزن تقریبی  $25 \pm 5$  گرم از (موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج) تهیه گردید.

عصاره گیری از برگ درخت گردو و عناب: گیاهان مذکور را تهیه کرده، ساییده، خرد کرده با ترازو (ترازو آزمایشگاهی AND مدل FX300I - دقت در توزین:  $0.001$  گرم) وزن می‌کنیم. وزن گردوی تازه ساییده شده  $325/384$  گرم شد که به دو قسمت مساوی تقسیم کردیم و در ۲ ظرف جدا ریختیم. روی یکی از ظرف ها را الکل ۹۰ درصد (الکل ۹۰ درصد غیر صنعتی و سفید) می ریزیم و ظرف دوم را تا سر گیاه استون می ریزیم. برگ گیاه عناب خورد شده  $382/272$  گرم شد که به دو وزن مساوی  $91/136$  گرم تقسیم کردیم. روی گیاهان مذکور را یکی با الکل و دیگری را با استون پوشاندیم و در یخچال گذاشتیم و به فاصله هر یک ساعت سه دفعه گیاهان را هم زدیم، بعد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت روی آنها را با سلفون کشیده و در یخچال نگهداری نمودیم. (طرز تهیه الکل ۹۰ درصد از  $99/7$  درصد: ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اتوکلاو شده را با الکل ۹۰ حل می‌کنیم و به حجم می‌رسانیم). روز بعد ظرف ها را از یخچال خارج کرده و از گاز استریل دو بار رد می‌کنیم تا صاف شود. محلول عناب بدست آمده را در بن ماری جهت عمل تغلیظ به مدت ۴۰ دقیقه گذاشتیم به طوری که ته ظرف موم مانند و محلولمان غلیظ تر گردد. بعد داخل مارکوم یا لوله ریختیم و با آب تزریقی به حجم ۱۰ سی سی رساندیم. سپس ورتکس انجام دادیم. بعد در سانتریفیوژ با دور  $1500$  rpm به مدت ۱۵ دقیقه و با دمای  $37$  درجه سانتی گراد قرار دادیم تا رسوب از محلول جدا شده و عصاره اصلی مان به دست بیاید (۲۸). ضمناً الکل مورد استفاده ۹۰ درصد غیر صنعتی و سفید می باشد.

وزن خشک عصاره‌های عناب و برگ درخت گردو: برای تعیین وزن خشک عصاره الکلی عناب، عصاره استونی عناب، عصاره الکلی برگ درخت گردو و عصاره

استونی برگ درخت گردو ۴ پیپت را بدون در وزن کردیم. ترازوی ۴ صفر (دقت در توزین:  $0.001$  گرم) را صفر کردیم، سپس از هر عصاره به هر پلیت ۱ سی سی با سرنگ ریختیم و مجدد با ترازوی ۴ صفر وزن کردیم. بعد یک روز بدون در داخل انکوباتور گذاشتیم تا عصاره خشک گردد. روز بعد در حالی که عصاره در پلیت کاملاً خشک شده آن‌ها را وزن کردیم. ضمناً در این مرحله عصاره‌های آماده سقز، گل همیشه بهار چون وزن خشک نداشتند همین کار را کردیم. در نهایت برای هر کدام از عصاره‌ها، وزن خشک را به دست آوردیم.

تهیه محیط کشت و پاساژ دادن باکتری: محیط کشت های مورد استفاده مولر هینتون آگار و نوترینت آگار بوده است که هر کدام به صورت جداگانه بدست آمده اند.

تهیه محیط مولر هینتون آگار: ۳۸ گرم محیط مولر هینتون آگار را در ۱ لیتر آب مقطر اتوکلاو شده حل کردیم. کمی روی شعله حرارت دادیم تا شفاف شود. بعد داخل اتوکلاو گذاشتیم (تعداد دفعات تکرارهای محیط کشت یا به عبارتی تعداد دفعاتی که محیط کشت ایجاد کردیم، ۳ بار بود).

تهیه محیط نوترینت آگار: ۳۰ گرم محیط نوترینت آگار را در ۱ لیتر آب مقطر حل کردیم روی شعله حرارت دادیم و هم زدیم و سپس در درون اتوکلاو قرار داده و بعد دو ساعت از اتوکلاو خارج کرده و داخل پیپت ها ریختیم. سپس دور آن‌ها را پارافین پیچیده و داخل یخچال قرار دادیم (تعداد دفعات تکرارهای محیط کشت یا به عبارتی تعداد دفعاتی که محیط کشت ایجاد کردیم، ۳ بار بود).

کشت باکتری‌ها: پس از ۱ روز ماندن محیط های کشت در یخچال، بر روی ۲ پلیت حاوی محیط نوترینت آگار سودوموناس آئروژینوزا سویه POA1 را کشت دادیم که این عمل در زیر هود تمیز شده و نزدیک به شعله انجام شده است، سپس آن‌ها را به مدت یک روز داخل انکوباتور قرار دادیم تا باکتری رشد کند و آماده گردد.

تعیین MIC و MBC عصاره‌ها بر روی سودوموناس: ابتدا برای انجام کار محیط کشت مایع (مولر هینتون برات) را آماده کردیم. سپس ۱۲ لوله برای هر کدام از

داد. برای هر عصاره آماده ۳ موش تهیه کردیم و برای هر عصاره دست ساز سه موش تهیه کردیم و یک موش را هم به عنوان شاهد و یک موش را برای استفاده پماد سیلورسولفادیازین به تنهایی در نظر گرفتیم.

کار با مدل حیوانی: در مدل حیوانی، از موش های سوری ماده شش تا هشت هفته ای با وزن تقریبی  $25 \pm 5$  گرم استفاده شد. ۲۷ سر موش سوری ماده به دو گروه شش تایی و پنج گروه سه تایی تقسیم شده و به صورت جداگانه در قفس های جدا گذاشته شدند. این هفت گروه شامل: گروه اول گروه درمانی با عصاره الکلی و استونی گردو (۶ موش)، گروه دوم گروه درمانی با عصاره الکلی و استونی عناب (۶ موش)، گروه سوم گروه درمانی با عصاره گل همیشه بهار (۳ موش)، گروه چهارم گروه درمانی با اسانس اکالیپتوس (۳ موش)، گروه پنجم گروه درمانی با روغن سقز (۳ موش)، گروه ششم گروه درمانی با پماد سیلورسولفادیازین (۳ موش) و گروه هفتم به عنوان گروه شاهد (۳ موش) هستند. روز اول روی پوست همه موش ها را کمی با ماشین و تیغ می تراشیم و بعد روی محل را با قاشق و فندک اتمی داغ می گذاریم. یک روز می گذاریم تا این سوختگی بماند (سوختگی درجه دوم). روز بعد موش ها را با باکتری (که در مطالعه ما باکتری سودوموناس آئروژینوزا) آلوده کردیم بدین صورت که با سوآپ موش ها را به مدت دو روز متوالی آلوده می کنیم و روز سوم پماد تهیه می کنیم (تهیه پماد: پماد سیلور سولفادیازین را با هر کدام از عصاره ها: عصاره الکلی و استونی عناب و عصاره الکل و استونی برگ گردو - عصاره گل همیشه بهار و عصاره اکالیپتوس - عصاره روغن سقز به قدری اضافه می کنیم که غلیظ شود. هنگام ریختن پماد آن را از قبل وزن می کنیم و پماد را کم کم مخلوط می کنیم تا در عصاره خوب حل گردد؛ که ما شش سی سی عصاره را با سرنگ در پیپت ریختیم و شش گرم از پماد را نیز اضافه کرده و مخلوط کردیم به صورتی که پماد حاصل نه خیلی شل باشد و نه خیلی سفت باشد. بعد به مدت پنج روز درمان را در نظر گرفتیم و با سوآپ هر روز به اندازه یک کلون پماد سیلورسولفادیازین یا یک گرم از پماد سیلورسولفادیازین به محل زخم موش ها مالیدیم. روز پنجم هم این کار را کردیم: پس از درمان، درون چند

عصاره ها تهیه کردیم. سپس رقت هایی از عصاره ها را به مقدار ۲ سی سی، از محیط کشت آماده شده به میزان ۲ سی سی داخل لوله ها ریختیم و در نهایت سوسپانسیون باکتری را با غلظت نهایی نیم مک فارلند ( $10^2 \times 2/5$  CFU/ML) تهیه کردیم. رقت سازی را برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا انجام دادیم. به این ترتیب که رقت های: ۱۰۰۰ ppm، ۵۰۰ ppm، ۲۵۰ ppm، ۱۲۵ ppm، ۶۴ ppm، ۳۲ ppm، ۱۶ ppm، ۴ ppm، ۲ ppm و ۱ ppm از عصاره ها (گل همیشه بهار، اکالیپتوس، روغن سقز، عصاره الکلی و استونی عناب و عصاره الکلی و استونی گردو) در لو. له های استریل تهیه گردید. به منظور تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC - Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشنده باکتری (Concentration MBC - Minimum Bactericidal) از روش ماکرودیوشن (رقت در برات) استفاده شد. سپس لوله ها را به مدت یک روز در انکوباتور گذاشتیم تا باکتری در آن ها رشد کنند. روز بعد با آنس استریل از لوله ها مقداری باکتری برداشته و روی پلیت های حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت دادیم و محیط ها را در انکوباتور به مدت یک روز گذاشتیم. روز بعد رشد یا عدم رشد میکروب را بررسی کردیم. بعد از اتمام رقت سازی لوله ها و گذاشتن لوله ها به مدت یک روز در انکوباتور جهت رشد باکتری و نوشتن رشد یا عدم رشد باکتری در لوله ها و کشت دادن از لوله ها به محیط کشت (مولر هینتون آگار) و گذاشتن محیط کشت ها در انکوباتور رشد و عدم رشد باکتری بررسی شد و در نهایت MIC و MBC به دست آمد.

تهیه پماد سیلورسولفادیازین: شایع ترین پماد برای پانسمان سوختگی به خصوص سوختگی های درجه دو و سه می باشد. قبل از مصرف، نواحی مورد نظر باید کاملاً تمیز شود. پوست سوخته و زائد را هم باید جدا کرد. برای مالیدن کرم از دستکش استریل باید استفاده کرد و یک لایه نازک به ضخامت حدود  $1/5$  میلی متر از کرم را یک تا دو بار در روز روی زخم مالید. ناحیه سوخته همواره باید با لایه ای از کرم پوشیده شده باشد. پس از مصرف کرم روی آن را می توان یک پوشش قرار داد یا باز نگه داشت. مصرف دارو را تا بهبودی پوست یا آماده شدن آن جهت پیوند باید ادامه

عدم رشد باکتری بررسی شد و نتایج MIC و MBC (جدول ۱).

در جدول ۲، میانگین شمارش کلنی‌ها همان میانگین سه موش بررسی شده برای هر کدام از گروه‌ها می باشد و انحراف معیار نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه‌های مختلف مورد بررسی با هم می باشد. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، عصاره استونی برگ گردو و عصاره‌های استونی و الکلی عناب و همچنین عصاره اکالیپتوس بیشترین تاثیر را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا داشته و سبب کاهش تعداد کلنی‌های رشد یافته در این سه گروه می‌شود.

### بحث و نتیجه‌گیری

استقرار عوامل بیماری‌زا و تهاجم سیستمیک آن‌ها در زخم‌های سوختگی باعث عوارض شدید و حتی مرگ می‌شود. سودوموناس آئروژینوزا یکی از پاتوژن‌های مهم و شایع ایجاد کننده عفونت‌های زخم سوختگی است (۲۱). سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب است که ممکن است باعث بیماری‌های تهاجمی شدید در بیماران بد حال شود. عفونت‌های ناشی از این باکتری رو به افزایش بوده و سویه‌های مقاوم چند دارویی تقریباً به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس مقاوم هستند و در

لوله‌ی استریل سرم فیزیولوژی به اندازه پنج سی‌سی ریختیم. بعد از محل زخم ایجاد شده بر روی پوست موش مقداری با سوآپ برداشت کرده و درون سرم فیزیولوژی قرار دادیم و سپس محتویات داخل هر سوآپ را درون سرم فیزیولوژی ریختیم، بعد به مدت دو ساعت در انکوباتور قرار دادیم، بعد از گذشت دو ساعت با آنس استریل یک بار درون سرم زده و روی محیط کشت به شکل زیگزاگ کشت دادیم. محیط‌ها را در انکوباتور قرار داده و روز بعد رشد یا عدم رشد باکتری و تأثیر دارو را نوشتیم (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل، آزمون آماری آنالیز واریانس ANOVA و آزمون تعقیبی LSD تحت نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمون  $p > 0/05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

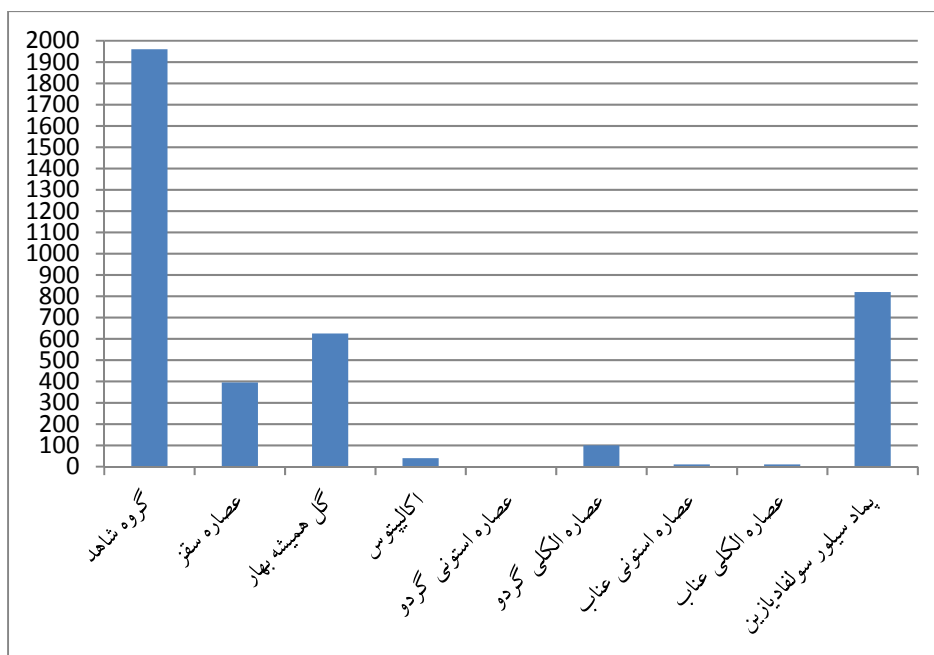
بعد از اتمام رقت سازی لوله‌ها و گذاشتن لوله‌ها به مدت یک روز در انکوباتور جهت رشد باکتری و نوشتن رشد یا عدم رشد باکتری در لوله‌ها و کشت دادن از لوله‌ها به محیط کشت (مولر هینتون آگار، نوترینت آگار) و گذاشتن محیط کشت‌ها در انکوباتور رشد و

جدول ۱- نتایج تعیین MIC و MBC چند عصاره گیاهی مختلف در باکتری سودوموناس آئروژینوزا

غلظت	MIC سودوموناس آئروژینوزا (CFU/ml)	MBC سودوموناس آئروژینوزا (CFU/ml)
عصاره اکالیپتوس	۱/۷۵ mg/ml	۲/۵۰ mg/ml
عصاره سقز	۸ / ۳۷۵ mg/ml	۱۶ / ۷۵ mg/ml
عصاره گل همیشه بهار	۵/۲۵ mg/ml	۱۰/۵۰ mg/ml
عصاره الکلی عناب	۳۹/۸۷۵ mg/ml	۷۹/۷۵ mg/ml
عصاره استونی عناب	۸ / ۶۲۵ mg/ml	۱۷ / ۲۵ mg/ml
عصاره الکلی گردو	۵۹ / ۰۸۷۵ mg/ml	۱۱۸ / ۱۷۵ mg/ml
عصاره استونی گردو	۸ / ۳۷۵ mg/ml	۱۶ / ۷۵ mg/ml

جدول ۲- نتایج کشت از زخم سوختگی موش سوری در باکتری سودوموناس آئروژینوزا در عصاره‌های سقز، گل همیشه بهار، اکالیپتوس، عصاره الکلی و استونی برگ گردو، عصاره الکلی و استونی عناب در قیاس با گروه شاهد

سقز	گل همیشه بهار	اکالیپتوس	عصاره استونی برگ گردو	عصاره الکلی برگ گردو	عصاره استونی عناب	عصاره الکلی عناب	گروه شاهد (بدون هیچ تیماری)	نتایج
۳۹۵	۶۲۵	۴۰	-	۱۰۰	۱۰	۱۰	۱۹۲۶	میانگین شمارش کلنی‌ها
±۱۱/۲۴	±۱۷/۷۸	±۳۶/۰۵	-	±۹۰/۰۲	±۶/۳۶	±۶/۳۶	±۱۷۳۰	انحراف معیار



نمودار ۱- تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا در تیمار با عصاره‌های مختلف

ضد میکروبی، یک نیاز فوری برای کشف محصولات جدید به وجود آمده که دارای خاصیت ضد میکروبی باشند. اخیراً علاقه زیادی به فعالیت بیولوژیکی و ضد میکروبی عصاره‌های فعال از محصولات طبیعی ایجاد شده است، به خصوص ترکیباتی که در گیاهان دارویی یافت می‌شوند (۹). حامد بابایی و همکاران در سال ۲۰۰۳ فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی اکالیپتوس را بر روی برخی ارگانسیم‌های بیماری‌زا از جمله سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی و کاندیدا آلبیکنس بررسی کردند. مقادیر MIC بین (۵/۰۶۲۵-۰) میکروگرم بر میلی لیتر بود. حامد بابایی و همکارانش دریافتند که عصاره متانولی اکالیپتوس توانسته میزان رشد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس و کاندیدا آلبیکنس را کاهش دهد، در حالی که سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی نسبت به این غلظت‌ها مقاومت نشان داده و این عصاره نتوانسته بر روی این باکتری‌ها تاثیرگذار باشد. این در حالی است که در نتایج حاصل از این تحقیقات، ما از اسانس اکالیپتوس استفاده کردیم که مقادیر MIC و MBC عصاره اکالیپتوس به ترتیب  $mg/ml$  ۱/۷۵ و  $mg/ml$  ۳/۵۰ می‌باشد که طبق نتایج به دست آمده این اسانس می‌تواند رشد باکتری

بیماران بستری شده در بیمارستان در حال ظهور می‌باشند. به دلیل ماهیت وجود آن در تمامی نقاط، توانایی آن برای زنده ماندن در محیط‌های مرطوب و مقاومت ذاتی آن به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضد عفونی‌کننده‌ها، سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن شایع در بیمارستان‌ها و به خصوص در بخش‌های مراقبت‌های ویژه است. به‌طور فزاینده‌ای روشن شده است که توسعه سودوموناس آئروژینوزا به عوامل مختلفی مربوط می‌باشد که شامل جهش در ژن‌ها، پمپ‌های انتشار به خارج، پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین و بتا لاکتامازهای کروموزومی است که همگی در مقاومت به بتا لاکتام‌ها، کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها کمک می‌کنند. سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا باعث بیماری‌های شدید در محیط‌های بیمارستانی می‌شوند که عمدتاً ذات‌الریه، باکتری‌می، مننژیت، عفونت‌های مجاری ادراری و همچنین عفونت‌های پوستی و بافت‌های نرم می‌شود. با توجه به ظهور سویه‌های مقاوم چند دارویی، اهمیت نهایی در تحقیقات حاضر توسعه داروهای ضد میکروبی جدید است (۲۲). با افزایش پاتوژن‌های مقاوم به دارو چالش‌هایی برای درمان موفقیت‌آمیز بیماری‌های میکروبی ایجاد شده است. برای مبارزه با میکروارگانسیم‌های مقاوم به داروهای

باشد، هر کدام از این قسمت های گیاه می تواند بر روی باکتری اثرگذار باشد). سیاسی و همکاران در سال ۲۰۱۳ فعالیت ضد میکروبی عصاره میوه عناب وحشی *Ziziphus Lotus* را بررسی کردند. نتایج آن ها به این صورت بود که در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم/دیسک، عصاره های متانولی و اتری بیشترین فعالیت را داشتند و باعث مهار رشد باکتری هایی مثل باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی، انتروکوکوس فکالیس و سودوموناس آئروژینوزا شده اند که با نتایج حاصل از کار ما مطابقت دارد، به این صورت که در تحقیق حاضر ما از عصاره الکلی عناب که MIC و MBC آن: ۳۹/۸۷۵ mg/ml و ۷۹/۷۵ mg/ml و عصاره استونی عناب که MIC و MBC آن: ۸/۶۲۵ mg/ml و ۱۷/۲۵ mg/ml بودند، استفاده کردیم که هم عصاره الکلی عناب و هم عصاره استونی عناب باعث کاهش تعداد باکتری های سودوموناس آئروژینوزا شدند، یعنی به عبارتی در این غلظت ها ما شاهد کاهش چشمگیر باکتری های سودوموناس آئروژینوزا شدیم. (۲۵) شباهت موجود در این تحقیق و تحقیق ما در این است که در هر دو تحقیق، تعداد باکتری های سودوموناس آئروژینوزا در غلظت های مختلف، بیشترین فعالیت و تاثیر را داشتند و سبب کاهش و مهار رشد باکتری های سودوموناس آئروژینوزا شدند. شریف عبدالرحمن و همکاران در سال ۲۰۱۳ ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی عصاره دانه عناب را مورد بررسی قرار دادند و نتایج آن ها نشان داد که عصاره اتانولی - آبی ۵۰ درصد در مهار رشد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی تأثیر قوی دارد. آن ها همچنین نشان دادند که عصاره عناب در مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و لیستریا مونوسیتوزنز مؤثر است که این نتایج با نتایج حاصل از تفاوت دارد، به این صورت که در تحقیق حاضر، عصاره الکلی و استونی عناب (MIC و MBC عصاره الکلی عناب: ۳۹/۸۷۵ mg/ml و ۷۹/۷۵ mg/ml و عصاره استونی عناب که MIC و MBC آن: ۸/۶۲۵ mg/ml و ۱۷/۲۵ mg/ml بود) مورد استفاده قرار گرفت و این عصاره توانست باعث کاهش تعداد باکتری های

سودوموناس آئروژینوزا را تا حدود زیادی کاهش دهد (۲۳). در تحقیقی که ما انجام دادیم، اسانس اکالیپتوس با مقادیر MIC و MBC ذکر شده توانسته رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا را تا حد زیادی کاهش دهد، این در حالی است که در مطالعه حامد بابایی و همکارانش عصاره متانولی اکالیپتوس با غلظت های مختلف (۵/۰۶۵-۰) میکروگرم بر میلی لیتر نتوانسته بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا تاثیرگذار باشد. سایونارا مندز سیلوا و همکاران در سال ۲۰۱۱ عصاره بخش های مختلف اکالیپتوس سینرا و فعالیت ضد باکتری آن را مورد بررسی قرار دادند. MIC عصاره اکالیپتوس تهیه شده از برگ های تازه اکالیپتوس برای اثرگذاری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس: ۱۲،۵۰ mg/ml، سودوموناس آئروژینوزا: ۶،۲۵ mg/ml و استریپتوکوکوس پایوژنز: ۳،۱۲ mg/ml بود. سایونارا مندز سیلوا و همکارانش دریافتند که عصاره ها از بخش های مختلف (در اینجا برگ های تازه اکالیپتوس) دارای اثر ضد میکروبی در برابر باکتری های نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و استریپتوکوکوس پیوژنز می باشند که با نتایج حاصل از کار ما مطابقت دارد، به این صورت که اسانس اکالیپتوس در باکتری سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی می باشد (۲۴). شباهت این کار با تحقیق حاضر در این است که در باکتری سودوموناس آئروژینوزا، عصاره اکالیپتوس در این جا و اسانس اکالیپتوس در تحقیق ما، توانسته بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا اثرگذار باشد. تفاوت موجود در این است که در این جا از عصاره بخش های مختلف اکالیپتوس جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی استفاده شده، در حالی که در تحقیق مورد نظر ما، از اسانس اکالیپتوس استفاده شده است که می توان با بالا بردن یا پایین آوردن دوز مصرفی آن، می توان اثر ضد میکروبی را افزایش یا کاهش داد (عصاره محلولی است حاوی تمام مواد مفید گیاه مانند تانن، موسیلاژ، اسانس، ویتامین ها و املاح گیاه اما اسانس تنها شامل ترکیبات ترپنی و یا مشتقات ترپنی گیاه می باشد. بسته به اینکه از کدام جنبه درمانی و خاصیت گیاه می خواهیم استفاده کنیم و ماده موثره ی مورد نیاز در اسانس یا عصاره گیاه می

تأثیرات چشمگیری در بهبود زخم سوختگی داشته باشد) تفاوتی که وجود دارد، این است که در تحقیقی که ما انجام دادیم، اثر یکسری از عصاره‌ها مثل عصاره استونی برگ گردو نسبت به پماد سیلورسولفادیازین و همچنین نسبت به گروه کنترل (شاهد) بر روی عفونت زخم سوختگی بهتر بود، در حالی که در این جا سیاه دانه و سیلورسولفادیازین اثر ترکیبی شان نسبت به گروه کنترل اثر بهتر و موثرتری دارد. عصاره‌های گیاهان مختلف همراه با ترکیبات شیمیایی دیگر امروزه در بسیاری از تحقیقات مورد بررسی قرار می‌گیرند. در تحقیق حاضر به مقایسه اثرات ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره گل همیشه بهار، اکالیپتوس، برگ گردو، عنب، روغن سقر همراه با سیلورسولفادیازین در درمان سوختگی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا پرداختیم. اثرات ضد میکروبی و التیام بخشی پماد های تهیه شده از عصاره‌های مختلف همراه با سیلور سولفادیازین که یک داروی ضد باکتریایی عمده در زمینه زخم های سوختگی می باشد در موش های سوری با عفونت زخم سوختگی دو باکتری نام برده شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داده است که اختلاف معنی داری بین موش های تیمار شده با عصاره‌های استونی برگ گردو (عصاره استونی برگ گردو توانسته تاثیر زیادی در کاهش رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا ایجاد کند درحالی که عصاره الکلی نتوانسته چنین کاری را انجام دهد) و عصاره استونی و الکلی عنب همراه با سیلور سولفادیازین و موش های کنترل وجود داشته است و باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به گروه کنترل رشد کمتری داشته است. البته این اختلاف معنی دار در سایر گروه های تیمار شده با عصاره‌های مختلف مورد مطالعه مشاهده نشده است. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داده است که عصاره‌های استفاده شده فعالیت ضد میکروبی و التیام بخشی در برابر باکتری سودوموناس آئروژینوزا را دارا می باشد و همچنین مشاهده شده است که استفاده عصاره‌ها همراه با سیلور سولفادیازین اثر هم افزایی داشته و اثر ضد باکتریایی بر علیه دو باکتری مذکور افزایش داده است. با توجه به مطالعه حاضر می توان گفت عصاره‌های گیاهان ذکر شده به خصوص عصاره استونی گردو و عصاره‌های استونی و الکلی عنب همراه

سودوموناس آئروژینوزا شود، در حالی که شریف عبدالرحمن و همکارانش از غلظت متفاوتی (mg/ml ۸۹,۷۵) استفاده کردند (جهت باکتری سودوموناس آئروژینوزا) که در این غلظت ما شاهد کاهش تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا بودیم (۲۶). شباهتی که این کار با تحقیق مورد نظر ما دارد، در این است که هر دو یعنی دانه عنب و عصاره‌های الکلی و استونی عنب می توانند باعث مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نظیر سودوموناس آئروژینوزا شوند. تفاوتی که در این جا وجود دارد، این است که عصاره اتانولی-آبی عنب ۵۰ درصد یعنی تا حدودی می‌تواند باعث مهار رشد این باکتری شود، درحالی که در تحقیق ما، عصاره الکلی و استونی عنب (MIC و MBC عصاره الکلی عنب: ۳۹/۸۷۵ mg/ml و ۷۹/۷۵ و ۸/۶۲۵ mg/ml و ۱۷/۲۵ mg/ml بود) مورد استفاده قرار گرفت و این غلظت ها سبب کاهش رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا شد. یامن و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثرات سیاه دانه و سیلور سولفادیازین را بر روی التیام زخم سوختگی در موش ها بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد که پس از گذشت چند روز التیام و بهبود سوختگی در گروه های درمان شده با سیلور سولفادیازین و سیاه دانه نسبت به گروه کنترل بهتر بوده است. طبق نتایج آن‌ها استفاده از کرم سیلور سولفادیازین و سیاه دانه در بهبود سوختگی مرتبط با زخم های پوستی در مدل موشی مؤثر بوده است (۲۷). در مطالعه حاضر نیز تأثیر پماد سیلور سولفادیازین همراه با عصاره‌های مذکور بررسی شد که این پماد همراه با سایر عصاره‌ها بهبود خوبی را در التیام بخشی و اثر ضد باکتریایی علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا نشان داده است. در واقع شباهتی که در این جا وجود دارد، این است که در هر دو تحقیق مورد بررسی، سیاه دانه و سیلورسولفادیازین و همچنین عصاره‌ها به همراه سیلورسولفادیازین توانسته اند روی درمان زخم سوختگی اثرگذار باشند. (در تحقیق ما از ۵۴ موش سوری ماده استفاده شد که ۶ موش سوری ماده برای پماد سیلورسولفادیازین در نظر گرفته شد در حالی که در تحقیق یامن و همکارانش هم ۵۴ موش از نوع رت استفاده شد و در هر دو تحقیق این پماد توانست

7. Arzanlou M, et al. Therapeutic Efficacy of Garlic (AUium saliva) Against Bum Wound Infection by *Pseudomonas aeruginosa*. Res J Biol Sci. 2007;2(6):634-638.

8. Mercier B, et al. The essential oil of turpentine and its major volatile fraction ( $\alpha$ - and  $\beta$ - pinens): a review. Int J Occup Med Environ Health. 2009;22(4):331-342.

9. Palmer Q. Besse. Wound care, 2nd ed. New York. Springer. 2000, chapter 11, p.127-131.

10. Golestannejad Z, Mohammadi E, Motamedi A, Gavanji Sh, Fallah N, Bagherie Sh, et al. Chemical composition and antibacterial activity of some herbal essential oils against *Streptococcus mutans*. Adv Herbal Med. 2015;1(3):1-8.

11. Luqman S, et al. Antimicrobial activity of *Eucalyptus citriodora* essential oil. Int J Essen Oil Ther. 2008;2:69-75.

12. Peng ZC, Zhu J. Research advances in chemical constituents and pharmacological effects of semen *Ziziphi Spinosae*. Lishizen Med Mat Med Res. 2001;12:86-87.

13. Tsutomu H, Miwako K, Kazutoshi I, Tomo-omi O, Sumiko S, Tomofusa T, et al. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Phytochemistry. 2005;66:2047-2055.

14. Abd-Alrahman ShH, et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Ziziphus jujuba* Seeds Extract. J Pure Appl Microbiol. 2013;7(Spl. Edn):379-385.

15. Arora D. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. Pharma Rev. July-December 2013;7(14).

16. Iauk L, Lo-Bue AM, Milazzo I, Rapisarda A, Blandino G. Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. Phytother Res. 2003;17:599-604.

17. Adwan Gh, Mhanna M. Synergistic Effects of Plant Extracts and Antibiotics on *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Clinical Specimens. Middle-East J Sci Res. 2008;3(3):134-139.

18. Qa'dan F, Thewaini A, Ali D, Afifi R, Elkhawad A, Matalka K. The Antimicrobial Activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* Leaf Extracts to acne-developing organisms. Am J Chin Med. 2005;33:197-204.

19. Srikumar R, Tsang E, Poole K. Contribution of the MexAB-OprM multidrug efflux system to the beta-lactam resistance of penicillin-binding protein and beta-lactamase-derepressed mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother. 1999;44:537-540.

20. Kyung Jung W, et al. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol. Apr 2008:2171-2178.

با سیلور سولفادیازین در مدل حیوانی می‌تواند دارای اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا باشد و عفونت‌های ناشی از این باکتری را التیام بخشد و بنابراین می‌توان نتیجه گرفت از این عصاره‌ها می‌توان به عنوان یک پماد و داروی جدید برای درمان عفونت‌های ناشی از زخم سوختگی در آینده استفاده کرد.

## تقدیر و تشکر

این تحقیق در مرکز تحقیقات بیولوژی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان انجام شد و حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی با عنوان "مقایسه اثرات ضد میکروبی و التیام بخشی عصاره گل همیشه بهار، اکالیپتوس، برگ گردو، عناب، روغن سقز همراه با سیلورسولفادیازین در درمان سوختگی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در موش" می‌باشد. بدین وسیله از کلیه مسئولین محترم مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان تشکر و قدردانی می‌شود.

## References

1. Qazvini K. Surveillance of burn wound infections in patients hospitalized in the burn ward of Imam Reza University Hospital in Mashhad, and determination of resistance pattern of isolated bacteria to antibiotics. J School Public Health Institute Public Health Res. 2008;5(4):55-62.
2. Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Microb Infect. 2006;12:3-8.
3. Anzai Y, Kim H, Park JY, Wakabayashi H, Oyaizu H. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. Int J Syst Evol Microbiol. 2000;50:1563-1589.
4. Franzetti F, Cernuschi M, Esposito R, Moroni M. *Pseudomonas* infections in patients with AIDS and AIDS related complex. J Intern Med. 1992;231:437-443.
5. DiMango E, Zar HJ, Bryan R, Prince A. Diverse *Pseudomonas aeruginosa* gene products stimulate respiratory epithelial cells to produce interleukin-8. J Clin Invest. 1995;96:2204-10.
6. Robles-Price A, Wong TY, Sletta H, Valla S, Schiller NL. AlgX is a periplasmic protein required for alginate biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 2004;186:7369-77.

21. Othman N, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infection in burn patients in Sulaimaniyah, Iraq: risk factors and antibiotic resistance rates. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(11):1498-1502.
22. Porras-Gómez M, Roberto Vega-Baudrit J, Núñez-Corrales S. Overview of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Novel Therapeutic Approaches. *J Biomat Nanobiotechnol*. 2012;3:519-527.
23. Babayi H, Kolo I, Okogun JL, Ijah UJJ. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and, *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*. 2004;16(2):106-111.
24. Silva SM, Abe SY, Murakami FS, Frensch G, Marques FA, Nakashima T. Essential Oils from Different Plant Parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a Source of 1,8-Cineole and Their Bioactivities. *Pharmaceuticals*. 2011;4:1535-1550.
25. Rsaissi N, et al. Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild, jujube "*Ziziphus Lotus* (L.) Desf. *Int J SciEngineer Res*. September-2013;4(9).
26. Abd-Alrahman ShH, et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Ziziphus jujuba* Seeds Extract. *J Pure Appl Microbiol*. 2013;7(Spl. Edn.):379-385.
27. Yaman I, Durmus AS, Ceribasi S, Yaman M. Effects of *Nigella sativa* and silver sulfadiazine on burn, wound healing in rats. *Veterin Med*. 2010;12(55):619-624.
28. Nikhbakht M, Pourali P. Investigation of the biological production and antibacterial effect of silver nanoparticles produced by Water and methanol extract of jujube. *J Islam Azad Uni Med Sci*. 2014;25(2):112-118. (Persian)
29. Roshani M, Heydari M, Ghodarzi H, Hashemi A, Eslami G, Yosefi N. Evaluation of the antibacterial effect of methanol and acetone extracts of *Urtica dioica* Thyme on the *Pseudomonas aeruginosa* strains Manufacturer of metallo-beta-lactamase. *J Ilam Uni Med Sci*. 2015;24(3):70-78. (Persian)