


بررسی اثرات آنتی باکتریال دوده حاصل از عنبرنسارا بر باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های زخم و ادرار بیماران

محبوبه اکبری زارع^{۱*} 

۱-دکتری میکروبیولوژی، دانشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۲ / شماره ۱۴ / زمستان ۹۹ / مسلسل ۸۶

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۸/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۹/۹/۲۴

مقدمه: استفاده از دودهای طبی در بیش از ۵۰ کشور دنیا رایج است و مصرف آن در طب سنتی و بین عموم مردم پذیرفته شده است. در فرهنگ بومی ایران، طبق نظر پزشکان قدیم چون ابن‌سینا و زکریای رازی استفاده از دود موادی چون اسپند و سرگین الاغ ماده به‌عنوان ترکیبی دارویی برای رفع عفونت زخم‌ها به‌ویژه زخم‌های حاصل از سوختگی، عفونت سینوس‌ها و چشم، عفونت مقعد و عفونت‌های اندام تناسلی زنان مرسوم است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی باکتریال دود حاصل از سوختن سرگین الاغ ماده (عنبرنسارا) بر تعدادی از باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های زخم و ادرار بیماران است.

مواد و روش‌ها: دود حاصل از سوزاندن سرگین الاغ ماده در متانول ۵۰٪ جمع‌آوری شد. اثرات آنتی باکتریال غلظت‌های 100 mg/ml - $3/2$ دوده جمع‌آوری شده، با روش انتشار در دیسک بر ۶ باکتری استاندارد و ۸ باکتری جدا شده از عفونت بیماران بررسی شد.

یافته‌ها: بزرگ‌ترین هاله مهارى در غلظت 100 mg/ml با قطر هاله ۱۲ میلی‌متر در سویه استاندارد *Micrococcus luteus* و قطر ۱۸ میلی‌متر در سویه استاندارد *Klebsiella pneumoniae* بود. در همین غلظت در میان باکتری‌های گرم‌مثبت جدا شده از بیماران، بیشترین قطر مهارى با *S. epidermidis* ۲۱ میلی‌متر در *S. epidermidis* و در بین باکتری‌های گرم‌منفی جدا شده از بیماران بزرگ‌ترین هاله مهارى با قطر ۱۷ میلی‌متر در سویه *Proteus mirabilis* مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات آنتی باکتریال مشاهده شده از دود حاصل از سوختن سرگین الاغ ماده در سویه‌های مورد مطالعه که جدا شده از عفونت‌های زخم و ادرار بیماران هستند و اغلب در ایجاد عفونت‌های چشم و سینوس نیز دخالت دارند، می‌توان بر طبق نظرات پزشکان قدیمی از این ترکیب برای رفع این عفونت‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: دودهای طبی، عنبرنسارا، اثرات آنتی باکتریال، عفونت، زخم و ادرار بیماران.

*آدرس مکاتبه: قزوین بوئین زهرا کیلومتر ۲ جاده بوئین زهرا به سمت قزوین آزمایشگاه شرکت یخسازى بوئین زهرا.

پست الکترونیک: Mahboobeh_akbarizare@yahoo.com

مقدمه

در حدود ۷۰ سال است که مردم برای رفع عفونت‌ها از آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند. اگرچه این عوامل ضد میکروبی سبب نجات بسیاری از مرگ شده است اما استفاده مکرر از این عوامل سبب ایجاد استرس در میکروارگانیسم‌ها و به دنبال آن ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها شده است (۱). مقاومت به عوامل ضد میکروبی یکی از مهم‌ترین معضلات جهانی و دلایل افزایش مرگ‌ومیرها است. مقاومت چند دارویی بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی منجر به ایجاد عفونت‌های غیرقابل درمان می‌شود (۲).

متأسفانه پس از گذشت بیش از نیم‌قرن از صنعت داروسازی تعداد بسیار کمی از عوامل ضد میکروبی ساخته شده و جایگزین عوامل ضد میکروبی غیر مؤثر شده‌اند (۱). بنابراین با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میکروارگانیسم‌ها پیدا کردن ترکیبات جدید دارویی و تدوین روش‌های جدید برای درمان عفونت‌های باکتریایی ضروری به نظر می‌رسد. طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی در حال حاضر داروهای سنتی و جایگزینی آنها با داروهای جدید برای استفاده و افزایش سلامت عمومی بسیار بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته‌اند.

یکی از مهم‌ترین موادی که در سراسر جهان به صورت سنتی برای درمان عفونت‌ها استفاده می‌شود گیاهان دارویی هستند و در حدود هزار سال درمان بیماری و رفع عفونت‌ها در انسان و حیوانات در انحصار گیاهان دارویی بوده است (۳، ۴). یکی از ساده‌ترین راه‌های استفاده از گیاهان دارویی استنشاق دود حاصل از این گیاهان در دمای بالا است. در بیش از ۵۰ کشور دنیا استفاده از دودهای طبی حاصل از سوزاندن گیاهان یا مواد دفعی حیواناتی که از گیاهان تغذیه می‌کنند با همان روش‌ها و مقادیر قدیم برای درمان عفونت‌ها و ضد عفونی کردن محیط، مرسوم است (۳، ۵).

در مطالعات آماری اخیر اطلاعات جمع‌آوری شده نشان می‌دهند که به دلیل در دسترس بودن و ارزان بودن این نوع درمان، استفاده از دودهای سنتی برای درمان عفونت‌های چشمی، گوش، ریه، دهان و دندان در میان مردم بسیاری از کشورها مانند چین، روسیه و تعدادی از کشورهای اروپایی دارای مقبولیت است. هم‌چنین در کشورهای آفریقایی از سرگین فیل برای درمان تشنج کودکان و سردردهای مزمن استفاده می‌شود. در ایران نیز استفاده از دود حاصل از سوزاندن سرگین الاغ ماده (عنبرنسارا) که در فصل بهار جمع‌آوری شده است برای درمان عفونت‌های دهان، گوش میانی و زخم‌های التهابی قدمتی دیرینه دارد (۷-۵).

در مطالعات اخیر تأکید شده است که خواص دارویی عنبرنسارا به شرایط محیطی، رژیم غذایی دام، نوع علوفه مراتع و فصل نمونه‌برداری بستگی دارد (۳). اطباء قدیمی چون ابن سینا در کتاب قانون، زکریای رازی در کتاب الحاوی و حکیم عقیل خراسانی در کتاب مخزن الادویه به صراحت به استفاده از دود عنبرنسارا برای درمان عفونت‌ها تأکید کرده‌اند (۸-۱۰). تحقیقات اولیه برای بررسی اثرات درمانی عنبرنسارا در سال ۲۰۱۰ در دانشگاه شهید بهشتی با تهیه محلول دهان‌شویه در حلال پروپیلن گلیکول انجام شد (۳).

با توجه به این که افراد محلی در روستاها و شهرستان‌های ایران از دود عنبرنسارا برای درمان عفونت‌ها استفاده می‌کنند انجام مطالعات روی آن ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی اثر دود حاصل از سوختن سرگین الاغ ماده (عنبرنسارا) بر ۶ سویه باکتری استاندارد و ۸ سویه باکتریایی جدا شده از عفونت‌های بیماران مختلف است که در عفونت‌های چشم، سینوس‌ها و زخم دخیل هستند.

مواد و روش‌ها

سویه‌های استاندارد: ۵ سویه استاندارد از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تحویل گرفته شد. این سویه‌ها عبارت بودند از:

Staphylococcus aureus (PTCC No: 1112),

Escherichia coli (PTTC No:1330),

Micrococcus luteus (PTCC No: 1110)

Bacillus cereus (PTTC No: 1053),

Klebsiella pneumoniae (PTTC No: No: 1015),

و سویه *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC No: 27853)

که از شرکت پادتن طب خریداری شد.

۸ سویه جدا شده از زخم و ادرار بیماران در این پژوهش استفاده شد که از آزمایشگاه تشخیص طبی شمس در شهر بوئین‌زهرا تحویل گرفته شد. این سویه‌ها با تأییدیه تشخیص از شرکت ایرانیان پیشگام شماره‌گذاری شدند و عبارت بودند از:

Staphylococcus aureus (IP No: 4310),

Staphylococcus epidermidis (IP No: 964111),

Staphylococcus haemolyticus (IP No: 984211),

Acinetobacter baumannii (IP No: 964110),

Enterobacter aerogenes (IP No: 974310),

Yersinia enterocolitica (IP No: 984311),

Enterococcus vancomycin resistance (IP No:984210)

و *Proteus mirabilis* (IP No: 964211) جدا شده از کاتاتر.

محیط کشت‌های کلنی کانت آگار برای تهیه کشت ۲۴ ساعته و مولر هینتون آگار برای انجام آزمایش آنتی بیوگرام از شرکت کیولب، دیسک‌های بلانک برای آزمایش آنتی بیوگرام از شرکت پادتن طب و دی متیل سولفوکساید (DMSO) از شرکت بتاسل خریداری شدند.

سرگین الاغ ماده در اواخر فصل بهار سال ۱۳۹۹ از یکی از دامداری‌های مستقر در مراتع اطراف بوئین‌زهرا جمع‌آوری شد. این فرآورده در ارلن ریخته شد و مستقیماً روی شعله قرار داده شد. در حین حرارت دیدن دود متصاعد شده از این فرآورده به‌وسیله یک لوله رابط به یک

ارلن حاوی متانول ۵۰٪ که در ظرف یخ و روی همزن مغناطیسی قرار داشت هدایت شد (شکل ۱). (۱۱) دود جمع شده در حلال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد. وزن عصاره حاصل اندازه‌گیری شد و به ازای هر گرم عنبرنسا را گزارش شد. از عصاره حاصل غلظت‌های ۱۰۰-۳/۲ mg/ml تهیه شد و برای آزمون حساسیت میکروبی استفاده شد.



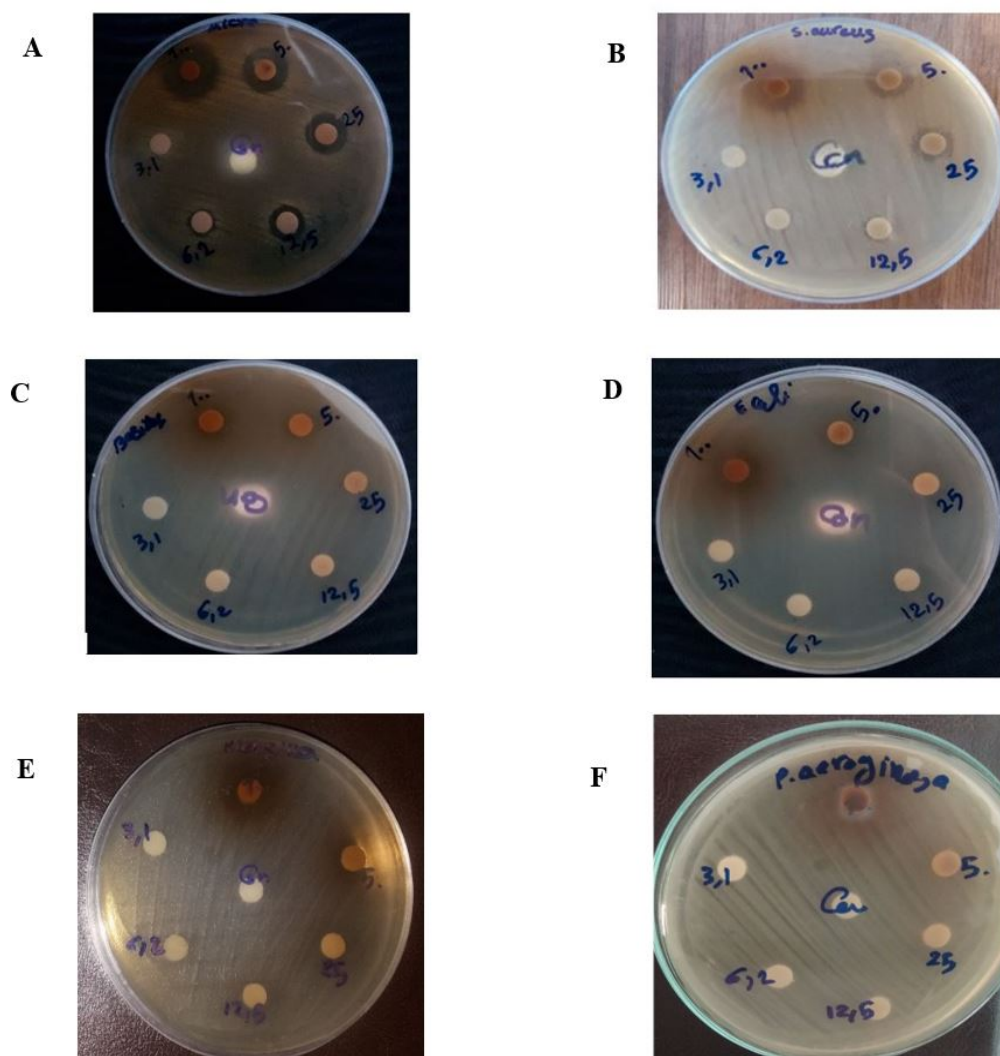
شکل ۱. مراحل استخراج و جمع‌آوری دود حاصل از سوختن عنبرنسا را

هر یک از سویه‌ها در محیط کشت کلنی کانت آگار کشت داده شدند و از کشت‌های ۲۴ ساعته طبق استاندارد CLSI سوسپانسیون باکتری مطابق غلظت نیم مکفارلند تهیه شد. از این سوسپانسیون به صورت چمنی روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و برای جلوگیری از تداخل هاله‌های مهارتی در هر پلیت ۱۳ سانتی‌متری، ۷ دیسک حاوی ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۱۰۰-۳/۲ mg/ml از دوده حل‌شده در DMSO قرار داده شد. یک دیسک حاوی ۲۰ میکرولیتر DMSO برای کنترل حلال در مرکز هر پلیت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و مشاهده هاله‌های فقدان رشد قطر هاله به عنوان میزان مهارت رشد میکروارگانیسم اندازه‌گیری و گزارش شد (۱۲).

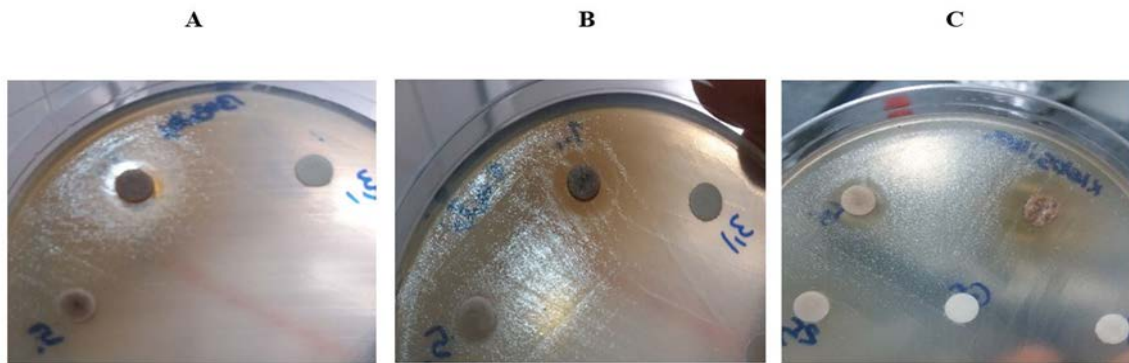
بیشترین قطر هاله مهاری در سویه‌های استاندارد گرم مثبت در غلظت 100 mg/ml در سویه استاندارد *Micrococcus luteus* با قطر 21 میلی‌متر مشاهده شد. کمترین غلظت مؤثر بر این سویه $6/2 \text{ mg/ml}$ بود که هاله مهاری با قطر 8 میلی‌متر ایجاد نمود. در سویه *Bacillus cereus* که به‌عنوان باسیل گرم مثبت استاندارد استفاده شد در غلظت 100 mg/ml قطر هاله مهاری 11 میلی‌متر مشاهده شد (شکل ۳).

یافته‌ها

وزن خشک دوده جمع شده در حلال متانول 50% پس از سوختن یک گرم عنبر نسارا $1/4 \pm 7/45$ میلی‌گرم محاسبه شد. نتایج حاصل از آزمون ضد میکروبی نشان داد با استفاده از دیسک‌های حاوی غلظت $100 \text{ mg/ml} - 3/2$ از دوده حاصل از سوختن عنبر نسارا در همه سویه‌های استاندارد مورد آزمون هاله مهاری رشد مشاهده شد (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲. هاله‌های مهاری ایجاد شده در غلظت‌های $100 - 3/2$ از دوده عنبرنسارا در سویه‌های استاندارد
 A: *Micrococcus luteus* B: *Staphylococcus aureus* C: *Bacillus cereus* D: *Escherichia coli* E: *Klebsiella pneumoniae* F: *Pseudomonas aeruginosa*



شکل ۳. هاله‌های مهارتی ایجادشده در غلظت 100 mg/ml از دوده عنبرنسارا در تعدادی از سویه‌های استاندارد

A: *Bacillus cereus* B: *Escherichia coli* C: *Klebsiella pneumoniae*

در بین سویه‌های گرم مثبت جدا شده از بیماران بزرگ‌ترین هاله‌های مهارتی در گونه‌های مختلف *Staphylococcus* مشاهده شد (شکل ۴). بزرگ‌ترین قطر هاله مهارتی در غلظت 100 mg/ml در سویه *S. epidermidis* با میزان ۲۱ میلی‌متر مشاهده شد. در غلظت 25 mg/ml نیز قطر هاله‌های مشاهده‌شده در سه سویه *S. aureus*، *S. epidermidis* و *S. haemolyticus* قابل ملاحظه و به ترتیب ۱۲، ۱۴ و ۱۱ میلی‌متر بود.

جدول ۱: قطر هاله‌های مهارتی (میلی‌متر) مشاهده‌شده در سویه‌های استاندارد مورد آزمون پس از قرار دادن دیسک‌های حاوی غلظت‌های

مختلف از دوده حاصل از سوختن عنبر نسارا

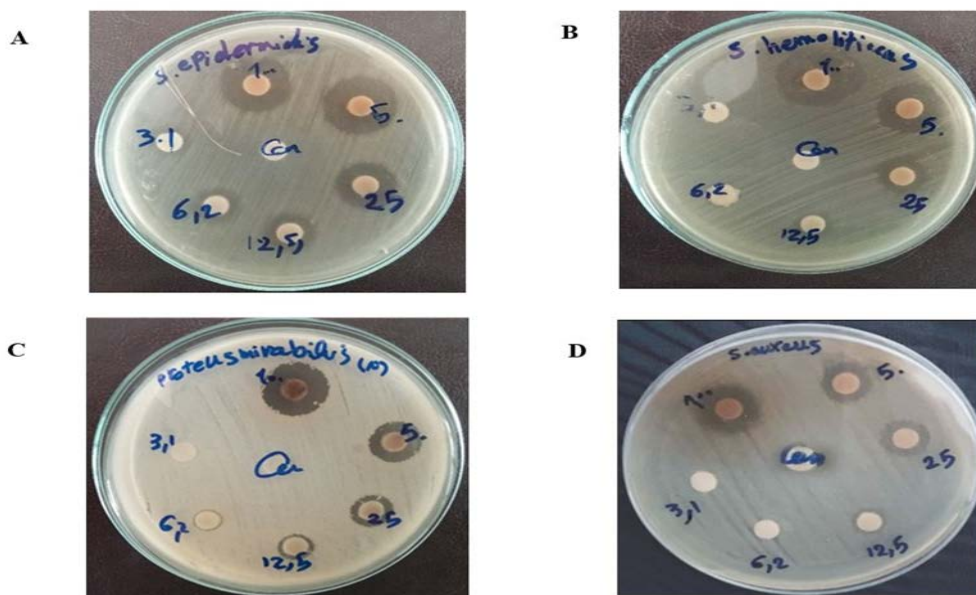
سویه‌های استاندارد	قطر هاله‌های مهارتی در غلظت‌های استفاده‌شده دود استخراج‌شده از عنبر نسارا (mg/ml)					
	۳/۱	۶/۲	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
<i>S. aureus</i> (PTCC 1112)	---	---	۸	۱۱	۱۴	۱۷
<i>Micrococcus luteus</i> (PTCC 1110)	---	۸	۱۱	۱۲	۱۶	۲۱
<i>Bacillus cereus</i> (PTCC 1015)	---	---	---	---	---	۱۱
<i>E. coli</i> (PTCC 1330)	---	---	---	---	---	۱۴
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (PTCC1053)	---	---	---	۱۱	۱۳	۱۸
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	---	---	---	---	---	۸

میلی‌متر مشاهده شد. در بقیه سویه‌ها نیز هاله مهارتی مشاهده نشد.

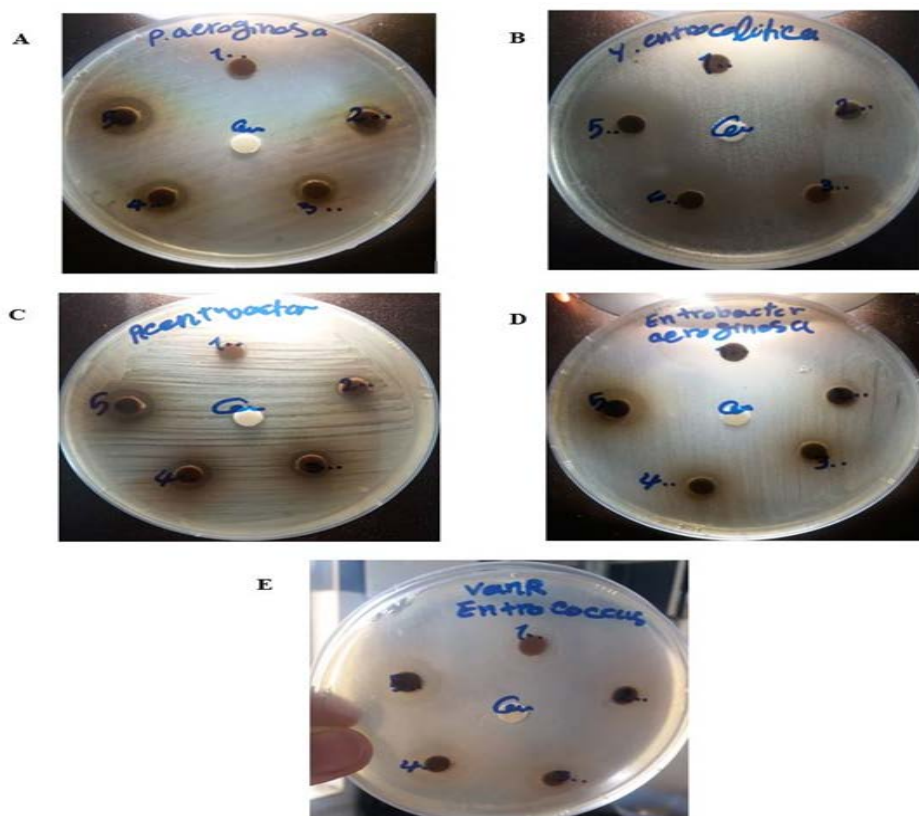
برای بررسی اثر غلظت‌های بالاتر دوده عنبر نسارا بر سویه‌هایی که در آنها در غلظت 100 mg/ml هم هاله مهارتی با قطر بسیار کم بود یا اصلاً هاله مهارتی مشاهده نشد، غلظت‌های $100-500 \text{ mg/ml}$ نیز تهیه شد و برای این غلظت‌ها نیز در باکتری‌های مقاوم آزمون مجدداً تکرار شد (شکل ۵).

در سویه‌های استاندارد گرم منفی مورد آزمون بیشترین قطر مهارتی در غلظت 100 mg/ml با قطر هاله مهارتی ۱۸ میلی‌متر در سویه *Klebsiella pneumoniae* مشاهده شد. کمترین قطر هاله در این سویه در غلظت 25 mg/ml با قطر هاله مهارتی ۱۱ میلی‌متر مشاهده شد. در سویه‌های استاندارد *E. coli* و *P. aeruginosa* نیز فقط در غلظت 100 mg/ml قطر هاله مهارتی به ترتیب ۱۴ و ۸ میلی‌متر مشاهده شد. (جدول ۱)

در سویه‌های گرم منفی جدا شده از بیماران بزرگ‌ترین قطر هاله مهارتی در سویه *Proteus mirabilis* در غلظت 100 mg/ml و میزان ۱۷ میلی‌متر مشاهده شد. در غلظت‌های پایین‌تر نیز هاله‌های مهارتی قابل ملاحظه در این سویه مشاهده شد (جدول ۲). در سایر سویه‌های گرم منفی جدا شده از بیماران فقط در *Yersinia enterocolitica* و *Acinetobacter baumannii* و فقط در غلظت 100 mg/ml قطر هاله مهارتی به ترتیب ۱۳ و ۸



شکل ۴. هاله‌های مهارتی ایجادشده در غلظت‌های (mg/ml) ۱۰۰ - ۳/۲ از دوده عنبرنسا را در سویه‌های جدا شده از بیماران
 A: *Staphylococcus aureus*. B: *Staphylococcus epidermidis*. C: *Staphylococcus haemolyticus*. D: *Proteus mirabilis*



شکل ۵. هاله‌های مهارتی ایجادشده در غلظت‌های (mg/ml) ۵۰۰ - ۱۰۰ از دوده عنبرنسا را در سویه‌های جدا شده از بیماران
 A: *Pseudomonas aeruginosa* B: *Yersinia enterocolitica* C: *Acinetobacter baumannii*
 D: *Enterobacter aerogenes* E: *Enterococcus vancomycin resistance*

در سویه *Enterococcus Van R* با افزایش غلظت و در غلظت‌های ۵۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ mg/ml به ترتیب هاله

مهراری با قطر ۱۱، ۱۴، ۱۵ و ۱۷ میلی‌متر مشاهده شد. در سایر سویه‌ها نیز با افزایش غلظت طبق جدول ۳ هاله مهراری مشاهده شد.

در سویه *P. aeruginosa* که از میکروارگانیزم‌های مقاوم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها است با افزایش غلظت، افزایش قطر هاله مهراری تا ۱۴ میلی‌متر در غلظت ۵۰۰ mg/ml مشاهده شد.

جدول ۲. قطر هاله‌های مهراری (میلی‌متر) مشاهده شده در سویه‌های جدا شده از بیماران پس از قرار دادن دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف از دوده حاصل از سوختن عنبر نسارا

سویه‌های جدا شده از بیماران	قطر هاله‌های مهراری در غلظت‌های استفاده شده دود استخراج شده از عنبر نسارا (mg/ml)					
	۳/۱	۶/۲	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
<i>S. aureus</i>	---	---	۹	۱۱	۱۲	۱۴
<i>S. epidermidis</i>	---	---	۸	۱۴	۱۶	۲۱
<i>S. haemolyticus</i>	---	---	---	۱۲	۱۴	۱۶
<i>Proteus mirabilis</i>	---	۸	۱۰	۱۲	۱۴	۱۷
<i>Enterobacter aerogenes</i>	---	---	---	---	---	---
<i>Yersinia enterocolitica</i>	---	---	---	---	---	۱۳
<i>Acinetobacter baumannii</i>	---	---	---	---	---	۸
<i>Enterococcus vancomycin R</i>	---	---	---	---	---	---

جدول ۳. قطر هاله‌های مهراری (میلی‌متر) مشاهده شده در سویه‌های جدا شده از بیماران پس از قرار دادن دیسک‌های حاوی غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ mg/ml از دوده حاصل از سوختن عنبر نسارا

سویه‌های جدا شده از بیماران	قطر هاله‌های مهراری در غلظت‌های استفاده شده دود استخراج شده از عنبر نسارا (mg/ml)				
	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۵۰۰
<i>Enterobacter aerogenes</i>	---	---	۹	۱۵	۱۷
<i>Yersinia enterocolitica</i>	۱۳	۱۶	۲۱	۲۵	۲۷
<i>Acinetobacter baumannii</i>	۸	۸	۱۰	۱۱	۱۳
<i>Enterococcus Van R</i>	---	۱۱	۱۴	۱۵	۱۷
<i>P. aeruginosa</i>	۸	۹	۱۰/۵	۱۲	۱۴

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از آن برای درمان بسیاری از عفونت‌ها از جمله عفونت‌های تنفسی، زخمی، سنگ کلیه، صرع و گزیدگی عقرب مرسوم است (۳، ۵، ۱۴).

حضور گونه‌های باکتریایی از جمله گونه‌های مختلف *E. coli*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*، *Enterobacter p. aeruginosa*, *Acinetobacter pneumoniae*، *Bacillus*، *Micrococcus aerogenes* و *Proteus mirabilis* در عفونت زخم‌های مزمن و به‌ویژه زخم‌های سوختگی و عفونت‌های تنفسی تأیید شده است (۱۵، ۱۶). در مطالعه شفعی و همکاران که با روش کروماتوگرافی *GC mass*، دوده حاصل از سوختن عنبر نسارا را تحلیل نموده‌اند وجود ترکیباتی چون هگزان، اسید استیک، آکونیتان، بتا کاروتن، دی متیل آمین را که همگی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی،

استفاده از داروهای گیاهی پیشینه بسیار طولانی در ایران و بسیاری از کشورها دارد. با این که در حال حاضر بیشتر داروها به‌صورت مصنوعی ساخته می‌شوند ولی بیش از یک‌سوم آنها منشأ گیاهی داشته و یا به‌نوعی با تغییراتی پس از استخراج از گیاهان تولید شده‌اند. یکی از راه‌های متداول برای استفاده از این گیاهان، سوزاندن آنها و استنشاق دود حاصل از آنها است. سوزاندن و استنشاق دود حاصل از گیاهان سبب تولید شدن ذرات بسیار کوچک و جذب بهتر ترکیبات حاصل از آنها خواهد شد. در طب سنتی ایران نیز استفاده از دودهای طبی بسیار تأکید شده است و استفاده از دود حاصل از سوختن سرگین الاغ ماده در بسیاری از شهرهای ایران به‌ویژه در استان‌های غربی به دلیل در دسترس بودن، ارزان بودن و سادگی

species مشاهده شد. در همین مطالعه سمیت نداشتن دود عنبرنسا را بر رده سلولی فیروپلاست L929 که یکی از رده‌های سلولی طبیعی است نیز گزارش شده است (۷). در مطالعه ما نیز اثرات آنتی باکتریال دوده حاصل از عنبرنسا را بر یک گونه *Enterococcus* مقاوم به ونکومایسین در غلظت‌های 200 mg/ml و بالاتر این ترکیب مشاهده شد.

در مطالعه پروین و همکاران در سال ۲۰۱۰ بخور مستقیم دوده عنبرنسا را بدون حضور حلال به مدت ۶ ثانیه سبب ایجاد هاله مهاری در سویه‌های *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* شد (۱۴). در مطالعه ما نیز که پس از جمع آوری دوده و حل کردن آن در حلال دی متیل سولفوکساید و استفاده از غلظت‌های مختلف این عصاره انجام شد در سویه‌های *Staphylococcus aureus* استاندارد و جدا شده از بیماران در غلظت‌های پایین این ترکیب هاله مهاری مشاهده شد در حالی که با روش به کار گرفته شده در مطالعه ما در سویه *Pseudomonas aeruginosa* در غلظت‌های بالای 100 mg/ml از این عصاره هاله مهاری مشاهده شد. مطالعات نشان داده‌اند که سوزاندن عنبرنسا را و استفاده مستقیم از دود آن در افزایش نفوذپذیری سلول‌ها مؤثر است (۶) شاید مشاهده هاله مهاری پس از دوددهی در این زمان کوتاه در مطالعه پروین و همکاران به این دلیل باشد.

در این مطالعه به ازای هر گرم عنبر نسا را $7/45 \pm 1/4$ میلی گرم دوده حاصل شد. در هر بار استفاده از عنبر نسا را به صورت رایج حدود ۳۰-۲۰ گرم از این فرآورده سوزانده می‌شود که بر این اساس طبق نتایج حاصل از این مطالعه به ازای این مقدار عنبرنسا حدود ۱۵۰ میلی گرم دوده حاصل می‌شود که مطابق نتایج آنتی باکتریال به دست آمده در این آزمون مقدار مناسب برای رفع این عفونت‌ها است.

ضدقارچی و ضد التهابی هستند گزارش نموده‌اند. هم-چنین گزارش شده است که هیدرولیز عنبرنسا را تولید لیگنین می‌کند که سبب مهار رشد باکتری‌ها می‌شود (۶). صفیپور دهکردی و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز علاوه بر گزارش حضور زایلون، گایاکول، سرینگول و لیمونن در دوده عنبرنسا اثرات درمانی این دوده را در کاهش اندازه و درمان زخم در موش صحرایی گزارش نموده‌اند. در این مطالعه تأکید شده است که اثر آنتی باکتریال دوده عنبرنسا بر دو میکروارگانیسم اصلی موجود در عفونت‌های زخمی (*S. aureus* و *P. aeruginosa*) سبب افزایش سرعت در روند بهبود زخم است (۳، ۱۷).

در مطالعه ما نیز اثرات آنتی باکتریال دود عنبر نسا را بر ۶ سویه استاندارد و ۸ سویه جدا شده از بیماران بررسی شد و اثرات آنتی باکتریال این ترکیب در گونه‌هایی از این باکتری‌ها تأیید شد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۹ توسط احمدیان و همکاران روی اثرات آنتی باکتریال عصاره حاصل از دود عنبر نسا بر دو باکتری *S. aureus* و *E. coli* با روش انتشار در آگار انجام شده بود نیز در غلظت 20 mg/ml به ترتیب هاله مهاری با قطر ۱۱ و ۹ میلی‌متر مشاهده شد.

در مطالعه ما که با روش انتشار از دیسک انجام شد علاوه بر مشاهده هاله مهاری در حدود این غلظت یعنی 25 mg/ml در غلظت کمتر یعنی در $12/5 \text{ mg/ml}$ نیز قطر هاله مهاری با اندازه ۸ میلی‌متر در سویه استاندارد *S. aureus* و با قطر ۹ میلی‌متر در سویه *S. aureus* جدا شده از بیماران مشاهده شد. در مطالعه ما در سویه *E. coli* در غلظت 100 mg/ml هاله مهاری ۱۴ میلی‌متر مشاهده شد. تفاوت در این دو مطالعه ممکن است به دلیل تفاوت رژیم غذایی دام و تفاوت در زمان جمع‌آوری عنبر نسا باشد (۳). در مطالعه شفیع و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثرات آنتی باکتریال محلول ۲ درصد عنبر نسا را در دو گونه *Enterococcus faecalis* و *sanguinis Streptococcus*

و در دسترس عفونت‌ها استفاده کرد. با این حال مطالعات جامع‌تر در این حیطه ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسنده مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از مدیران شرکت یخ‌سازی بوئین‌زهره برای در اختیار گذاشتن آزمایشگاه میکروبیولوژی این شرکت برای انجام آزمون‌های این پژوهش، استاد ارجمند خانم دکتر حمیده افقی برای راهنمایی‌های بی‌دریغ ایشان و سرکار خانم عیوبی، مسئول بخش میکروبی آزمایشگاه تشخیص طبی شمس ابراز می‌دارد.

با وجود تنوع زیاد داروهای صنعتی و با توجه به تأثیرگذار نبودن بسیاری از این داروها به دلیل وجود مقاومت میکروبی به آنها هنوز هم در بسیاری از کشورها و به‌ویژه در ایران از داروهای سنتی به‌ویژه دوده‌های طبی استفاده زیادی می‌شود. لذا مطالعات بیشتر در این رابطه و اطلاع‌رسانی برای استفاده از مقدار مناسب این داروها ضروری به نظر می‌رسد. وجه تمایز این مطالعه با مطالعات پیشین بررسی اثرات آنتی باکتریال دود حاصل از عنبر نسا را علاوه بر سویه‌های استاندارد بر سویه‌های جدا شده از زخم و ادرار بیماران است.

مواد دارویی بر پایه دود حاصل از ترکیبات مختلف فرصت‌های جدید مطالعاتی برای معرفی و تهیه داروهای جدید است. نتایج حاصل از این مطالعه اثرات آنتی باکتریال دوده عنبرنسا را بر باکتری‌های دخیل در عفونت‌ها را تأیید کرد با توجه به مطالعات پیشین و نداشتن سمیت این ترکیب بر سلول‌های طبیعی به نظر می‌رسد، طبق نظر طبای قدیمی می‌توان از این ترکیبات با رعایت شرایط مناسب مانند جمع‌آوری در فصل بهار که تنوع گیاهان دارویی در زمان چرای دام بیشتر است، برای درمان ساده

References

1. Belete T M. Novel targets to develop new antibacterial agents and novel alternatives to antibacterial agents. *Human Microbiome Journal*. 2019; 11(100052): 1-10.
2. Frieri M, Kumar K, Boutin A. Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*. 2017; 2017(10): 369-378.
3. Ahmadian-Attari M M, Amrollahi Z, Momeni P S, Khodaii Z, Biti A, Bozorgi A H. Chemical constituents of donkey dung (Anbarnasara): questioning the recent claims concerning therapeutic effects. *International Journal of Enteric Pathogens*. 2019; 7(1): 19-22.
4. Mahdy GB, Huang Y, Doyle BJ, Lovkler T. Natural products as antibacterial agents. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2008; 35: 423-444.
5. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Shams-Ardakani M, Ghasemi Y. Medicinal smokes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 2006(108): 161-184.
6. Shafiee H A, Moravej-Salehi E. Anbarnasa: the past tradition, the future medicine. *Iran Red Crescent Med J*. 2015; 17(2): 1-4.
7. Shafiee H A, Motamedi M H K, Mina M, Taheri J B, Azimi S, Joharchi K, et al. Evaluation of cytotoxic effects of Anbarnasa on fibroblast L929: Can it be used as a mouthwash? *Ancient Science of Life*. 2014; 33(4): 203-207.
8. Khorasani M H A. *Makhzan Adviya*., First edition, Iran, Deputy Minister of Research and Technology of the Ministry of Health, 1387; p: 363. Persian.
9. Razi M Z. *Al, Hawi Series*. Volume 20. Tehran; Publications of the Academy of Medical Sciences.; 2005; p: 310-317.
10. Ebne Sina HA. *Ganon of Medicine*; Ninth edition, Tehran; Soroush Publications: 1978; p: 165
11. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Ghasemi Y. Analysis of mount atlas mastic smoke: A potential food preservative. *Fitoterapia*. 2010; 81: 577-580.
12. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; Twenty-Fifth edition, Informational Supplement. www.clsi.org standard@clsi.org
13. Razmavar S, Abdulla M A, Ismail S B, Hassandarvish P. Antibacterial activity of leaf extracts of *Baeckea frutescens* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*. 2014; 2014: 1-5.
14. Parvin N, Validi M, Banitalebi M, Mobini G, Ashrafi K, Farrokhi E, et al. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. *The Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2010; 12(2): 76-84.

15. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound Microbiology and associated approaches to wound management. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001; 14(2): 244-269.
16. Salari M. Pathogen bacteria isolated from patients suspected to suffer pulmonary infection. *Tehran University Medical Journal*. 1997; 55(5): 17-21.
17. Safarpour Dehkordi F, Tirgir F, Valizadeh Y. Effects of Guajol ((R)) ointment synthesized from medicinal smoke condensate of jennet feces on burn wound healing on Wistar rat. *Veterinary Research Forum*. 2017;8(3):215-221.

Evaluation of antibacterial effects of Female Donkey Dung (Anbarnasara) on isolated from urine and infectious wounds of patients

Akbarizare M^{1*}

1. PhD in microbiology, Department of biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran, Mahboobeh_akbarizare@yahoo.com

Received: 11 Nov 2020

Accepted: 14 Dec 2020

Abstract

Background: The use of medicinal smokes is common in more than 50 countries and accepted in traditional medicine and among people.

In Iranian culture, according to ancient physicians such as Avicenna and Zakaria al-Razi, the use of smoke such as Spand (*Peganum harmala*) and female donkey dung (Anbarnasara) is common as a medicinal combination to treat Sinusitis and Vaginitis also wound infection, eyes and anal infections. This study aims to investigate the opinions of ancient physicians about the effect of Anbarnasara smoke on bacteria isolated from the wound, eye, and sinuses infections.

Materials and Methods: Smoke from burning Anbarnasara was collected in 50% methanol. The antibacterial effects of various concentrations (3.2-100 mg/ml) of the collected smoke were investigated by the disk diffusion method on 6 standard bacteria and 8 bacteria isolated from patients.

Results: The largest zone of inhibition was observed in 100 mg/ml with 12 mm in *Micrococcus luteus* a Gram-positive standard strain and 18 mm in *Klebsiella pneumoniae*. a Gram-negative standard strain. In the same concentration, among gram-positive bacteria isolated from patients, the highest zone of inhibition with 21 mm was observed in *S. epidermidis* and among gram-negative bacteria isolated from patients, the largest zone of inhibition with 17 mm was observed in *Proteus mirabilis*.

Conclusion: Due to the observed antibacterial effects of smoke from burning Anbarnasara in the bacterial strains, which often causes infection in wound, eyes, and sinuses infections, according to the opinions of ancient physicians, this combination can be used to eliminate these infections.

Keywords: Medicinal smokes, Anbarnasara, Antibacterial effects, Infection.

***Citation:** Akbarizare M. Evaluation of antibacterial effects of Female Donkey Dung (Anbarnasara) on isolated from urine and infectious wounds of patients. *Yafte*. 2021; 22(4):84-95.