Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 18:05 +0330 on Saturday September 23rd 2017

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۲۱۴ تا ۲۱۸

مقاله اصلی
(Original Article)

مقایسه تاثیر گیاه همیشه‌بهار با سفالوسپورین‌ها بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت

دکتر گیتا اسلامی[۱]، سودابه طاهری[۱]،دکترفاطمه فلاح[۱]، دکتر حسین گودرزی[۱]،دکتر سید عبدالمجید آیت‌اللهی[۲]، دکتر راضیه زارع مهذبیه*[۳]

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

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مهار کننده سنتز دیواره سلولی به علت حضور بتالاکتاماز، عدم حضور گیرنده‌های پنی‌سیلین و ناتوانی داروهای بتالاکتام در فعال‌سازی آنزیم‌های اتولیتیک دیواره سلول باکتری، به منظور مقایسهٔ اثر آنتی‌باکتریال گیاه همیشه بهار با سفالوسپورین‌ها که جزء مهارکننده‌های سنتز دیواره سلولی هستند، بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت، این مطالعه انجام شد.*

روش بررسی: *تحقیق با طراحی تجربی بر روی ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به سلولیت انجام شد. گل همیشه بهار به روش پرکولاسیون با حلال متانول ۸۵ درصد عصاره گیری شد. حلال به وسیله روتاری تبخیر و به وسیله دستگاه لیوفیلیزه گردید. اثر ضدباکتریایی عصاره با دو روش دیسک دیفیوژن و MIC بررسی شد و به همراه ۵ دیسک آنتی‌بیوتیک‌های سفیکسیم، سفالکسین، سفتریاکسون، سفتی‌زوکسیم و سفازولین هاله‌های عدم رشد حاصل از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با عصاره تام برحسب نوع باکتری مقایسه گردید. داده‌های بین گروه‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی مقاومت با آزمون ANOVA و در داخل گروه‌ها با آزمون t زوجی مورد قضاوت آماری قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *استرپتوکوک‌ها، آنتروکوک فکالیس، استافیلوکوک، MRSA و استافیلوکوک ساپروفیتیکوس به رقت ۱/۱۲۸ عصاره در آزمایش MIC حساس بودند. در آزمایش دیسک دیفیوژن، استرپتوکوک‌ها و آنتروکک فکالیس به عصاره ۱۰۰ درصد حساس و استافیلوکوک ساپروفیتیکوس در برابر عصاره مشابه سفتی‌زوکسیم حساسیتی معادل ۵۰ درصد داشت. استافیلوکوک MRSA نسبت به عصاره حساسیت معادل ۱۰۰ درصد داشت و باکتری‌های گرم منفی مانند پروتئوس، ای‌کلای، کلبسیلا، سراشیا و سودوموناس در برابر این عصاره مقاوم بودند.* اختلاف معنی‌داری بین کاربرد عصاره گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی وجود داشت ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که عصاره گل همیشه بهار همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان سلولیت می‌تواند کاربرد داشته باشد.*

واژگان کلیدی: *مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سفالوسپورین، عصاره گل همیشه بهار، سلولیت، باکتری‌های گرم مثبت.*

مقدمه

مسئله و دغدغه در درمان آنتی‌بیوتیکی، مقاومت و پس از آن عوارض جانبی می‌باشد. بر این اساس، پس از انجام تحقیقات بر روی اثرات گیاهان، بشر اقدام به بهره‌گیری از آنها در صنایع مختلف نموده است (۱). اکثر داروهای شیمیایی با تقلید از داروهای گیاهی، اما به صورت مصنوعی، در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه می‌شوند. تخمین زده می‌شود که دست کم یک‌سوم از کلیه فرآوردهای مورد مصرف، منشاء گیاهی دارند (۲). سلولیت عفونت لایه‌های عمقی‌تر پوست است که تمایل دارد تا اندام‌های تحتانی را درگیر نماید، زیرا در این محل رکود

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم دارویی، دکتر راضیه زارع مهذبیه
(**e-mail:** g_eslami@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۲/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۷/۱۹

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 18:05 +0330 on Saturday September 23rd 2017

جریان خون وریدی زمینه‌ساز عفونت خواهد بود. بزرگی غدد لنفاوی و وجود خطوط لنفاوی موید تشخیص سلولیت است و منشاء عفونت باکتریایی ممکن است از طریق ترک‌ها، خراش‌ها، بریدگی‌ها، سوختگی‌ها، محل نیش حشرات، برش‌های جراحی و کاتترهای داخل عروقی وارد اپیدرم شوند. در اغلب موارد سلولیت اندام تحتانی به علت باکتری‌های اندوژن فلور پوست و ضمائم پوست مثل استرپتوکوک‌های بتاهمولیتیک گروه A و استاف اورئوس و تعداد زیادی از باکتری‌های اگزوژن ایجاد می‌شود که امروزه این باکتری‌ها مقاومت دارویی پیدا کرده‌اند و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از معضلات درمان به شمار می‌آید (۵-۳). درد و حساسیت غیرطبیعی به لمس، ادم، اریتم، پوست گرم، تب و لرز و احساس سرما همراه با تکان‌های شدید بدن از عوارض شایع سلولیت هستند. از دست دادن کلی وزن بدن و ضعف شدید جسمانی، به خصوص در اثر بیماری‌های مزمن، دیابت، بیماری‌های عروق محیطی، سوءتغذیه، زخم‌های آلوده، سیستم ایمنی تضعیف شده، عفونت عمومی، سینوزیت، اوتیت مدیا، اپی‌گلوتیت به ویژه در کودکان، لنفادم، گازگرفتگی حیوانات و جراحی وریدی از عوامل افزایش دهنده خطر ابتلا به سلولیت هستند (۸-۶). گل گیاه همیشه بهار با نام لاتین *Calendual officinalis L.* و نام‌های رایج Marigold و pot Marigold از خانواده *Asteraceae (Att. compositae)* می‌باشد که به علت دارا بودن ترکیبات شیمیایی از قبیل فلاوونوئیدها، ساپونین‌ها، کاروتنوئیدها، تری‌ترپنوئیدها و تانن‌ها با خاصیت آنتی‌باکتریال جهت مقایسه با سفالوسپورین ها مورد استفاده قرار گرفته است (۱۱-۹).

گزارش شده که عصاره این گیاه به علت داشتن برخی مواد، خاصیت آنتی‌باکتریال دارد (۱۷-۱۲). به منظور این که آیا این گیاه می‌تواند بر روی باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت مانند آنتی‌بیوتیک‌های بکار رفته موثر باشد، این تحقیق در سال ۱۳۸۸ و در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. برداشت گل همیشه بهار از اواسط تا اواخر بهار به محض باز شدن گل‌ها و قبل از تشکیل بذر از مزرعه تحقیقاتی انجام شد و پس از جمع‌آوری گل‌ها، آنها خشک و آسیاب شدند (۱۸،۲) و به روش پرکولاسیون با حلال متانول ۸۵ درصد عصاره‌گیری انجام شد. بعد از عصاره‌گیری، حلال به وسیله روتاری تبخیر و به وسیله دستگاه لیوفیلیزه شد. اثر ضدباکتریایی عصاره با دو روش دیسک دیفیوژن و MIC بر باکتری‌های جدا شده از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سلولیت بررسی شد که تکرارپذیری در باکتری‌های گرم مثبت، ۱۹ و در باکتری‌های گرم منفی، ۱۲ بود. مراحل انجام کار در روش دیسک دیفیوژن با خیساندن دیسک‌های بلانک در عصاره تام و قرار دادن آنها روی محیط مولرهینتون آگار که باکتری‌ها با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند کشت داده شده بودند به همراه پنج دیسک آنتی‌بیوتیک‌های سفیکسیم، سفالکسین، سفتریاکسون، سفتی زوکسیم و سفازولین انجام شد و هاله‌های عدم رشد حاصل از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با عصاره تام مقایسه گردید و نتایج به صورت حساس، متوسط و مقاوم گزارش شدند.

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

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

۰/۵ میلی‌لیتر نمونه را توسط پی‌پت استریل کشیده به لوله شماره ۱ اضافه و لوله را به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس Shake کردیم. پس از یکنواختی محیط، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول در لوله آزمایش شماره ۱ را برداشته و به لوله آزمایش شماره ۲ منتقل و پس از مخلوط کردن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول شماره ۲ به لوله شماره ۳ و بالاخره تا لوله آخر ادامه یافت. در نهایت، ۰/۵ میلی‌لیتر از لوله شماره ۷ را کشیده و دور ریختیم. رقت‌های مورد نظر در بالا به دست آمد. ۰/۱ میلی‌لیتر باکتری مورد نظر را در هر لوله ریخته، به مدت ۳۰ ثانیه در ورتکس Shake و بعد از گذشت مدت زمان مقرر به تعداد لوله‌ها پلیت حاوی محیط مولر هینتون تهیه و شماره هر لوله را روی پلیت مربوط به آن نوشتیم و کنار شعله توسط آنس یک لوپ پر از محتوی لوله را برداشته به صورت زیگزاگ در پلیت مربوط به هر رقت کشت دادیم. در هر بار آزمایش، برای یک سوش باکتریایی، ۷ لوله مربوط به عصاره بودند (۲۰،۱۹). در نتیجه، MICهای عصاره بر حسب نوع باکتری به دست آمد.

داده‌های بین گروه‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی مقاومت با آزمون ANOVA و در داخل گروه با آزمون t زوجی مورد قضاوت آماری قرار گرفت و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.

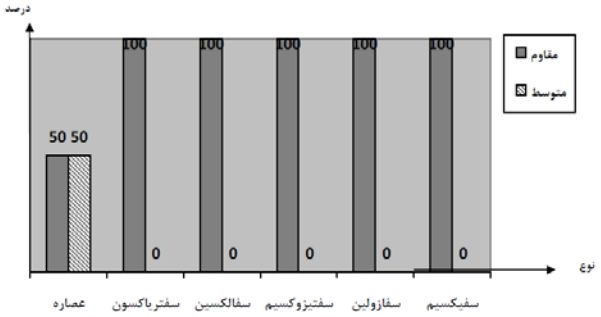
Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 18:05 +0330 on Saturday September 23rd 2017

یافته‌ها

تحقیق در ۱۰۰ نمونه آماری با ۱۹ تکرار در گرم مثبت‌ها و ۱۲ تکرار در گرم منفی‌ها انجام شد و نشان داد که عصاره گل همیشه بهار بر باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک‌ها و آنتروکوک) موثرتر از باکتری‌های گرم منفی است. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین کاربرد سفیکسیم (P>۰/۰۵)، سفالکسین (P=۰/۶) و سفتریاکسون (P=۰/۰۶) بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی وجود نداشت، در حالی که بین سفازولین (P=۰/۰۲)، سفتی‌زوکسیم (P=۰/۰۲) و عصاره گل همیشه بهار (P<۰/۰۰۱) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. با مشاهدهٔ قطر هاله‌های عدم رشد در به کارگیری عصاره گیاه در باکتری‌های گرم مثبت و منفی اختلاف معنی‌داری به دست آمد (P<۰/۰۰۱). مقایسهٔ قطر هاله‌های عدم رشد باکتری‌های گرم منفی بین کاربرد گروه‌های آنتی‌بیوتیکی سفیکسیم و سفتی‌زوکسیم (P=۰/۸)؛ سفازولین و سفتی زوکسیم (P=۰/۰۶)، سفازولین و سفتریاکسون (P=۰/۰۷)، سفتی-زوکسیم و سفالکسین (P=۰/۰۷)، سفتی‌زوکسیم و سفتریاکسون (P=۰/۶) و سفالکسین و سفتریاکسون (P=۰/۰۸) اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. هم چنین مقایسهٔ قطر هاله‌های عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت بین کاربرد مجموعه‌های سفازولین و سفتی‌زوکسیم (P=۰/۲)، سفازولین و عصاره (P=۰/۳)، سفتی‌زوکسیم و سفالکسین (P=۰/۶)، سفتی‌زوکسیم و سفتریاکسون (P=۰/۳)، سفتی‌زوکسیم و عصاره (P=۰/۷)، سفالکسین و سفتریاکسون (P=۰/۲) سفالکسین و عصاره (P=۰/۶) و سفتریاکسون و عصاره (P=۰/۷) اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

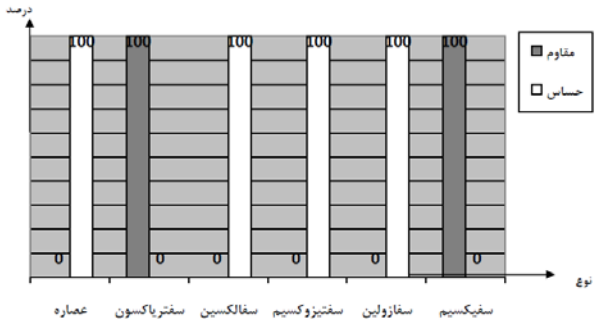
استرپتوکوک‌ها و آنتروکوک فکالیس و استافیلوکوک اورئوس (MRSA) و استافیلوکوک ساپروفیتیکوس به رقت ۱/۱۲۸ عصاره در آزمایش MIC حساس بودند و در آزمایش دیسک دیفیوژن این سوش‌ها به عصاره ۱۰۰ درصد حساس بودند. به جز استافیلوکوک ساپروفیتیکوس که در برابر عصاره مشابه سفتی‌زوکسیم حساسیت ۵۰ درصد داشت، باکتری‌های گرم منفی مانند پروتئوس، ای‌کلای، کلبسیلا، سراشیا و سودوموناس در برابر عصاره مقاوم بودند.

درصد تاثیر دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج و عصاره گل همیشه بهار بر روی رشد آنتروکوک فازیوم از بیماران مبتلا به سلولیت بیانگر آن است که این باکتری در آزمایش دیسک دیفیوژن در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها ۱۰۰ درصد مقاومت و در برابر عصاره ۵۰ درصد مقاومت و ۵۰ درصد حساسیت متوسط داشت (نمودار ۱).



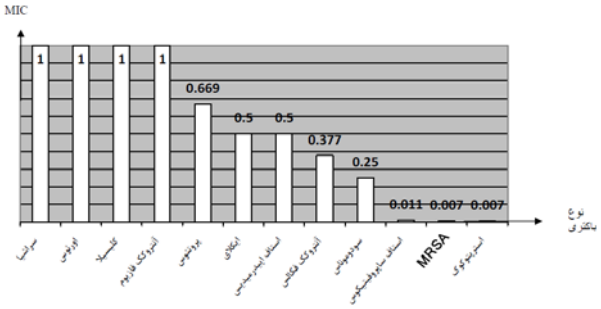
نمودار ۱- میزان مقاومت آنتروکوک فازیوم جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت در برابر عصاره گل همیشه بهار و آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده

درصد تاثیر دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج و عصاره گل همیشه بهار بر روی رشد MRSA از بیماران مبتلا به سلولیت نشان داد که باکتری در برابر سفتریاکسون و سفیکسیم مقاوم است (نمودار ۲).



نمودار ۲- درصد تاثیر دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج و عصاره گل همیشه بهار بر روی رشد MRSA از بیماران مبتلا به سلولیت

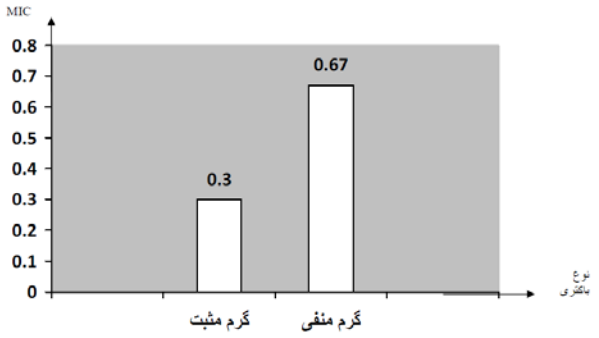
MIC عصاره بر حسب نوع باکتری‌ها در نمودار ۳ ارائه شده است و نشان می دهد که MIC در سراشیا و اوورئوس و کلبسیلا و آنتروکک فازیوم بیشترین (۱) و در استرپتوکوک کمترین میزان است (۰/۰۱).



نمودار ۳- MIC عصاره گل همیشه بهار به تفکیک بر روی رشد باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 18:05 +0330 on Saturday September 23rd 2017

نمودار ۴، MIC عصاره گل همیشه بهار را بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت نشان می‌دهد.



نمودار ۴- MIC عصاره گل همیشه بهار به تفکیک باکتری‌های گرم مثبت و منفی جدا شده از بیماران مبتلا به سلولیت

بحث

تحقیق نشان داد که عصاره گل همیشه بهار دارای خواص آنتی‌باکتریال است و در تحقیقات انجام شده توسط خانم دکتر اسلامی و همکارانش از دانشکده پزشکی دانشگاه شهید بهشتی تهران در سال ۲۰۰۵ که بر روی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی حاصله از باکتری‌ها در بیماران مبتلا به عفونت‌های پوستی انجام گرفت (۱۲)، شباهات زیادی به دست آمد. تحقیقات Prethi K. و همکارانش در سال ۲۰۰۸ بر روی سوختگی و آسیب‌های پوستی با به کارگیری عصاره همیشه بهار بود (۱۳) که با استفاده از همین عصاره به اثرات مشابه آن بر روی ناهنجاری‌های پوستی دست یافت

اثرات قابل توجه عصاره گیاه بر روی ناهنجاری‌های پوستی توسط غروی و همکارانش در سال ۱۳۸۱ مشابه اثرات به دست آمده این تحقیق بر روی باکتری‌های مشابه مولد سلولیت بوده است (۱۴). لازم به ذکر است که سایر محققین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، ضدالتهابی، ضد توموری این عصاره را گزارش کرده‌اند (۱۷-۱۵) و این تحقیق در راستای تکمیل این اثرات به بررسی خواص آنتی‌باکتریال عصاره گیاه پرداخته است.

رویش گیاه همیشه بهار در نواحی خاص و دسترسی به گل و تهیه عصاره در فصول خاصی امکان پذیر است، همین‌طور برداشت گیاه برای عصاره‌گیری در کلیهٔ نمونه‌ها باید هم‌زمان صورت بگیرد که مشکلاتی برای این تحقیق محسوب می‌شود و نیز حضور میکروارگانیسم‌هایی غیر از سوش‌های مورد بررسی به علت انواع آلودگی ها محدودیت‌هایی را موجب می‌شود.

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

به نظر می‌رسد عصاره گل همیشه بهار به همراه آنتی‌بیوتیک‌ها در سلولیت بر باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا تاثیر دارد.

قدردانی و تشکر

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

REFERENCES

1. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Sage leaf. In: Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J, eds. Herbal medicine. Newton: Integrative Medicine Communications; 2000. p.330-32.
2. Zargari A, ed. Medicinal plants. 4th edition. Tehran: Tehran University Publications; 1988. p.188-91. [In Persian]
3. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, eds. Harrison's principles of internal medicine. Mohaghegh Nazaar S, Farhoodi B, Ansari SH, Naderi Fard M, Akhavan N, Translator. Tehran: Tabib Publication; 2005. p.103-104. [In Persian]
4. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Griggs RC, Loscalzo J, eds. Cecil essentials of medicine. Haji Karim B, Naderi Fard M, translators. Tehran: Tabib Publication; 2004. p.137-38. [In Persian]
5. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, Brooks G, Butel J, Morse S, eds. Jawetz, Melnick and Adelberg medical microbiology. Karimzadeh H, Raftari A, Traslators. Tehran: Farhang Parvar Publication; 1996. [In Persian]
6. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious disease. 4th ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995. p.913-19.
7. Moschella SL, Hurley HJ, eds. Dermatology. 3rd ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co; 1992. p.183-732.

8. Saver GC, ed. Manual of skin diseases. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott; 1991. p.158.

9. Salehi Sourmaghi MH, ed. Medicinal plants and treatment by plants. Tehran: Donyae Taghzieh Publication; 2006. p.367-69. [In Persian]

10. Zahedi A, ed. Names of plants dictionary. Tehran: Tehran Publication; 1998. [In Persian]

11. Mozaffarian V, ed. Names of plants dictionary. Tehran: Farhang Moaser Publication; 1996. p.91. [In Persian]

12. Eslami G, Fallah F, Gudarzi H, Navidinia M. The prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria isolated from patients with skin infections. Gene Ther Mol Biol 2005; 9: 263-68.

13. Chadron PK, Kuttan R. Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, ante oxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. Clin Biochem Nutr 2008; 43: 58-64.

14. Gorobi M, Ghasemi N, Khouee M, ed. Cream formulation for treatment of skin disorders. Tehran: Chehr Publication; 2002. p.79-81. [In Persian]

15. Hamburger M, Adler S, Baumann D, Förg A, Weinreich B. Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from marigold (*calendula officinalis*). Fitotherapia 2003; 74: 328-38.

16. DeTommasi N, Pizza C, Conti C, Orsi N, Stein ML. Structure and in vitro antiviral activity of Sesquiterpene glycosides from *Caleudula arvensis*. Net Prod 1990; 53: 830-35.

17. Jimenez Medina E, Garcia-Lora A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F. A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: cytotoxic anti tumor activity and lymphocyte activation. BMC Cancer 2006; 6: 119.

18. Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases. Available from: http://www.ars-grin.gov/duke. Accessed at: May 26, 2008.

19. Omidbeigi R, ed. Production and processing of medicinal plants. Tehran: Tarahan Publications; 1995. p.191-99. [In Persian]

20. Hornok L, ed. Cultivation and processing of medicinal plants. Budapest: Akadémiai Kiadó; 1992. P.407.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 18:05 +0330 on Saturday September 23rd 2017