Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2023; Vol. 47; No. 4

The Synergism Effects of Cercomin Nanoparticles on Antibacterial Action of Amikacin, Rifampin and Mropenem Antibioticsagainst Pseudomonas Aeruginosa Resistant to Multiple Drugs

Seyyed Reza Hoseinidoust[1], Negar Kazemi Motakef[2], Bahare Khazrai[3*], Alireza Tajik[4], Manuchehr Bashirynejad[5], Samaneh Ahmadi[6], Minoosh Shabani Barzegar[7]

1. Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Department of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Medical Practitioner, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5. Department of Pharmaceutical Economics and Management, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
6. Department of Scientometrics, Loghman Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7. Department of Infectious Disease, School of Medicine, Loghman Hakim Hospital Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: October 13, 2020; Accepted: October 15, 2023

Abstract

Background and Aim: Resistance to various antibiotics is one of the most problematic hospital complications and a mortality cause. Curcumin or diferuloylmethane is a strong antioxidant present in turmeric, and its antibiotic properties have attracted the attention of researchers. Also, this substance can penetrate other molecules. This research aims to investigate the synergistic effect of curcumin with three antibiotics rifampin, meropenem, and curcumin against Pseudomonas aeruginosa.

Methods: In this experimental study, curcumin was extracted at concentrations of 20, 40, 80, and 100 µg/ml. Antibiotics rifampin, meropenem, and amikacin were extracted at the same concentrations and their effect on the mean and standard deviation of the growth halo of Pseudomonas aeruginosa bacteria was investigated. Finally, a combination of antibiotics and curcumin in ratios of 75:25, 50:50 and 25:75 was made its effect on the mean and standard deviation of the halo diameter of non-growth of Pseudomonas aeruginosa bacteria was investigated. In this study, the Kolmogorov-Smirnov test was used to determine whether the data were parametric or non-parametric, and then, according to the results of the Kolmogorov-Smirnov test, the mean comparison test was used.

Results: By increasing the ratio of curcumin and antibiotics, the mean and standard deviation of the diameter of the non-growth halo against Pseudomonas aeruginosa increased compared to the antibiotic alone (rifampin- curcumin P-value = 0/033, meropenem- curcumin P-value = 0/006, amikacin- curcumin P-value = 0/003). Also, with the increase of the amount of antibiotic and this ratio reached 25:75 (respectively curcumin: antibiotic), the mean and standard deviation of the diameter of the non-growth halo against Pseudomonas aeruginosa increased more strongly. The non- growth halo of antibiotics rifampin, meropenem, and amikacin alone were 8/88 ± 0.0 mm, 31/11 ± 0/1 mm, 32/29 ± 0/0 mm, respectively, and in combination with curcumin were 24/5 ± 2/8 mm, 47/6 ± 0/7 mm, 49/8 ± 1/4 mm, respectively (all P-values less than 0/05).

Conclusion: Curcumin has a synergistic effect on the activity of rifampin, meropenem and amikacin antibiotics, and with increasing curcumin ratio, its effectiveness increases.

Keywords: Cercomin; Amikacin; Rifampin; Mropenem; Pseudomonas aeruginosa

Please cite this article as: Hoseinidoust SR, Kazemi Motakef N, Khazrai B, Tajik A, Bashirynejad M, Ahmadi S, Shabani Barzegar M. The Synergism Effects of Cercomin Nanoparticles on Antibacterial Action of Amikacin, Rifampin and Mropenem Antibioticsagainst Pseudomonas Aeruginosa Resistant to Multiple Drugs. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(4):61-70.

[*]**Corresponding Author:** Bahare Khazrai; **Email:** baharekhazrai@gmail.com

Department of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۷، شماره ۴، سال ۱۴۰۲ شمسی، صفحات ۶۱ تا ۷۰

اثر سینرژیسم نانوذرات کورکومین برفعالیت آنتی‌بیوتیکی آمیکاسین، ریفامپین و مروپنم علیه سودوموناس آیروژینوزا مقاوم به چند دارو

رضا حسین‌دوست[۱]، نگار معتکف کاظمی[۲]، بهاره خضرایی[۳*]، علیرضا تاجیک[۴]، منوچهر بشیری‌نژاد[۵]، سمانه احمدی[۶]، مینوش شعبانی برزگر[۷]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- گروه داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴- دکترای حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۵- بخش مدیریت و اقتصاد دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۶- واحد علم سنجی، بیمارستان لقمان حکیم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۷- گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، بیمارستان لقمان‌حکیم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو، به آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی مقاومت دارد و یکی از مشکل‌زا ترین عفونت‌های بیمارستانی است که با عوارض و مرگ و میر همراه است. کورکومین یا دی فرولوئیل متان یک آنتی‌اکسیدان قوی است که در زردچوبه وجود دارد و خواص آنتی‌بیوتیکی آن توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. این ماده می‌تواند در مولکول‌های دیگر نفوذ کند؛ از این رو مورد توجه پژوهشگران در زمینه‌های درمانی و پزشکی قرار گرفته است. این پژوهش قصد دارد تا اثر سینژیک کورکومین را با سه آنتی‌بیوتیک ریفامپین، مروپنم و کورکومین علیه باکتری سودوموناس آیروژینوزا بررسی کند.

روش کار: در این مطالعه تجربی، کورکومین در غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌گیری شد. از آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، مروپنم و آمیکاسین نیز در همین غلظت‌ها عصاره‌گیری به عمل آمد و اثر آنها بر میانگین و انحراف معیار هاله رشد باکتری سودوموناس آیروژینوزا بررسی شد. درنهایت ترکیبی از آنتی‌بیوتیک‌ها و کورکومین در نسبت‌های ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵ ساخته شد و اثر آن بر میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری سودوموناس آیروژینوزا بررسی شد. در این مطالعه برای تعیین پارامتریک یا ناپارامتریک بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاد شد و در ادامه با توجه به نتیجه حاصل شده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، از آزمون مقایسه میانگین استفاده شد.

یافته‌ها: با افزایش نسبت کورکومین و آنتی‌بیوتیک‌ها، میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک به تنهایی افزایش داشته (ریفامپین- کورکومین P-value =۰/۰۳۳، مروپنم- کورکومین P-value =۰/۰۰۶، آمیکاسین- کورکومین P-value =۰/۰۰۳) و با افزایش میزان آنتی‌بیوتیک و رسیدن این نسبت به مقدار ۲۵:۷۵ (به ترتیب کورکومین: آنتی‌بیوتیک) میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا با شدت بیشتری افزایش پیدا کرد. هاله رشد آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، مروپنم، آمیکاسین به تنهایی به ترتیب برابر ۰/۰ ± ۸/۸۸، ۰/۱ ± ۳۱/۱۱، ۰/۰ ± ۳۲/۲۹ بود و در ترکیب با کورکومین به ترتیب برابر ۲/۸ ± ۲۴/۵، ۰/۷ ± ۴۷/۶، ۱/۴ ± ۴۹/۸ بود. (تمام P-value ها کمتر از ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: کورکومین دارای اثر سینژیک بر فعالیت آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، مروپنم و آمیکاسین است و با افزایش نسبت کورکومین، میزان اثرگذاری آن بیشتر می‌شود.

واژگان کلیدی: کورکومین؛ آمیکاسین؛ ریفامپین؛ مروپنم؛ سودوموناس آیروژینوزا

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Hoseinidoust SR, Kazemi Motakef N, Khazrai B, Tajik A, Bashirynejad M, Ahmadi S, Shabani Barzegar M. The Synergism Effects of Cercomin Nanoparticles on Antibacterial Action of Amikacin, Rifampin and Mropenem Antibioticsagainst Pseudomonas Aeruginosa Resistant to Multiple Drugs. Pejouhesh dar Pezeshki. 2023;47(4):61-70.

*نویسنده مسئول مکاتبات: بهاره خضرایی؛ آدرس پست الکترونیکی: baharekhazrai@gmail.com
گروه داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

مقدمه

میزان مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در سودوموناس آئروژینوزا (P. aeruginosa) ، یکی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران فیبروز کیستیک و افراد دارای نقص ایمنی است. سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا از سطوح بالای مکانیسم‌های مقاومت درونی و اکتسابی خود برای مقابله با اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند. علاوه بر این، مقاومت آنتی‌بیوتیکی تطبیقی P. aeruginosa مکانیسمی است که اخیراً مشخص شده است که شامل مقاومت با واسطه بیوفیلم و تشکیل سلول‌های پایدار مقاوم به چند دارو می‌شود و مسئول مقاومت و عود عفونت‌ها است (۱، ۲).

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی و میله‌ای شکل و تک مژکی است که جزو گونه‌های فرصت‌طلب محسوب می‌شود. احتمال ابتلای افراد سالم به سودوموناس آئروژینوزا بسیار کم است و اغلب در افرادی دیده می‌شود که مشکلات زمینه‌ای دارند مانند سوختگی شدید، کنسر، سیستیک فیبروزیس و نقص ایمنی (۳، ۴). عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا در افراد مبتلا به سیستم ایمنی ضعیف مانند فیبروز کیستیک، برونشکتازی، نوتروپنی، سوختگی، سرطان، ایدز، پیوند اعضا، دیابت قندی کنترل‌نشده و بستری در بخش مراقبت‌های ویژه شایع است (۵). مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان داده است که سالانه نزدیک به ۷۰۰۰۰۰ نفر بر اثر عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک جان خود را از دست می‌دهند (۶). مقاومت آنتی‌بیوتیکی P. aeruginosa در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر معمول تبدیل به یک مشکل اصلی مراقبت های بهداشتی شده است (۷).

کورکومین ماده مؤثره گیاه زردچوبه است. این ماده کاربردهای علمی و پزشکی فراوانی دارد. ترکیب شیمیایی کورکومین که Diferuloylmethane نامیده می‌شود، 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione بوده که پلی فنول اصلی زردچوبه است که از ریشه آن به‌دست می‌آید (۸، ۹). کورکومین دارای خواص ضد التهابی، بهبود سندروم متابولیک، درد، مدیریت تغییرهای التهابی و دژنراتیو چشم، اثر مفید روی کلیه‌ها است (۱۰، ۱۱). کارآزمایی‌های بالینی نشان داده‌اند که کورکومین خاصیت مهار NF-κB دارد و سبب مهار استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۲). کورکومین با اثر روی پمپ edsca و مهار ژن‌های mexX و oprM و سوراخ شدن دیواره سودوموناس سبب تأثیر بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین اثر کشندگی روی سودوموناس دارد (۱۲، ۱۳).

سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو، به آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی مقاومت دارد و گفته شده که کورکومین ممکن است در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب کاهش مقاومت سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو شود (۱۶-۱۴).

با توجه به نیاز به افزایش تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های ضد سودوموناس به دلیل خطرناک بودن این باکتری و همچنین با توجه به اثر ضدباکتریایی کورکومین، هدف از این مطالعه بررسی اثر سینرژیسم نانو ذرات کورکومین بر کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو در استفاده از داروهای آمیکاسین، ریفامپین و مروپنم بود.

روش کار

این مطالعه تجربی با هدف بررسی اثر سینرژیسم نانو ذرات کورکومین برفعالیت آنتی‌بیوتیکی آمیکاسین، ریفامپین و مروپنم علیه سودوموناس آیروژینوزا مقاوم به چند دارو روی نمونه‌های بیمارستانی سودوموناس انجام شد.

در این مطالعه از نانوذرات کورکومین DNC با حامل Q00 که توسط گروه تحقیق‌هایی دکتر صادقی‌زاده آماده‌سازی شده بود استفاده شد.

تهیه کورکومین

یک‌میلی‌گرم از پودر کورکومین در بالون ریخته و سپس در ۲۰ میکرولیتر متانول حل شد؛ سپس با استفاده از محلول بافری فسفات (PBS) به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مولاریته محلول حاصل 271/459 میکرومولار شد (۱۷).

$$\frac{۰.۰۰۱gr}{۰.۰۱Lit} * \frac{۱mol}{۳۶۸/۳۸gr} = ۲۷۱/۴۵۹\mu M$$

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

دندروزومال نانو کورکومین (DNC)

غلظت محلول استوک اصلی که دراختیار است، ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود

$$\frac{۱۰۰gr}{۱mLit} * \frac{۱mol}{۳۶۸/۳۸gr} = ۲۷۱۴۵۹\mu M$$

برای تهیه غلظت‌های مختلف از استوک اصلی از رابطه $N_1V_1 = N_2V_2$ استفاده شد؛ از استوک اصلی ۱/۴۷۳ میکرولیتر برداشته و به حجم ۲۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد تا غلظت ۲۰۰ میکرومولار حاصل شود؛ اگر سلولی با این محلول تیمار می‌شد، از محیط کشت برای رقیق‌کردن آن استفاده شد:

$$۲۷۱/۴۵۹\mu M * V_۱ = ۲۰۰\mu M * ۲۰۰۰\mu Lit$$
$$\rightarrow V_۱ = ۱/۴۷۳\mu Lit$$

برای تهیه غلظت‌های مختلف نانوذرات کورکومین، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه با استوانه مدرج اندازه‌گیری و به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر اضافه و سپس به هریک از ارلن‌ها یک میلی‌لیتر از توین۸۰ به عنوان سورفکتانت اضافه می‌شود.

محتوی ارلن‌ها را درداخل اتوکلاو قرارداده تا کاملاً استریل شود. سپس مقدار ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ لاندا از نانوذرات کورکومین با سمپلر برداشته و به هر یک از ارلن‌ها در شرایط کاملاً استریل و درکنار شعله اضافه شد؛ به این‌ترتیب چهار ارلن با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کورکومین با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان استوک تهیه شد. برای پراکنده‌سازی ذرات کورکومین، هرکدام از ارلن‌ها در شرایط استریل به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه پروب آلتراسونیک قرار گرفتند.

از روش حرارت مرطوب برای استریل‌کردن آب مقطر، محیط کشت و وسایل آزمایشگاهی استفاده شد. دراین روش مواد مورد نیاز در دستگاه اتوکلاو و در دمای ۱۲۰ درجه‌سانتی‌گراد فشار ۱۵ پوند براینچ مربع و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. برای استریل‌کردن لوپ‌وانس از حرارت مستقیم استفاده می‌شود. با استفاده از سواپ استریل قسمت کوچکی از باکتری محیط کشت جدا و در لوله‌های آزمایش حاوی ۱ میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژی برگردانده و کدورتی ایجاد شد که این کدورت معادل نیم مک فارلن است. در این زمان باکتری‌ها فعال و آماده کشت شدند (۱۷).

نانو حامل QA400 (۱۸)

وزن مولکولی این نانو حامل ۶۶۴/۲۶ گرم بر مول است. ۴۰۰ میکرولیتر از QA400 داخل ویال ریخته؛ وزن آن ۰/۰۳۷۲ گرم شد؛ سپس با استفاده از محلول بافری فسفات به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و مولاریته آن به صورت زیر محاسبه شد:

$$\frac{0.0372\,gr}{0.001Lit} * \frac{1mol}{664.26\,gr} = 0.056M$$

جدول ۱- مشخصات نانوذره

Dendrosome + Curcumin	Morphology	PDA	E.E%	SIZE
PEG400\OA + Curcumin	Spherical	0/4 ± 0/03	87/65 ± 1/62	142/97 ± 4/24
Technique of evaluation	TEM	DLS	Dialysis HPLC	DLS & TEM

تهیه محیط کشت جامد آگار برای پرورش باکتری سودوموناس

حدود ۱۵ گرم از آگارجامد را در یک لیتر آب دیونیزه حل کرده؛ سپس به مدت ۱۵ دقیقه با مگنت استیر شده تا کاملاً حل شود، سپس ۱۵ دقیقه اتوکلاو انجام شد. وقتی کمی خنک‌تر شد در کنار شعله روشن در داخل پلیت‌های هشت سانتی ریخته شد؛ منتظر مانده تا کاملاً خنک و بسته شود و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در یخچال قرار داده که در این صورت محیط آماده کشت باکتری بود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

تهیه محیط کشت مایع براث

حدود ۲۰ گرم از محیط کشت براث در ارلن ریخته و یک لیتر آب به آن اضافه شد. بوسیله مگنت و حرارت روی استیلر به مدت ۲۰ دقیقه کاملاً حل شده؛ سپس به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شده و پس از خنک‌شدن آماده آزمایش‌های MIC شد.

پس از ساختن غلظت‌های آنتی‌بیوتیک‌ها با نسبت‌های کورکومین از چاهک‌های محیط کشت و میکروپلیت، برای تعیین قطر هاله عدم رشد و MIC آزمایش شد. پس از تهیه استاندارد نیم مک‌فارلند و کشت‌دادن باکتری در کنار شعله به‌صورت چمنی روی محیط کشت مولر هینتون آگار دیسک‌های آنتی‌بیوتیک روی محیط آلوده به سویه‌های استاندارد با سه مرتبه تکرار قرار گرفت و میانگین قطر هاله عدم‌رشد هرکدام از سویه‌ها به‌وسیله خط‌کش و برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و یادداشت شد؛ میانگین قطر هاله عدم‌رشد نانوذرات کروکومین با استفاده از روش چاهک‌پلیت روی تمام سویه‌ها با سه مرتبه تکرار انجام و میانگین قطر هاله عدم‌رشد آنها ثبت شد. پس از تعیین MIC آنتی‌بیوتیک‌ها و مخلوط آنتی‌بیوتیک‌ها و نانوذرات کورکومین با رقت‌های مختلف، از میکروپلیت ۹۶خانه ته صاف که شامل ۱۲ ستون و هشت ردیف است، استفاده شد. گنجایش هر چاهک در میکروپلیت ۹۶ خانه حدود ۳۰۰ میکرولیتر است؛ در ابتدا در همه چاهک‌های ردیف اول از محیط کشت مولر هینتون براث با استفاده از سمپلر ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر و سرسمپلر آبی ریخته و سپس مقدار ۳۰ میکرولیتر از استوک آنتی‌بیوتیک موردنظر با استفاده از سمپلر ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر و سرسمپلر زرد به چاهک اول اضافه و کاملاً مخلوط شد. سپس برای رقیق‌سازی از چاهک اول ۳۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک بعدی در همان ردیف اضافه شد. این توالی به همین ترتیب تا چاهک دهم ادامه یافته و درنهایت از چاهک دهم ۳۰ میکرولیتر برداشته و بیرون ریخته شد. در چاهک یازدهم فقط محیط کشت براث به عنوان کنترل‌منفی در نظر گرفته شده و در چاهک دوازدهم محیط کشت براث و باکتری موردنظر (۵۰ میکرولیتر) موجود است که به عنوان کنترل مثبت مدنظر قرار گرفت. درنهایت هم به چاهک‌های اول تا دهم ۵۰ میکرولیتر از سویه باکتری موردنظر اضافه شد. این عمل در سه ردیف عیناً تکرار شده و برای استوک‌های تهیه‌شده از نانوذرات کورکومین به غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سویه‌های موردنظر نیز سه مرتبه تکرار شد. درمورد نسبت‌های ترکیبی نانوذرات کورکومین و آنتی‌بیوتیک‌های موردنظر (۷۵:۲۵)، (۵۰:۵۰) و (۲۵:۷۵) ابتدا نسبت‌های موردنظر به‌صورت استوک تهیه شده و سپس به مقدار لازم در میکروتیوب ترکیب و درنهایت طبق روال ذکرشده به چاهک‌های میکروپلیت منتقل شد. پس از پرشدن میکروپلیت‌ها درب هرکدام با دقت بسته و برای ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه قرار داده شد و بعد از زمان مربوطه میکروپلیت‌های مذکور در دستگاه الایزاریدر قرار گرفته و کدورت هر یک از چاهک‌ها با جذب نوری ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

بررسی اثر مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

در این مرحله ابتدا از هریک از آنتی‌بیوتیک‌ها چهار غلظت ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا برای هر یک از غلظت‌های آنتی‌بیوتیکی توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است هنوز در این مرحله از نانوذرات کورکومین استفاده نشده و تنها اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بررسی شده است.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 20 استفاده شد. داده‌های آماری پس از انجام آزمایش وارد این نرم‌افزار شد. در ابتدا برای تعیین پارامتریک یا ناپارامتریک بودن داده‌ها آزمون کولموگروف-اسمیرنوف انجام شد. عدد به دست آمده از این آزمون برابر ۰/۰۷۸ بود که نشان می‌داد داده‌ها دارای توزیع نرمال هستند، بنابراین می‌توان از آزمون‌های پارامتریک استفاده کرد. در ادامه با توجه به نتیجه حاصل شده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف از آزمون مقایسه میانگین استفاده شد.

یافته‌ها

در جدول ۲، میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین، مروپنم و آمیکاسین علیه

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

سودوموناس آیروژینوزا در غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آورده شده است.

برای انجام آزمون MIC از آگار همراه با اضافه کردن ساپلمنت‌های رشد استفاده شد. براساس تعریف MIC غلظتی از پادزیست است که رشد باکتری در آن متوقف می‌شود. MIC برای ریفامپین در رقت‌های مختلف توسط روش میکروپلیت انجام شد. MIC آنتی‌بیوتیک ریفامپین برابر ۰/۸۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. MIC برای مروپنم برابر ۰/۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد امآی‌سی برای‌آنتی‌بیوتیک آمیکاسین نیز برابر ۰/۶۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

اثر کورکومین بر میانگین قطر هاله عدم رشد میکروب سودوموناس آیروژینوزا

بررسی اثر ضد سودوموناسیِ کورکومین با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آغاز شد که میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا برابر ۱۵ میلی‌متر شد. با بررسیِ به عمل آمده مشخص شد که با افزایش نسبت غلظت عصاره کورکومین به غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (دو برابر)، میزان میانگین قطر هاله عدم رشد افزایش نداشته و برابرِ همان ۱۵ میلی‌متر است. با افزایش غلظت کورکومین به نسبت چهار برابر یعنی ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میانگین قطر هاله عدم رشد از ۱۵ به ۱۷ میلی‌متر تغییر پیدا کرد، اما این میانگین قطر در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برابر ۲۰ میلی‌متر محاسبه شد. میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ با یکدیگر تفاوتی نداشت، اما با افزایش غلظت، میانگین قطر هاله افزایش پیدا کرد.

جدول ۲- میزان قطر هاله عدم رشد سودوموناس آیروژینوزا بر حسب گروه‌های درمانی

گروه‌ها	قطر هاله عدم رشد	گروه‌ها	قطر هاله عدم رشد	گروه‌ها	قطر هاله عدم رشد	گروه‌ها	قطر هاله عدم رشد
ریفامپین ۲۰	۸/۲۷ ± ۰/۰۳۹	ریفامپین ۴۰	۸/۲۸ ± ۰/۰۳۲	ریفامپین ۸۰	۸/۲۹ ± ۰/۰۰۸	ریفامپین ۱۰۰	۸/۸۸ ± ۰/۰۱
مروپنم ۲۰	۳۰/۳۴ ± ۰/۲۳	مروپنم ۴۰	۳۰/۳۶ ± ۰/۲۲	مروپنم ۸۰	۳۱/۰۹ ± ۰/۱۰	مروپنم ۱۰۰	۳۱/۱۱ ± ۰/۱۰
آمیکاسین ۲۰	۳۲/۶۵ ± ۰/۱۳	آمیکاسین ۴۰	۳۲/۵۷ ± ۰/۱۲	آمیکاسین ۸۰	۳۱/۷۲ ± ۰/۱۳۲۷۶	آمیکاسین ۱۰۰	۳۲/۳۹ ± ۰/۰۹۶۳۴۱

اثر ریفامپین، مروپنم و آمیکاسین همراه با نسبت‌های عصاره کورکومین بر سودوموناس آیروژینوزا

اثر ضدسودوموناسی عصاره کورکومین همراه با آنتی‌بیوتیک ریفامپین، مروپنم و آمیکاسین در نسبت‌های ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵ بررسی شد. اطلاعات مرتبط با این سینرژیسم در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳- میزان قطر هاله عدم رشد ریفامپین- کورکومین، مروپنم- کورکومین و آمیکاسین- کورکومین علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا

گروه‌ها	غلظت		
کورکومین ریفامپین	۷۵:۲۵ ۱۱/۲ ± ۲/۱۳	۵۰:۵۰ ۲۴/۲ ± ۴/۱۶	۲۵:۷۵ ۸۱/۲ ± ۵/۲۴
کورکومین مروپنم	۷۵:۲۵ ۶۲/۱ ± ۲/۳۴	۵۰:۵۰ ۲۳/۱ ± ۴۱	۲۵:۷۵ ۷۳/۰ ± ۶/۴۷
کورکومین آمیکاسین	۷۵:۲۵ ۵۷/۱ ± ۷/۳۶	۵۰:۵۰ ۴۵/۱ ± ۴/۴۳	۲۵:۷۵ ۴۱/۱ ± ۸/۴۹

MIC به دست آمده برای ریفامپین و کورکومین برابر ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. با افزایش نسبت کورکومین میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا افزایش می‌یابد و به ۲۴/۵ میلی‌متر می‌رسد. MIC به

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

دست آمده برای مروپنم و کورکومین برابر ۱/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. است با افزایش نسبت کورکومین میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا افزایش یافته و به ۴۷/۶ میلی‌متر رسیده است. MIC به دست آمده برای آمیکاسین و کورکومین برابر ۱/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. با افزایش نسبت کورکومین، میانگین غلظت هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا افزایش یافته و به ۴۹/۸ میلی‌متر رسید.

بررسی نتایج آماری با استفاده از آزمون t نشان می‌دهد هر سه ترکیب ریفامپین- کورکومین، مروپنم- کورکومین و آمیکاسین- کورکومین دارای اختلاف معناداری با آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت منفرد هستند.

(P-value:0/03، P-value:0/006، P-value:0/003، به ترتیب).

بحث

یافته‌های ما نشان داد با افزایش نسبت کورکومین به آنتی‌بیوتیک‌ها، میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک افزایش داشته و با افزایش میزان آنتی‌بیوتیک و رسیدن این نسبت به ۷۵: ۲۵ (به ترتیب کورکومین: آنتی‌بیوتیک) میانگین قطر هاله عدم رشد علیه میکروب سودوموناس آیروژینوزا با شدت بیشتری افزایش پیدا کرد. هر سه ترکیب ریفامپین- کورکومین، مروپنم- کورکومین و آمیکاسین- کورکومین دارای اختلاف معناداری با آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت منفرد هستند. لازم به ذکر است تاثیر کورکومین- ریفامپین در نسبت‌های ۲۵: ۷۵ و ۵۰: ۵۰ کمتر از خودِ کورکومین گزارش شده است در حالی که این تأثیر از ریفامپین بیشتر بود.

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی از خانواده سودوموناداسه است (۱). به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب، از طریق استفاده از مسیرهای متابولیکی متعدد و مقاومت درونی آنتی‌بیوتیکی، می‌تواند به راحتی با محیط خود سازگار شود که سبب می‌شود در تجهیزات پزشکی، سیستم‌های آب، ونتیلاتورها و حتی در برخی مواد ضد عفونی‌کننده زنده بماند (۱۹). سودوموناس آئروژینوزا در حال حاضر حدود ۱۰درصد از کل عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی در سراسر جهان را نشان می‌دهد و به دلیل سطوح بالای مقاومت در برابر تقریباً تمام آنتی‌بیوتیک‌های شناخته شده تک درمانی، به یک چالش درمانی تبدیل شده است (۲۰، ۲۱). با توجه به این موضوع، به ارزیابی درمان ترکیبی مؤثر بر سودوموناس آئروژینوزا پرداختیم.

مکانیسم‌های متعددی برای مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس شناسایی شده‌اند که نمونه‌هایی از آنها عبارتند از: مقاومت درونی نسبت به آنتی‌بیوتیک، سیستم‌های خروجی و آنزیم‌های غیرفعال‌کننده آنتی‌بیوتیک. مقاومت درونی به آنتی بیوتیک، توانایی محدود کردن نفوذپذیری غشاء به مواد ضدمیکروبی است. سیستم‌های جریان به باکتری اجازه می‌دهد تا ترکیب‌های مضر یا سمی را به خارج از غشای سلولی هدایت کند. علاوه بر این، بسیاری از ایزوله‌ها دارای بتالاکتامازها و بتالاکتامازهای طیف گسترده هستند. توانایی باکتری سودوموناس برای تشکیل یک بیوفیلم نیز مکانیسم مهمی است که با آن می‌تواند مقاومت آنتی‌بیوتیکی را افزایش داده و در مقابل دفاع میزبان مقاومت کند (۱، ۵). با توجه به یافته‌های ما که در آن دیده شد که کورکومین سبب افزایش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس شد. به نظر می‌رسد که کورکومین بر روی مسیرهای گفته شده مؤثر است که البته این موضوع نیازمند بررسی‌های بیشتر در سطح مولکولی است.

کورکومین دارای اثر ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله قارچ‌ها و همچنین چندین باکتری گرم منفی و گرم مثبت است (۲۲). در مطالعه حال حاضر نیز اثر درمان ترکیبی کورکومین همراه با آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، ریفامپین و مروپنم روی سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد.

گول و همکاران گزارش دادند که کورکومین‌ها و کورکومینوئیدها دارای فعالیت ضد باکتریایی بهتری نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر طیف وسیعی از میکروب‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتلیس، باسیلوس کواگولانز، سودوموناس آئروژینوزا (P. aeruginosa) و E. coli هستند (۲۳). در مطالعه حال حاضر نیز این یافته تأیید شد زیرا بر اساس یافته‌های ما نیز دیده شد که قطر هاله عدم رشد کورکومین به تنهایی، بیش از قطر هاله عدم رشد ریفامپین به تنهایی بود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

کائور و همکاران ذکر کردند که اثر مهاری کورکومین روی بیوفیلم‌های P.aeruginosa امیدوارکننده بود (۲۴). یافته‌های مطالعه ما نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت و مناسب کورکومین بر افزایش قدرت آنتی‌بیوتیک‌ها و مهار سودوموناس آئروژینوزا بود که از این نظر مطالعه ما مشابه مطالعه کائور و همکاران بود.

در مطالعه شراهی و همکاران دیده شد که حداقل غلظت مهاری مروپنم در حضور کورکومین به طور قابل توجهی کاهش یافت (کاهش ۲ تا ۱۶ برابر). نتیجه‌گیری این مطالعه این بود که ترکیب کورکومین- آنتی‌بیوتیک ممکن است یک رویکرد جایگزین برای درمان عفونت با باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR) و به طور گسترده مقاوم به دارو (XDR) باشد. مطالعه ما نیز نشان‌دهنده تأثیر بیشتر استفاده ترکیبی از کورکومین مروپنم بر سودوموناس مقاوم به چند دارو بود. بر اساس یافته‌های ما دیده شد که در نسبت ۷۵: ۲۵ کورکومین به مروپنم دیده شد که قطر هاله یعدم رشد ۱۶/۶ میلی‌متر بیشتر از استفاده از مروپنم به تنهایی بود (۲۵).

شریعتی و همکاران به ارزیابی تأثیر درمان ترکیبی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با کورکومین بر سودومناس پرداختند و دیده شد که ترکیب کورکومین و آمیکاسین سبب افزایش میزان حساسیت سودوموناس به آمیکاسین شد. این یافته با یافته‌های مطالعه ما مشابه است. در مطالعه ما نیز دیده شد که کورکومین سبب افزایش حساسیت سودوموناس به آمیکاسین شد که این موضوع نشان‌دهنده اهمیت درمان ترکیبی آنتی‌بیوتیک‌های ضد سودوموناس با کورکومین است (۱۶). نکته قابل توجه در مطالعه ما این بود که نسبت بیشتر غلظت کورکومین به غلظت آنتی‌بیوتیک، سبب مهار بیشتر سودوموناس می‌شد.

توصیه شده که ریفامین نباید به عنوان یک درمان تک درمانی استفاده شود تا از ایجاد مقاومت به ریفامین جلوگیری شود (۲۶). علاوه بر این، گزارش شده که MIC برای ریفامین تا ۳۲ میلی‌گرم در لیتر برای P. aeruginosa مشاهده شده است (۲۷). در مطالعه ما دیده شد که MIC برای ریفامپین ۸۳ میلی‌گرم در لیتر بود که از این نظر بیش از مقدار ذکر شده در مطالعه مذکور است، اما وقتی این دارو با کورکومین استفاده شد، تغییر زیادی در قطر هاله عدم رشد رخ داد. همچنین در مطالعه ما دیده شد که تأثیر آنتی‌باکتریال کورکومین به تنهایی بر روی سودوموناس، بیش از تأثیر ریفامپین به تنهایی بود.

از محدودیت‌های این مطالعه انجام آن به صورت تجربی و آزمایشگاهی بود که بهتر است بر اساس نتایج مطالعه حاضر، ترکیب‌های آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده در مطالعه ما با کورکومین، در بالین نیز روی عفونت حاضل از سودوموناس ارزیابی شود. از مزیت‌های مطالعه ما نیز بررسی اثرکورکومین به عنوان یک ماده در دسترس و نسبتاً ارزان برای افزایش تأثیر آنتی‌بیوتیک ها روی کاهش مقاومت سودوموناس مقاوم به چند دارو بود.

پیشنهادات

با توجه به اهمیت مواد گیاهی و نقش آن در سلامتیِ انسان پیشنهاد می‌شود، پژوهشگران در مورد نقش کورکومین روی دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها به تحقیق بپردازند و اثر سینرژیستی یا غیر سینرژیستیِ آن را بررسی کنند. همچنین پیشنهاد می‌شود تاثیر کورکومین- آنتی‌بیوتیک‌ها را روی باکتری‌های دیگر (به غیر از سودوموناس آیژینوزا) بررسی کنند.

نتیجه‌گیری

این‌گونه نتیجه‌گیری می‌شود که کورکومین به عنوان یک ماده گیاهی، تأثیر خوبی روی مهار مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا دارد و ترکیب این ماده با آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم، آمیکاسین و ریفامپین سبب افزایش اثر این آنتی‌بیوتیک‌ها روی سودوموناس آئروژینوزا می‌شود. نسبت بیشتر کورکومین به آنتی‌بیوتیک در ترکیب این ماده با آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب افزایش قطر هاله عدم رشد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه رشته داروسازی خانم بهاره خضرایی است که در دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد، لذا از تمامی دست اندرکاران و مسئولان این دانشگاه تقدیر و تشکر می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

References

1. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin T-J, Cheng Z. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnology advances. 2019;37(1):177-92.

2. Kunz Coyne AJ, El Ghali A, Holger D, Rebold N, Rybak MJ. Therapeutic strategies for emerging multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Infectious diseases and therapy. 2022;11(2):661-82.

3. Endo A, Nemoto A, Hanawa K, Maebayashi Y, Hasebe Y, Kobayashi M, et al. Relationship between amikacin blood concentration and ototoxicity in low birth weight infants. Journal of Infection and Chemotherapy. 2019;25(1):17-21.

4. Nolt VD, Pijut KD, Autry EB, Williams WC, Burgess DS, Burgess DR, et al. Amikacin target achievement in adult cystic fibrosis patients utilizing Monte Carlo simulation. Pediatric Pulmonology. 2019;54(1):33-9.

5. Mulcahy LR, Isabella VM, Lewis K. Pseudomonas aeruginosa biofilms in disease. Microbial ecology. 2014;68:1-12.

6. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa–Mechanisms, epidemiology and evolution. Drug Resistance Updates. 2019;44:100640.

7. Sartelli M, Mckimm J, Bakar M. Health care-associated infections–an overview. Published online. 2018:2321-33.

8. E Wright L, B Frye J, Gorti B, N Timmermann B, L Funk J. Bioactivity of turmeric-derived curcuminoids and related metabolites in breast cancer. Current pharmaceutical design. 2013;19(34):6218-25.

9. Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A review of its effects on human health. Foods. 2017;6(10):92.

10. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. Molecules. 2014;19(12):20091-112.

11. Panahi Y, Hosseini MS, Khalili N, Naimi E, Simental-Mendía LE, Majeed M, et al. Effects of curcumin on serum cytokine concentrations in subjects with metabolic syndrome: A post-hoc analysis of a randomized controlled trial. Biomedicine & pharmacotherapy. 2016;82:578-82.

12. Basnet P, Skalko-Basnet N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. Molecules. 2011;16(6):4567-98.

13. Rahimnia A-R, Panahi Y, Alishiri G, Sharafi M, Sahebkar A. Impact of supplementation with curcuminoids on systemic inflammation in patients with knee osteoarthritis: findings from a randomized double-blind placebo-controlled trial. Drug research. 2014:521-5.

14. Taherpour A, Hashemi A, Erfanimanesh S, Taki E. Efficacy of methanolic extract of green and black teas against extended-spectrum beta-Lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa. Pak J Pharm Sci. 2016;29(4):1257-61.

15. Sharahi JY, Azimi T, Shariati A, Safari H, Tehrani MK, Hashemi A. Advanced strategies for combating bacterial biofilms. Journal of cellular physiology. 2019;234(9):14689-708.

16. Shariati A, Asadian E, Fallah F, Azimi T, Hashemi A, Yasbolaghi Sharahi J, et al. Evaluation of Nano-curcumin effects on expression levels of virulence genes and biofilm production of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wound infection in Tehran, Iran. Infection and drug resistance. 2019:2223-35.

17. Park J, Do S, Lee M, Ha S, Lee K-G. Preparation of turmeric powder with various extraction and drying methods. Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 2022;9(1):1-9.

18. Chen YC, Chen BH. Preparation of curcuminoid microemulsions from Curcuma longa L. to enhance inhibition effects on growth of colon cancer cells HT-29. RSC advances. 2018;8(5):2323-37.

19. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: an ocular perspective. Clinical and Experimental Optometry. 2018;101(2):162-71.

20. Chatterjee M, Anju C, Biswas L, Kumar VA, Mohan CG, Biswas R. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa and alternative therapeutic options. International Journal of Medical Microbiology. 2016;306(1):48-58.

21. Terahara F, Nishiura H. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa and carbapenem use in Japan: an ecological study. Journal of International Medical Research. 2019;47(10):4711-22.

22. Wayne P. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document M100-S20. 2010.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]

23. Gul P, Bakht J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. Journal of food science and technology. 2015;52:2272-9.

24. Kaur A, Sharma P, Capalash N. Curcumin alleviates persistence of Acinetobacter baumannii against colistin. Scientific reports. 2018;8(1):11029.

25. Sharahi JY, Ahovan ZA, Maleki DT, Rad ZR, Rad ZR, Goudarzi M, et al. In vitro antibacterial activity of curcumin-meropenem combination against extensively drug-resistant (XDR) bacteria isolated from burn wound infections. Avicenna journal of phytomedicine. 2020;10(1):3.

26. Majewski P, Wieczorek P, Ojdana D, Sacha PT, Wieczorek A, Tryniszewska EA. In vitro activity of rifampicin alone and in combination with imipenem against multidrug-resistant Acinetobacter baumannii harboring the bla OXA-72 resistance gene. Scandinavian journal of infectious diseases. 2014;46(4):260-4.

27. Hu Y-F, Liu C-P, Wang N-Y, Shih S-C. In vitro antibacterial activity of rifampicin in combination with imipenem, meropenem and doripenem against multidrug-resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. BMC infectious diseases. 2016;16(1):1-10.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-11-21]