

Investigating the Antimicrobial Effects of Amniotic Membrane, Arnebia Euchroma, Sesame Oil, and Bee Wax on Gram-positive and Gram-negative Bacteria in Second-degree Burn Wounds

Sajjad Rajabi

Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran. sajjadrajabi23@yahoo.com

Mohammad Mahdi Saghafi*

Department of Pharmaceutical Sciences, School of Pharmacy, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, saghafi_mohammadmahdi@yahoo.com

Abstract

Some tissues of the body such as the amniotic membrane and cheap and available medicinal plants such as Arnebia euchroma can be effective in treating burn wounds, reducing its infection, and healing time. The aim of the present study was to investigate the antimicrobial effects of a combination of amniotic membrane, Arnebia Euchroma (AE) extract, sesame oil, and bee wax on the growth of gram-positive and gram-negative bacteria in second-degree burn wounds. After receiving amniotic membrane tissue from pregnant women, this tissue was mixed with sesame oil, bee wax, and Arnebia Euchroma extract and applied to the burn wounds of mice model infected with *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*. This combination was applied in case and control groups, and microbial counting was then performed. According to the findings of the present study, the number of pathogens in wound samples of mice treated with this combination was less than in control mice. The results of this study also showed that the use of a combination of amniotic membrane, AE plant extract, sesame oil, and bee wax had a therapeutic effect on second-degree burn wounds. The use of this compound after further research is recommended for the treatment of burn wounds.

Key words: Amniotic Membrane, Arnebia Euchroma, Second-degree Burn Wounds, Sesame Oil, Bee Wax, Gram-positive Bacteria, Gram-negative Bacteria

* Corresponding author

Received: October 20, 2020 / **Accepted:** January 6, 2021

فصلنامه علمی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها (نوع مقاله پژوهشی)

سال یازدهم، شماره ۴۱، بهار ۱۴۰۱، صفحه ۶۰ - ۵۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷

Doi: [10.22108/BJM.2021.125454.1340](https://doi.org/10.22108/BJM.2021.125454.1340)

بررسی اثر ضد میکروبی ترکیب پرده آمینوتیک، *Arnebia euchroma*، روغن کنجد و موم زنبورعسل بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در زخم‌های سوختگی درجه دو

سجاد رجبی: مربی گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران، تهران، ایران، sajjadrajabi23@yahoo.com
محمد مهدی تقفی*: استادیار گروه علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، saghafi_mohammadmahdi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: برخی از بافت‌های طبیعی بدن مانند پرده آمینوتیک و نیز گیاهان دارویی ارزان و در دسترس مانند گیاه ابوخلسا با نام علمی *Arnebia euchroma* می‌توانند در درمان زخم سوختگی، کاهش عفونت آن و کاهش زمان بهبودی مؤثر باشند. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد میکروبی ترکیبی از پرده آمینوتیک، عصاره ابوخلسا، روغن کنجد و موم زنبورعسل بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در زخم‌های سوختگی درجه دو است.

مواد و روش‌ها: پس از دریافت بافت پرده آمینوتیک از زنان باردار، این بافت با روغن کنجد، موم زنبورعسل و عصاره گیاه *Arnebia euchroma*، مخلوط و روی زخم سوختگی موش‌های مدل سوختگی آلوده شده به باکتری‌های *E. coli*، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژنز و آسبتوباکتر بومانی، در دو گروه مورد و شاهد، ضماد شد. سپس شمارش میکروبی انجام شد.

نتایج: با توجه به یافته‌های ما، شمار پاتوژن‌ها در نمونه‌های زخم موش‌هایی که درمان این ضماد را دریافت کرده بودند، کمتر از موش‌های شاهد بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهند استفاده از ترکیب پرده آمینوتیک، عصاره گیاه *Arnebia euchroma*، روغن کنجد و موم زنبورعسل روی زخم حاصل از سوختگی درجه دوم تأثیر درمانی دارد. استفاده از این ترکیب پس از تحقیقات بیشتر برای درمان زخم‌های سوختگی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرده آمینون، *Arnebia euchroma*، زخم سوختگی، روغن کنجد، موم زنبورعسل، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی

* نویسنده مسئول مکاتبات



مقدمه

ایجاد مقاومت دارویی عارضه‌ای تهدیدکننده در استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر جهان است؛ به طوری که افزایش سویه‌های مختلف باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، به یکی از نگرانی‌های اصلی سازمان بهداشت جهانی تبدیل شده است (۱). کشف خواص ضد میکروبی مواد طبیعی و ترکیبات گیاهی در سال‌های اخیر، پژوهشگران را به سمت یافتن راهکاری برای جایگزین کردن آنها به جای آنتی‌بیوتیک‌ها سوق داده است (۲).

یکی از بافت‌های طبیعی مطرح در این زمینه، پرده آمیون است. پرده آمیون مانند غشایی پایه عمل می‌کند و در کنار نقش‌های متعدد در رشد و تکامل جنین، با به کار بردن چندین سازوکار، باعث بهبود ضایعات اپیتلیومی می‌شود. از ویژگی‌های پرده آمیوتیک می‌توان به مواردی از قبیل غنی بودن از فاکتورهای رشد و سایتوکین‌هایی که منجر به اپیتلیال‌سازی می‌شود، خواص ضد میکروبی و ویروسی، کاهش عفونت و درد در موضع زخم و خاصیت ضدالتهاب برای ممانعت از تشکیل اسکار به دنبال ترمیم زخم اشاره کرد. این پرده مهاجرت، چسبندگی و تمایز یاخته‌های اپیتلیومی را تحریک و آپوپتوز این سلول‌ها را مهار می‌کند. در بیشتر نقاط جهان گیاهان دارویی، درمان‌های پذیرفته شده برای بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عفونی محسوب می‌شوند (۳).

برخی از گیاهان دارویی افزایش‌دهنده سرعت پروسه درمانی زخم بوده‌اند و برخی دیگر به علت داشتن خاصیت آنتی‌میکروبی تأثیر چشمگیری در درمان زخم دارند (۴). یکی از گیاهان سنتی استفاده شده

در درمان زخم سوختگی، گیاه *Arnebia euchroma* ابوخلسا یا هواچوبه است. مطالعات نشان داده‌اند ریشه گونه‌های متعلق به خانواده گیاه گل‌گاوزبان از جمله گیاه ابوخلسا، غنی از شیکونین^۱ و نفتا کینون^۲ است (۵). این مواد و مشتقات آلکانین^۳ آنها دارای طیف وسیعی از توانایی‌های زیستی از جمله ترمیم زخم (۶) و ضدالتهابی (۷) هستند.

گیاه کنجد که برای نخستین بار در آفریقا کشت داده شد، مقادیر زیادی لیگنان با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد؛ همچنین، کلروسسامون که از ریشه این گیاه گرفته می‌شود، فعالیت ضدقارچی نشان داده است (۸). مطالعات اخیر نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی روغن کنجد علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از جمله *سالمونلا تایفی* و *استرپتوکوکوس موتانس* بوده‌اند (۹). در سالیان اخیر، فعالیت ضد میکروبی محصولات موم زنبور عسل شایان توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان‌دهنده تأثیر ضدباکتریایی موم خام زنبور علیه چندین سویه باکتریایی و *کاندیدا البیکنس* بود (۱۰).

با توجه به اینکه هزینه درمان زخم سوختگی بالاست و درمان‌های معمول آن، عوارض جانبی بسیاری برای بیماران دارد، رویکرد فعلی محققان طب سنتی استفاده از مواد و مخلوط‌های طبیعی کم‌هزینه و بدون عوارض جانبی برای بیماران مبتلا به سوختگی است (۱۱، ۱۲). هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر ضماد تولیدشده از ترکیب عصاره پرده آمیوتیک، عصاره گیاه ابوخلسا، روغن کنجد و موم زنبور عسل، بر حذف عفونت‌های باکتریایی در زخم‌های سوختگی و تسریع فرایند التیام زخم بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه استوک گیاهی و ارزیابی بار میکروبی آن: پس

از خالص و پاکسازی گیاه *A. euchroma* به صورت دستی با الکترون مخصوص و شستشوی کامل با آب جوشیده و سرد شده تا دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی گراد، گیاه در دمای محیط در شرایط بدون نور خشک شد. سپس خشک شده گیاه با آسیاب مخصوص، پودر و با روغن کنجد در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۳ ساعت بدون نور در تانک مخصوص مخلوط شد. پس از عبور مخلوط از صافی مخصوص، با موم زنبور عسل در دمای ۴۵-۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت مخلوط شد. این ترکیب نیمه جامد در مقدار معینی حلال حل شد. بر اساس میزان حلالیت کمترین غلظت حل شده ۱ به ۱۰، برآورد و غلظت محلول استوک برابر با یک دهم تعیین شد. مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول استوک در محیط‌های بلاد آگار و همچنین در مک کانکی کشت داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون انجام شد تا از نظر آلودگی باکتریایی بررسی شود. بعد از ۴۸ ساعت کشت‌ها بررسی شدند؛ هر دو پلیت عاری از رشد بودند و استریل بودن محلول استوک تأیید شد.

تهیه پرده آمونیوتیک: به منظور جلوگیری از انتقال

آلودگی زایمان، جمع‌آوری بافت آمیون از موارد سزارین شده انجام شد. انتخاب مورد با نظارت پزشک متخصص و با معاینه دقیق و رد سوابق رفتارهای پرخطر جنسی، استفاده از مواد تزریقی، خالکوبی، تزریق خون و بدخیمی انتخاب شد. پس از شرح روند انجام کار برای شخص مشارکت کننده، فرم رضایت‌نامه کتبی در اختیار او قرار گرفت. همچنین، نمونه خون بیمار برای ارزیابی سرولوژی گرفته شد. پس از ۶ ماه، دوباره آزمایش‌های سرولوژی برای بیمار صورت گرفت تا از عدم هرگونه بیماری و عفونت اطمینان حاصل شود. سوپرناتانت این

پرده برای بررسی‌های MIC طبق مطالعات پیشین آماده شد (۱۳، ۱۴). به طور خلاصه، بافت‌ها با فسفات بافر سالین (PBS) سه بار شسته شدند تا هرگونه لخته خون شسته شود. سپس بافت‌ها به تکه‌های ریزی، تقسیم و با نیتروژن مایع منجمد شدند. پس از آن، با استفاده از هاون بافت‌ها به تکه‌های ریزی پودر شدند. تکه‌های غشا با نسبت ۱:۱ با فسفات بافر سالین، میکس و به مدت یک ساعت روی یخ هموژنیزه شدند. سوپرناتانت‌ها با فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری استریل شدند. این ترکیب برای مصارف بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد ذخیره شد.

تهیه ضماد و استعمال آن روی زخم سوختگی

ایجاد شده: پودر گیاه *Arnebia euchroma* با روغن کنجد، موم زنبور عسل و بافت آمینیوتیک مخلوط شد. اثر ضد میکروبی ترکیب گیاهی *Arnebia euchroma* به روش دیسک دیفیوژن و آگار دیفیوژن، بررسی و حداقل غلظت مهاري رشد (MIC^۲) ترکیب گیاهی *Arnebia euchroma* با روش برات میکرو دایلوژن تعیین شد. به منظور آماده‌سازی مدل موشی سوختگی، از روش سوختگی سکه‌ای روی موش مدل سوری Mus musculus استفاده شد. در این روش پس از برداشتن موی حیوان، از طریق تماس میله‌ای با سطح مقطع برابر با مساحت یک سکه ۵۰ ریالی (heated brass bar) (10×10×100 mm))، به مدت ۴۵ ثانیه با پوست برهنه شده حیوان، سوختگی درجه دوم ایجاد شد. ترکیب تولید شده در مراحل قبل به صورت کرم موضعی در محل زخم سوختگی به مدت ۸ روز، به قرار هر دو روز یک بار به میزان ۵ گرم استفاده شد. همچنین به منظور تسکین درد، شربت مسکن استامینوفن به موش‌ها خوراندن شد. بعد از گذشت ۸ روز یک سانی متر مربع از پوست حیوان به همراه ترشحات پوستی، جداسازی و پس از هموژنیزاسیون، در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی



شکل ۱- تصاویر موش‌ها پس از انجام سوختگی و استعمال سوسپانسیون باکتریایی (الف)، پس از برداشتن پوست و نمونه زخم در موش کنترل (ب) و مورد (ج)

در شکل ۲ نمودار میله‌ای شمار باکتری‌ها نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تعداد باکتری‌های شمارش‌پذیر در گروه شاهد بیشتر از گروه تحت تیمار است. در مجموع، این یافته‌ها بیان می‌کنند ضمامد تولیدشده از ترکیب عصاره پرده آمینون، عصاره گیاه ابوالخسا، موم زنبورعسل و روغن کنجد، قادر به کاهش عفونت باکتری‌های سودوموناس اثرورژینوزا، استافیلوکوک اورئوس و اسیتوباکتر بومانی و به میزان چشمگیرتر عفونت *E. coli* است.

کشت شد. تعداد باکتری‌های گرم منفی *E. coli* سودوموناس اثرورژینوزا و اسیتوباکتر بومانی^۵ و باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس با 2000 میکرولیتر از کشت باکتری در رقت‌های 10^{-4} ، 10^{-5} ، 10^{-6} ، 10^{-7} و 10^{-8} ۱۰ شمارش شدند. برای هر یک از باکتری‌های مذکور یک موش در گروه مورد و یک موش در گروه شاهد بررسی شد.

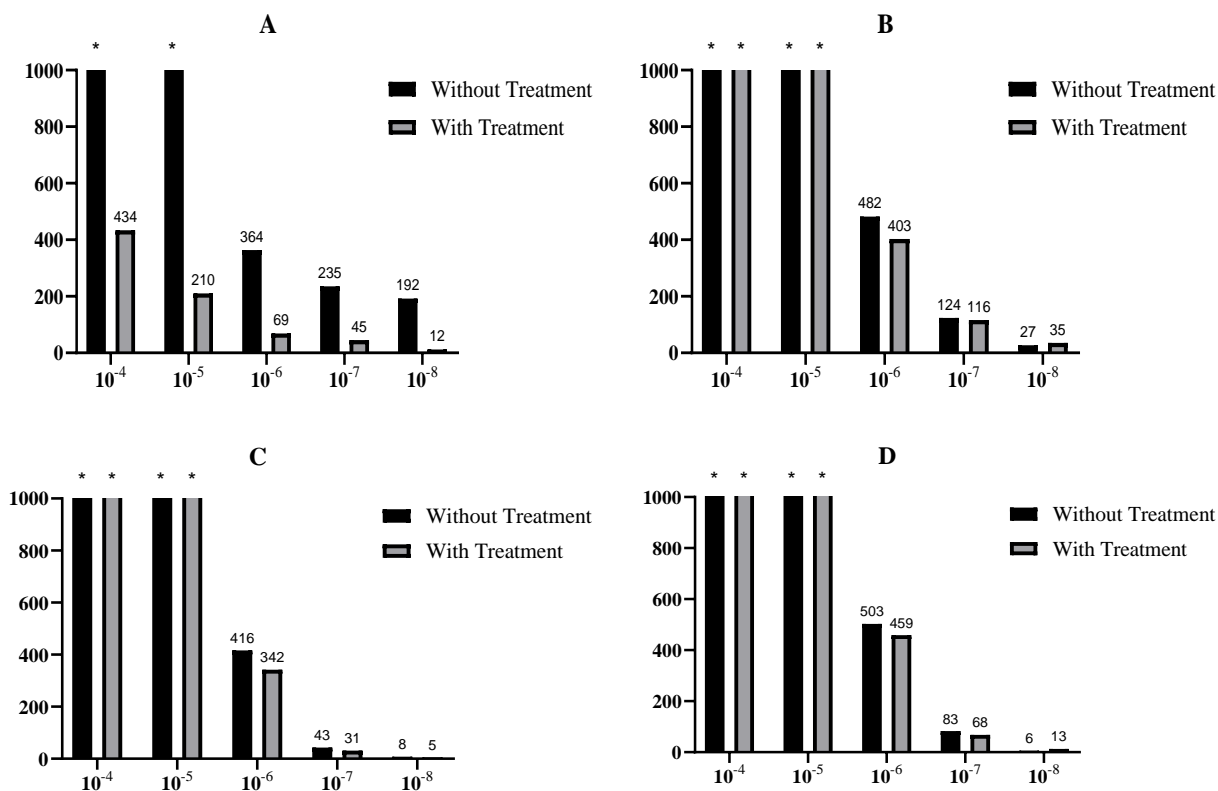
نتایج

در شکل ۱ ایجاد سوختگی درجه دوم در موش‌های بررسی‌شده، تصویر زخم پس از استفاده از عصاره گیاه ابوالخسا در موش مورد و نیز تصویر زخم در موش شاهد نشان داده شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، التیام زخم در موش تحت تیمار با ضمامد تولیدشده، کمتر از موش شاهد است.

همچنین، تعداد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شمارش‌شده در رقت‌های مختلف نمونه‌برداری از محل زخم موش‌های مورد و شاهد، در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول، تعداد باکتری‌های سودوموناس اثرورژینوزا، استافیلوکوک اورئوس و اسیتوباکتر بومانی در رقت‌های 10^{-4} و 10^{-5} به قدری در نمونه برداشت شده و محیط کشت آن زیاد است که قابلیت شمارش ندارد. تعداد باکتری *E. coli* در رقت‌های 10^{-4} و 10^{-5} در گروه شاهد شمارش‌ناپذیر بود و در گروه مورد که تیمار ضمامد شده بودند، کمتر و شمارش‌پذیر بوده است. در غلظت‌های 10^{-6} ، 10^{-7} و 10^{-8} نیز تعداد باکتری‌های *E. coli* در نمونه‌های تحت تیمار بسیار کمتر از نمونه‌های شاهد شمارش شده است. در غلظت‌های مذکور، تعداد باکتری‌های سودوموناس اثرورژینوزا، استافیلوکوک اورئوس و اسیتوباکتر بومانی نیز در گروه تحت تیمار کمتر از گروه شاهد بوده است.

جدول ۱- شمارش تعداد سلول‌های پاتوژن در موش‌های مورد و شاهد در درمان با عصاره گیاه *Arnebia euchroma*

| رقت | 10^{-4} | 10^{-5} | 10^{-6} | 10^{-7} | 10^{-8} |
|------------------------------|--------------|--------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>-E. coli</i> | | | | | |
| گروه کنترل | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۳۶۴ | ۲۳۵ | ۱۹۲ |
| گروه درمان | ۴۳۴ | ۲۱۰ | ۶۹ | ۴۵ | ۱۲ |
| <i>سودوموناس انروژینوزا-</i> | | | | | |
| گروه کنترل | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۴۸۲ | ۱۲۴ | ۲۷ |
| گروه درمان | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۴۰۳ | ۱۱۶ | ۳۵ |
| <i>استافیلوکوک اورنوس +</i> | | | | | |
| گروه کنترل | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۴۱۶ | ۴۳ | ۸ |
| گروه درمان | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۳۴۲ | ۳۱ | ۵ |
| <i>اسیتوباکتر بومانی-</i> | | | | | |
| گروه کنترل | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۵۰۳ | ۸۳ | ۶ |
| گروه درمان | شمارش ناپذیر | شمارش ناپذیر | ۴۵۹ | ۶۸ | ۱۳ |



شکل ۲- شمار سلول‌های باکتریایی در موش‌های آلوده شده با *اشرشیاکلی* (A)، *سودوموناس انروژینوزا* (B)، *استافیلوکوکوس اورنوس* (C)، *اسیتوباکتر بومانی* (D). در هر مورد، شمارش تعداد سلول‌های پاتوژن در موش‌هایی که درمان دارویی با عصاره پرده آمونیوم و عصاره گیاه *Arnebia euchroma* را دریافت کرده یا دریافت نکرده‌اند، به ترتیب به عنوان موش‌های مورد و شاهد نشان داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت درمان زخم‌های سوختگی و مهار عفونت‌های مرتبط با آن، شناسایی داروهایی ضروری به نظر می‌رسد که در التیام زخم مؤثرند و بدون ایجاد مقاومت دارویی و با کمترین عوارض قادر به کنترل عفونت‌اند (۱۵). در این بین، داروهایی که اساس ساختاری آنها شیمیایی نیست و از طبیعت استخراج شده‌اند، علاوه بر مقرون‌به‌صرفه بودن، خطرات احتمالی و عوارض جانبی کمتری نیز دارند (۱۶). طبق نظر براون^۶ و همکارانش، مداخله‌ای ارزشمند است که زمان التیام زخم را حتی به تعداد ۲ روز کاهش دهد؛ زیرا بستری طولانی‌مدت بیماران سوختگی، به افزایش عفونت، جای زخم و هزینه منجر می‌شود (۱۷). در مطالعه حاضر سعی شد خواص ضد میکروبی ضماد تهیه‌شده از ترکیب مواد طبیعی مانند روغن کنجد، موم زنبورعسل، پرده آمینون و عصاره گیاه *Arnebia euchroma* در التیام زخم‌های درجه دوم سوختگی بررسی شود. اثرات پرده آمینون و عصاره گیاه ابوالخسا در درمان زخم‌های سوختگی در مطالعات گذشته به اثبات رسیده‌اند؛ اما در مطالعه حاضر برای نخستین‌بار ترکیب این چهار ماده طبیعی در کاهش عفونت زخم‌های سوختگی بررسی شده است. نتایج مطالعه نشان می‌دهند تعداد میکروب‌های تکثیر یافته، پس از مالیدن ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف باکتری‌های *E. coli*، *استافیلوکوک اورئوس*، *سودوموناس اثرورژینوزا* و *اسینتوباکتر بومانی*، در موش‌هایی کاهش یافته است که ضماد مذکور را دریافت کرده‌اند؛ به طوری که میزان تکثیر باکتری *E. coli* در موش‌های دریافت‌کننده ضماد مذکور کاهش چشمگیری یافت. کاهش تعداد باکتری‌های *سودوموناس اثرورژینوزا*، *استافیلوکوک اورئوس* و

اسینتوباکتر بومانی نیز مشاهده پذیر بوده است؛ این نتیجه با مطالعات سایر محققان کشور همخوانی دارد. پرده آمینوتیک تأثیر زیادی در انواع متفاوتی از درمان‌ها از جمله درمان زخم‌ها نشان داده است. در مطالعه لئوفلین^۷ و همکارانش، پتانسیل ترمیم‌کنندگی زخم در کارآزمایی‌های آزمایشگاهی و بالینی به اثبات رسیده است (۱۸). در مطالعات دیگر نیز تأثیر بافت پرده آمینون در جلوگیری از عفونت زخم‌های دیابتی و ترمیم ناحیه زخم، به علت داشتن سایتوکاین‌ها، عوامل رشد و سلول‌های بنیادی به اثبات رسیده است (۱۹). تأثیر ترمیمی این بافت در زخم‌های سوختگی نیز طی مطالعات متعدد به اثبات رسیده است (۲۰، ۲۱). همچنین، مطالعات زیادی درباره اثبات ویژگی‌های ضد میکروبی و ویژگی‌های احتمالی ضد ویروسی پرده‌های جنینی انجام شده است که نشان می‌دهند پرده‌های جنینی به دلیل داشتن موادی مانند بتا دفسین‌های انسانی، ال‌افین و مهارکننده پروتئازی لوکوسیت ترشحی در لایه اپی‌تلیالی خود، ویژگی‌های ضد میکروبی دارند. وجود سیستم‌های E، آنالوگ مهارکننده سیستم‌های پروتئاز، اثرات ضد ویروسی احتمالی به این غشا می‌بخشد (۲۲). این بافت با مهار تولید گیرنده‌های $TGF\beta$ در سطح فیبروبلاست‌ها، تشکیل اسکار و بافت فیروزه توسط $TGF\beta$ را مهار می‌کند (۲۳، ۲۴).

سابقه استفاده از گیاهان دارویی برای تهیه داروهای مختلف، به بیش از چندین هزار سال می‌رسد. در مطالعات متعدد، اثر گیاهان دارویی در درمان انواع بیماری‌ها بررسی شده است (۳)؛ از جمله این موارد گیاهانی‌اند که با استخراج روغن یا عصاره در درمان زخم‌ها و کنترل عفونت‌های مرتبط با زخم استفاده می‌شوند (۴).

اورئوس و انتروکوک^{۱۴} مقاوم به متی‌سیلین فعالیت دارد (۶). این ترکیب سال‌هاست در طب سنتی برای درمان زخم‌ها و بیماری‌های پوستی و ضد عفونی کردن آنها استفاده می‌شود (۲۵).

در مطالعه چوبکار و همکارانش، از موم زنبور عسل به منظور درمان زخم‌های پوستی در آبریزان استفاده شد. در این مطالعه غلظت‌های مختلف موم زنبور عسل بر میزان ترمیم زخم و نیز پاسخ ایمنی ارزیابی شد. نتایج نشان دادند در مقایسه با گروه شاهد، استفاده از موم زنبور عسل در غلظت ۲ درصد تأثیر معنی‌داری در روند ترمیم زخم پوستی و تحریک سیستم ایمنی در ماهی کپور پرورشی داشت (۳۳). در مطالعات متعدد دیگری اثر موم زنبور عسل بر زخم آبریزان (۳۴) و نیز لیشمانیوز پوستی در مدل حیوانی ارزیابی شده‌اند (۳۵، ۳۶). نتایج تمامی این مطالعات اثر نویدبخش موم زنبور عسل در التیام انواع زخم را نشان داده و در تناسب با یافته‌های مطالعه حاضر است.

در مطالعات متعدد، تأثیر روغن کنجد بر زخم‌های سوختگی ارزیابی شده است. یافته‌های این پژوهش‌ها نشان‌دهنده اثرگذاری این روغن به صورت مستقل یا در ترکیب با سایر مواد طبیعی روی زخم‌های سوختگی بوده است (۳۷-۳۹). یافته‌های این مطالعات با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی و انطباق دارند.

در مجموع، اظهار نظر قطعی در رابطه با استفاده از ضماد تولیدشده از عصاره پرده آمونیوتیک، عصاره گیاه ابوالخسا، موم زنبور عسل و روغن کنجد، در درمان زخم‌های سوختگی نیاز به مطالعات وسیع‌تر و تأییدکننده دارد؛ اما به نظر می‌رسد پتانسیل‌های این ضماد در درمان زخم از جمله زخم‌های سوختگی و کاهش عفونت زخم‌ها، نویدبخش و مزه‌دهنده ایجاد درمانی با عوارض جانبی کم، ارزان و ساده است.

در مطالعات متعدد در کشور ایران، تأثیر عصاره گیاه ابوالخسا بر زخم‌های سوختگی حاصل از لیزر (۲۵)، زخم‌های سوختگی موش (۱۶، ۲۶)، زخم‌های درجه دوم و سوم (۲۷) و نیز تأثیر آن بر تکثیر فیرو بلاست‌ها، رگ‌زایی و تولید کلاژن در آسیب‌های پوستی بررسی شده است (۲۸). در بررسی انجام‌شده در ایتالیا مشخص شد افزودن محلول اتانول و استون به مخلوط ۷ گیاه از شاخه گیاه گل گاوزبان باعث افزایش خاصیت میکروب‌کشی این مخلوط می‌شود (۱۶). در بررسی دیگری در اردن، مشخص شد این گیاهان در کاهش ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مؤثرند (۲۹). نصیری و همکارانش در سال ۲۰۱۶ در مطالعه‌ای روی بیماران مبتلا به سوختگی، نشان دادند استفاده از پماد گیاه *Arnebia euchroma* باعث التیام زودتر زخم‌های سوختگی درجه دو و کاهش التهاب و عفونت زخم‌ها می‌شود، همچنین شدت درد و سوزش در بیماران دریافت‌کننده این پماد کاهش یافته است (۱۵). گفتنی است در این مطالعه عوارض جانبی این پماد در برابر داروی شیمیایی سولفادیازین نقره کمتر گزارش شده است (۲۶، ۳۰). محققان مختلف خواص زیاد ترکیبات فعال ریشه *A. euchroma* را در مطالعات متعدد تأیید کرده‌اند. مشتقات نافتوکوئینون^۱ مانند آلکانین^۹، آلکانان^۱، شیکونین‌ها^{۱۱} و آرنین^{۱۲}، از ترکیبات فراوان در ریشه‌های *Arnebia* هستند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند *A. euchroma* سرشار از نافتوکوئینون‌ها، هیدروکسیناپتوکوئینون^{۱۳}، اسیدهای فنولیک و آلکالوئیدها است (۲۹، ۳۱). مشتقات نافتوکوئینون استخراج‌شده از *A. euchroma* دارای خواص ضدالتهابی و ضد عفونی‌کنندگی زخم‌اند (۳۲). شیکونین به عنوان یک مشتق ۱-۴ نافتوکوئینون، در برابر استافیلوکوکوس

References

- (1) Shahbazi S, Karam MRA, Habibi M, Talebi A, Bouzari S. Distribution of extended-spectrum β -lactam, quinolone and carbapenem resistance genes, and genetic diversity among uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Tehran, Iran. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2018; 14: 118-25.
- (2) Drašar P, Moravcova J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. *Journal of Chromatography B*. 2004; 812(1-2): 3-21.
- (3) Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, Armand R. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*. 2015; 6(09): 635.
- (4) Mohammed GJ, Alsudani AA, editors. Antibacterial evaluation of the chosen medical plants on pathogenic bacteria commonly related to the upper respiratory system infections. *Journal of Physics: Conference Series*; 2019: IOP Publishing.
- (5) Sharma R, Singh B, Singh D, Chandrawat P. Ethnomedicinal, pharmacological properties and chemistry of some medicinal plants of Boraginaceae in India. *J Med Plant Res*. 2009; 3(13): 1153-75.
- (6) Shen C-C, Syu W-J, Li S-Y, Lin C-H, Lee G-H, Sun C-M. Antimicrobial activities of naphthazarins from *Arnebia euchroma*. *Journal of Natural Products*. 2002; 65(12): 1857-62.
- (7) Zhang X, Cui J-H, Meng Q-Q, Li S-S, Zhou W, Xiao S. Advance in anti-tumor mechanisms of shikonin, alkannin and their derivatives. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2018; 18(2): 164-72.
- (8) Kumar CM, Singh SA. Bioactive lignans from sesame (*Sesamum indicum* L.): evaluation of their antioxidant and antibacterial effects for food applications. *Journal of food science and technology*. 2015; 52(5): 2934-41.
- (9) Shittu L, Bankole M, Ahmed T, Bankole M, Shittu R, Saalu C, et al. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of crude extracts of *Sesame radiatum* against some common pathogenic micro-organisms. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. 2008; 6(2): 165-70.
- (10) Ghanem NB. The Antimicrobial Activity of Some Honey Bee Products and some Saudi Folkloric Plant Extracts. *Journal of King Abdulaziz University: Science*. 2011; 148(634): 1-32.
- (11) Nagori BP, Solanki R. Role of medicinal plants in wound healing. *Research Journal of Medicinal Plant*. 2011; 5(4): 392-405.
- (12) Budovsky A, Yarmolinsky L, Ben-Shabat S. Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2015; 23(2): 171-83.
- (13) He H, Li W, Chen S-Y, Zhang S, Chen Y-T, Hayashida Y, et al. Suppression of activation and induction of apoptosis in RAW264. 7 cells by amniotic membrane extract. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2008; 49(10): 4468-75.
- (14) Go YY, Kim SE, Cho GJ, Chae S-W, Song J-J. Differential effects of amnion and chorion membrane extracts on osteoblast-like cells due to the different growth factor composition of the extracts. *PLoS one*. 2017; 12(8).
- (15) Nasiri E, Hosseinimehr SJ, Hosseinzadeh AZ, Azadbakht M, Akbari J, Azadbakht M. The effects of *Arnebia euchroma* ointment on second-degree burn wounds: a randomized clinical trial. *Journal of ethnopharmacology*. 2016; 189: 107-16.
- (16) Mohsenikia M, Khakpour S, Azizian Z, Ashkani-Esfahani S, Razavipour ST, Toghiani P. Wound healing effect of *Arnebia euchroma* gel on excisional wounds in rats. *Advanced biomedical research*. 2017; 6.
- (17) Brown NJ, Kimble RM, Rodger S, Ware RS, Cuttle L. Play and heal: randomized controlled trial of Ditto™ intervention

- efficacy on improving re-epithelialization in pediatric burns. *Burns*. 2014; 40(2): 204-13.
- (18) Loeffelbein DJ, Rohleder NH, Eddicks M, Baumann CM, Stoeckelhuber M, Wolff K-D, et al. Evaluation of human amniotic membrane as a wound dressing for split-thickness skin-graft donor sites. *BioMed research international*. 2014; 2014.
- (19) Haugh AM, Witt JG, Hauch A, Darden M, Parker G, Ellsworth WA, et al. Amnion membrane in diabetic foot wounds: a meta-analysis. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*. 2017; 5(4).
- (20) Eskandarlou M, Azimi M, Rabiee S, Rabiee MAS. The healing effect of amniotic membrane in burn patients. *World journal of plastic surgery*. 2016; 5(1): 39.
- (21) Mohammadi AA, Sabet B, Riazi H, TAVAKOLIAN A, Mohammadi MK, IRAN PS. Human amniotic membrane dressing: an excellent method for outpatient management of burn wounds. 2009.
- (22) King A, Paltoo A, Kelly R, Sallenave J-M, Bocking A, Challis J. Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. *Placenta*. 2007; 28(2-3): 161-9.
- (23) Mamede AC, Carvalho M, Abrantes AM, Laranjo M, Maia C, Botelho M. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell and tissue research*. 2012; 349(2): 447-58.
- (24) KIM JS, KIM JC, NA BK, JEONG JM, SONG CY. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn. *Experimental eye research*. 2000; 70(3): 329-37.
- (25) Aliasl J, Khoshzaban F, Barikbin B, Naseri M, Kamalinejad M, Emadi F, et al. Comparing the healing effects of *Arnebia euchroma* ointment with petrolatum on the ulcers caused by fractional CO₂ laser: a single-blinded clinical trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2014; 16(10).
- (26) Nasiri E, Hosseinimehr SJ, Azadbakht M, Akbari J, Enayati-Fard R, Azizi S, et al. The healing effect of *Arnebia euchroma* ointment versus silver sulfadiazine on burn wounds in rat. *World journal of plastic surgery*. 2015; 4(2): 134.
- (27) Ashkani-Esfahani S, Imanieh M, Khoshneviszadeh M, Meshksar A, Noorafshan A, Geramizadeh B, et al. The healing effect of *arnebia euchroma* in second degree burn wounds in rat as an animal model. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2012; 14(2): 70.
- (28) Ashkani Esfahani S, Imanieh MH, Meshksar A, Khoshneviszadeh M, Noorafshan A, Geramizadeh B, et al. Topical *Arnebia euchroma* gel enhanced fibroblast proliferation, vascularization and collagen synthesis in the healing process of third degree burn wounds. *Int Res J Pharm Pharmacol*. 2012; 2(10).
- (29) Ashkani-Esfahani S, Imanieh MH, Meshksar A, Khoshneviszadeh M, Noorafshan A, Geramizadeh B, et al. Enhancement of fibroblast proliferation, vascularization and collagen synthesis in the healing process of third-degree burn wounds by topical *arnebia euchroma*, a herbal medicine. *Galen Medical Journal*. 2013; 1(2): 53-9.
- (30) Khorasani G, Hosseinimehr SJ, Azadbakht M, Zamani A, Mahdavi MR. Aloe versus silver sulfadiazine creams for second-degree burns: a randomized controlled study. *Surgery today*. 2009; 39(7): 587-91.
- (31) Papageorgiou V, Assimopoulou A, Ballis A. Alkannins and shikonins: a new class of wound healing agents. *Current medicinal chemistry*. 2008; 15(30): 3248-67.
- (32) Pirbalouti AG, Azizi S, Koohpayeh A. Healing potential of Iranian traditional medicinal plants on burn wounds in alloxan-induced diabetic rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2012; 22(2): 397-403.
- (33) Choubkar N, Sari A, Bolandnazar A, Heshmati H, Mohammadi F, Shahbazian N, et al. The effect of different concentrations

of bee propolis on skin wound healing and immune response and survival of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*. 2014; 7 (4 (28) Winter): 300-12.

(34) Fattollahi M. The Comparision of Therapeutic Effect of Propolis Extract and Phenytoin on the Wound of Koi Fish *Cyprinus carpio haematopterus*. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*. 2017; 30 (1): 22-32.

(35) Gheibi N, Teimouri H, Kochaki R, Mehri A, Azizi SR, Kiani R, et al. The effects of combination of honey, ostrich oil and propolis on skin wound healing in rats. *Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences*. 2018; 5 (4): 39-45.

(36) Shirani-Bidabadi L, Mahmoudi MO, Saberi SE, Zolfaghari-Baghbaderani A, Nilforoushzadeh MA, Abdoli H, et al. The effectiveness of mix extracts of Thyme, Yarrow and Propolis on Cutaneous Leishmaniasis: a comparative study in animal model (Balb/c). *Tehran University Medical Journal*. 2009; 66 (11): 785-90.

(37) Yadegari K, Javad F. *Evaluation of the effect of Sesame Oil in the treatment of grade 2 deep burns in rats and its comparison with sulfadiazine, Vaseline and control ointment*; 2018.

(38) Jouybari L, Kor A, Sanagoo A, Tazikeh A, Aman Mohamadi BB. The Study of Use of Topical Application of Rosted *Elaeagnus Angustifolia* Powder in Sesame Oil and Recovery of Second-Degree Burns. *cmja*. 2013; 3 (3): 595-601.

(39) Yousefi S, Pooryousef Miandoab M, Aramideh S. Antibacterial Properties of Ozonated Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) and Sesame (*Sesamum Indicum* L.) Oils on *Staphylococcus Aureus*. *Iran J Med Microbiol*. 2019; 13 (2): 132-36.

⁶- Brown

⁷- Loeffelbein

⁸- Naphthoquinone

⁹- Alkannin

¹⁰- alkannan

¹¹- shikonins

¹²- arnebin-2

¹³- hydroxynaphthoquinone

¹⁴- Enterococcus

¹- Shikonin

²- Naphthoquinone

³- Alkanin

⁴- Minimal inhibitory concentrations

⁵- *Acinetobacter baumannii*