

تأثیر عصاره آبی گیاه خرزهره بر روی گونه های استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیس

سحر هامون نورد^۱، علی محمد بهرامی^۲، مصطفی رزمجو^۳، مجید اسدی سامانی^{۴*}، معصومه حاتمی لک^۲

^۱گروه میکروبیولوژی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ ^۲گروه پاتولوژی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران؛ ^۳گروه پاتولوژی، دانشگاه رازی، دانشگاه رازی

کرمانشاه، کرمانشاه، ایران؛ ^۴مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۸ اصلاح نهایی: ۹۱/۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۲۶

چکیده:

زمینه و هدف: مقاومت آنتی بیوتیکی زمینه را برای جایگزین نمودن روش های درمانی گیاهی دارای عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای رایج فراهم نموده است. این مطالعه با هدف تعیین اثر ضد میکروبی گیاه خرزهره (*Nerium oleander*) بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیس انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی اثر عصاره آبی برگ و گل گیاه خرزهره به صورت مجزا با روش جوشاندن در سه غلظت ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر با مقادیر ۴۰، ۲۰ و ۸۰ میکرولیتر بر دو گونه استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیس، با ایجاد چاهک و تلقیح عصاره بررسی شد. همچنین تست آنتی بیوگرام با سه آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین، اریترومايسين و پنی سیلین بر روی این دو گونه انجام گرفت. قطر هاله های عدم رشد اندازه گیری شد و اثر عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: در تست آنتی بیوگرام استافیلوکوکوس اورئوس به اریترومايسين حساس و به پنی سیلین و اکسی تتراسایکلین مقاوم بود. استافیلوکوکوس اپیدرمیس به اریترومايسين نسبتاً مقاوم و به اکسی تتراسایکلین و اریترومايسين مقاوم بود. استافیلوکوکوس اورئوس به مقادیر ۴۰ و ۸۰ میکرولیتر از غلظت ۲۵ mg/ml، کلیه مقادیر از غلظت ۵۰ mg/ml عصاره برگ و کلیه مقادیر از غلظت ۵۰ mg/ml عصاره گل حساس بود ولی استافیلوکوکوس اپیدرمیس به هیچ کدام از غلظت های عصاره حساسیت نشان نداد. در تمامی غلظت ها با افزایش میزان عصاره از ۲۰ تا ۸۰ میکرولیتر، میانگین قطر هاله افزایش نشان داد. عصاره برگ از عصاره گل گیاه اثر مهارتی بیشتری داشت.

نتیجه گیری: با توجه به افزایش روز افزون مقاومت های آنتی بیوتیکی، عصاره گیاه خرزهره می تواند به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی جدید جهت استعمال خارجی عفونت های زخمی و رفع آلودگی های سطحی پیشنهاد گردد.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اپیدرمیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اثر ضد میکروبی، گیاه خرزهره، مقاومت آنتی بیوتیکی.

مقدمه:

(۱). گیاه خرزهره با نام علمی *Nerium oleander*، درختچه ای زینتی، پرشاخه، سمی و همیشه سبز از راسته گل سپاسی سانان (*Gentianales*)، تیره ی خرزهرگان (*Apocynaceae*) است. خرزهره دارای ساقه های بسیار، برگ های سه تایی و گل های رنگین بوده که در نقاط گرم و خشک، جنوب اروپا، شمال آفریقا و نیز در آسیا

مطالعه گیاهان دارویی به منظور کشف روش های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است. بر اساس گزارشات منتشر شده در حال حاضر بیش از ۳۰ درصد داروهای گیاهی، در بیمارستان ها و کلینیک ها مورد استفاده قرار می گیرند

* نویسنده مسئول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی، معاونت تحقیقات و فناوری، تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۴۹۵۰۹

E-mail: Biology_2011@yahoo.com

بالای مقاومت آن ها، همواره کشف داروهای جدید ضروری به نظر می رسد.

این مطالعه با هدف ارزیابی اثر عصاره آبی برگ و گل گیاه خرزهره بر باکتری های شایع بیماری زا گرم مثبت و مقاوم به آنتی بیوتیک /استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیس طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی گیاه خرزهره (*Nerium oleander*) در فصل تابستان پس از جمع آوری از مناطق مختلف شهرستان ایلام، توسط متخصص علوم گیاهی دانشگاه ایلام شناسایی شد. برگ ها و گل های گیاه جمع آوری شده، تمیز و بطور جداگانه عصاره گیری شدند. به منظور تهیه عصاره گیاهی مقدار ۵۰ گرم نمونه تازه به همراه آب مقطر درون یک ارلن ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد جوشانده شد. سپس عصاره های حاصل را با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلتر و داخل فور به مدت ۲۴ ساعت با حرارت ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا پودر عصاره تهیه شود. از برگ و گل گیاه بطور مجزا مقدار ۱ گرم پودر بدست آمده که هر کدام از آن ها در ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل و غلظت های مختلفی از عصاره (۵/۲۵، ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) محاسبه و آماده گردید. غلظت های تعیین شده عصاره، جهت اطمینان از عدم آلودگی در آگار مغذی کشت و بمدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد.

برای تهیه نمونه باکتریایی، با استفاده از سواب استریل، نمونه هایی از مخاط بینی تعدادی موش سوری کلینیک دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام اخذ گردید. نمونه های جمع آوری شده، جهت تشخیص و خالص سازی به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پیرادامپزشکی ایلام انتقال یافتند. پس از انجام رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی کاتالاز، کواگولاز و کشت در محیط های مانیتول سالت آگار (MSA)،

و ایران می روید. گیاهان تیره خرزهره از نظر شکل ظاهری، اختلاف بسیار با یکدیگر دارند، مانند آن که عده ای از آن ها به صورت علفی یا بوته هایی با ساقه راست و بعضی دیگر به صورت درخت یا درختچه می باشند. برخی از گیاهان این تیره مصارف دارویی ارزنده داشته و بعضی از آن ها نیز سمی و کشنده اند (۲). در مطالعات مختلف اثرات درمانی این گیاه همچون اثرات ضد سرطانی (۳،۴)، ضد استرس (۵،۶)، ضد التهابی و ضد درد (۷)، تعدیل کنندگی سیستم ایمنی (۸) و اثر بر روی مراحل اسپرماتوژنز (۹) نشان داده شده است. همچنین در مطالعه رخشنده و همکاران اثر ضد قارچی و ضد میکروبی این گیاه بر کاندیدا آلیکانس، میکرو اورگانیزم های استاندارد و بیمارستانی همچون *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پسودوموناس آئروژینوزا* بررسی شده است. در مطالعه آنان عصاره های هیدروالکلی و آبی (روش خیساندن) مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰). ولی از آنجایی که در اکثر موارد مردم از روش جوشاندن برای تهیه داروی گیاهی استفاده می نمایند، در مطالعه حاضر از روش جوشاندن برای تهیه عصاره استفاده شده است و علاوه بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، گونه *اپیدرمیس* نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است؛ همچنین بخش های گل و برگ گیاه به تفکیک مورد ارزیابی قرار گرفته اند.

استافیلوکوک اورئوس در عفونت هایی نظیر آبسه، مسمومیت غذایی، سوختگی های درجه ۳، زخم های ترومایی، برش های جراحی، زخم بستر و یا زخم های آتروفی حائز اهمیت است و *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* در عفونت های فرصت طلب و عفونت ادراری مطرح می باشد. تحقیقات نشان می دهند میزان مقاومت در بین سویه های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* بین ۷۰ تا ۹۰ درصد و در مورد سایر استافیلوکوک های کواگولاز منفی ۶۰ درصد می باشد (۱۱). اثرات گیاهان دارویی مختلف روی این دو گونه در مطالعات متعددی بررسی شده است (۱۲، ۱۳، ۱۴)؛ با این حال با توجه به میزان

بلاد آگار (Blood A) و تریپتون سوی آگار (TSA)، جداسازی و خالص سازی دو گونه استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس ایپیدرمیس انجام گرفت. برای تهیه سوسپانسیون این باکتری ها از محیط تریپل سوگر براث (TSB) استفاده شد. جهت تهیه غلظت نیم مک فارلند (McFarland) از سوسپانسیون باکتری، از محیط TSB که قبلاً استریل و در دسترس بوده، چند کلنی از دو گونه کشت خالص باکتری برداشته و به صورت مجزا در محیط TSB کشت و پس از تهیه نیم مک فارلند، محیطها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت حداقل ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس از کلنی باکتری ها، کشت به صورت چمنی و به تعداد ۳۶ پلیت در محیط مولر هیتون آگار (M.H.A) انجام گرفت. در ادامه با استفاده از انتهای پیت پاستور، نسبت به تعبیهی چاهک و به تعداد سه عدد در هر پلیت به فواصل ۲۵ میلیمتر از یکدیگر و ۱۵ میلیمتر از دیواره پلیت اقدام شد. ته هر چاهک با مقدار اندکی از محیط کشت پوشانده، بطوری که عمق هر چاهک ۵-۶ میلیمتر بود. در هر پلیت از هر غلظت عصاره گیاه (۱۲،۲۵/۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرولیتر با سه تکرار بطور مجزا، داخل هر چاهک با استفاده از سمپلر تلقیح صورت گرفت. سپس بمدت ۲۰ دقیقه و تا زمانی که عصاره بخوبی در محیط نفوذ نماید صبر نموده و آنگاه پلیتها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت نتیجه بررسی شد. لازم به ذکر است که همین روش برای هر دو گونه باکتری و با دو عصاره برگ و گل گیاه به صورت مجزا انجام پذیرفت. تست آنتی بیوگرام برای هر دو گونه باکتری با استفاده از دیسکهای آنتی بیوتیکی شامل: اکسی تتراسایکلین (T30)، اریترومايسين (E15) و پنی سیلین (P10) (شرکت پادتن طب) انجام گرفت. دلیل انتخاب این آنتی بیوتیکها، اثر آنها بر باکتریهای گرم مثبت بویژه

جنس استافیلوکوکوس و تشخیص گونه مقاوم به پنی سیلین بود. پس از تلقیح عصاره و تست آنتی بیوگرام، جهت ارزیابی قطر هاله عدم رشد باکتری و مقایسه نتایج، با استفاده از خط کش با دقت ۱ میلیمتر اندازه گیری صورت گرفت و از مقادیر بدست آمده میانگین گرفته شد.

یافته‌ها:

در ارزیابی اثر آنتی بیوتیکها، هر دو گونه باکتری به دیسک اکسی تتراسایکلین و پنی سیلین مقاوم بودند. اما باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اریترومايسين حساس (میانگین قطر هاله عدم رشد برابر $1/28 \pm 16/8$ میلی متر) و باکتری استافیلوکوکوس ایپیدرمیس به اریترومايسين نسبتاً مقاوم (میانگین قطر هاله عدم رشد برابر $0/38 \pm 9$ میلی متر) مشاهده شد. با محاسبه میانگین مقادیر هاله عدم رشد باکتری، در بررسی اثر عصاره برگ گیاه بر گونه اورئوس، در غلظت ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر هیچ هاله عدم رشدی مشاهده نشد؛ اما در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر باکتری حساس بود. در گونه ایپیدرمیس در غلظت‌های ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر مقاوم بوده و در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر نسبتاً مقاوم بود (جدول شماره ۱). در بررسی اثر عصاره گل گیاه، گونه اورئوس در غلظت ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر مقاوم، در غلظت ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر نسبتاً مقاوم و در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر حساس بود. گونه ایپیدرمیس در غلظت‌های ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر مقاوم، اما در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر نسبتاً مقاوم بود (جدول شماره ۲). در تمامی غلظت‌ها با افزایش میزان عصاره از ۲۰ تا ۸۰ میکرولیتر، میانگین قطر هاله عدم رشد افزایش نشان داد (جدول شماره ۱ و ۲).

جدول شماره ۱: مقادیر قطر هاله عدم رشد باکتری های تحت تیمار با عصاره آبی برگ خرزهره.

غلظت عصاره	میزان عصاره	قطر هاله عدم رشد	غلظت عصاره	میزان عصاره	قطر هاله عدم رشد
۱۲/۵	۲۰	۰	۱۲/۵	۲۰	۰
۱۲/۵	۴۰	۰	۱۲/۵	۴۰	۰
۱۲/۵	۸۰	۰	۱۲/۵	۸۰	۰
۲۵	۲۰	$۲/۴۲ \pm ۰/۰۵$	۲۵	۲۰	$۱۰/۵ \pm ۱/۴۶$
۲۵	۴۰	$۴/۵ \pm ۰/۵۶$	۲۵	۴۰	$۱۴/۶۷ \pm ۳/۶۶$
۲۵	۸۰	$۶ \pm ۰/۶۶$	۲۵	۸۰	$۱۶/۲۳ \pm ۴/۰۶$
۵۰	۲۰	$۵/۰۷ \pm ۰/۱۲$	۵۰	۲۰	$۱۹/۰۷ \pm ۰/۹۱$
۵۰	۴۰	$۶/۸۳ \pm ۰/۰۲$	۵۰	۴۰	$۲۱/۵ \pm ۳/۱۲$
۵۰	۸۰	$۹/۵ \pm ۰/۱۲$	۵۰	۸۰	$۲۳/۴۲ \pm ۳/۵۲$

واحد غلظت عصاره ها میلی گرم بر میلی لیتر؛ واحد میزان عصاره میکرولیتر؛ واحد میانگین قطر هاله میلیمتر می باشد. داده ها به صورت "میانگین \pm انحراف معیار" هستند.

برای عصاره های گیاهی و آنتی بیوتیک ها، مقادیر ۰ تا ۸ میلیمتر مقاوم، ۸ تا ۱۰ میلیمتر نسبتاً مقاوم، حساس احتساب گردید. ۱۰ تا ۱۲ میلیمتر نیمه حساس و بیشتر از ۱۲ میلیمتر حساس احتساب گردید.

جدول شماره ۲: مقادیر قطر هاله عدم رشد باکتری های تحت تیمار با عصاره آبی گل خرزهره.

غلظت عصاره	میزان عصاره	میانگین قطر هاله	غلظت عصاره	میزان عصاره	میانگین قطر هاله
۱۲/۵	۲۰	۰	۱۲/۵	۲۰	۰
۱۲/۵	۴۰	۰	۱۲/۵	۴۰	۰
۱۲/۵	۸۰	۰	۱۲/۵	۸۰	۰
۲۵	۲۰	$۵/۹۲ \pm ۰/۰۶$	۲۵	۲۰	$۲/۲۳ \pm ۰/۴۸$
۲۵	۴۰	$۷/۳۳ \pm ۰/۸۶$	۲۵	۴۰	$۶ \pm ۰/۳۸$
۲۵	۸۰	$۹/۱۷ \pm ۱/۱۶$	۲۵	۸۰	$۸/۹ \pm ۰/۲۴$
۵۰	۲۰	$۱۴ \pm ۰/۴۸$	۵۰	۲۰	$۴ \pm ۰/۱۲$
۵۰	۴۰	$۱۶/۵ \pm ۰/۳۲$	۵۰	۴۰	$۷/۵ \pm ۰/۱۶$
۵۰	۸۰	$۱۸/۲۳ \pm ۰/۶۲$	۵۰	۸۰	$۹ \pm ۰/۴۲$

واحد غلظت عصاره ها میلی گرم بر میلی لیتر؛ واحد میزان عصاره میکرولیتر؛ واحد میانگین قطر هاله میلیمتر می باشد. داده ها به صورت "میانگین \pm انحراف معیار" هستند.

بحث:

به همراه آب و عدم استفاده از مواد شیمیایی جهت عصاره‌گیری گیاه در این مطالعه بکار رفته است که می‌تواند اثرات ضد میکروبی ترکیباتی از گیاه که در اثر جوشیدن از بین نمی‌روند را نیز نشان دهد، ولی برای تأیید فعالیت زیستی ترکیبات موجود در گیاه تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت عصاره آبی گیاه خرزهره که به روش جوشاندن تهیه شده است هنوز می‌تواند در درمان‌های سنتی مورد استفاده قرار گیرد و اثرات ضد میکروبی قابل قبولی از خود نشان دهد. در مطالعه Tannua و همکاران عصاره اتانولی گیاه خرزهره نسبت به سایر عصاره‌ها فعالیت ضد میکروبی بیشتری علیه باکتری‌های مورد آزمایش نشان داده است (۲۱). همچنین در دیگر مطالعه عصاره اتانولی برگ گیاه خرزهره نسبت به عصاره اتانولی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) اثر قوی‌تر و طیف وسیع‌تری از فعالیت ضد میکروبی داشته است (۲۰). البته در برخی مطالعات عصاره گیاهی که با استفاده از هگزان استخراج شده باشد به عنوان عصاره موثرتر علیه فعالیت ضد میکروبی و در برخی دیگر عصاره متانولی نسبت به روش‌های استخراج دیگر همچون عصاره آبی، عصاره هگزانولی و یا اتانولی موثرتر معرفی شده است (۲۲) و چنین استنباط می‌شود که اکثر ترکیبات شناسایی شده با فعالیت ضد میکروبی از گیاهان دارویی، ترکیبات آروماتیک یا ترکیبات آلی اشباع هستند که این ترکیبات در حلال‌های الکلی همچون متانول و اتانول حلالیت بیشتری دارند. با این وجود در کلیه موارد علت این اختلافات، تفاوت در نوع ترکیبات گیاهی یافت شده در گیاهان دارویی می‌باشد.

در مطالعه بی‌دریغ و همکاران ترکیباتی همچون فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، آلکالوئیدها و خصوصاً ترکیبات فنولی از عصاره الکلی برگ گیاه جداسازی و شناسایی شده است (۲۰). در دیگر مطالعه، Derwich و

آنتی بیوتیک‌ها داروهای ارزشمندی برای درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی می‌باشند، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت‌های میکروبی را در پی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیقات بر روی قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشا گیاهی را در اولویت قرار داده‌اند (۱۵). نتایج این پژوهش تجربی نشان داد که عصاره آبی برگ و گل گیاه دارویی خرزهره اثر مهاری قابل قبولی روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است ولی این اثرات بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* ناچیز بوده است.

امروزه مطالعات زیادی بر اساس تأثیر عصاره گونه‌های مختلف گیاهی بر میکروارگانیسم‌های باکتریایی از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اپیدرمیس* انجام گرفته است که شامل اثر مهاری گونه‌های مختلف گیاهی خصوصاً زرشک بر باکتری‌های عامل عفونت ادراری نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اپیدرمیس* (۱۶) و تأثیر عصاره الکلی گیاه گزنه بر *استافیلوکوک*‌های مقاوم به متی‌سیلین بوده است (۱۷). در مواردی نیز اثر عصاره گیاهی کاسنی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و سفالکسین مقایسه و تأثیر این عصاره بر باکتری *استافیلوکوک اورئوس* مشخص شده است (۱۸). در مطالعه حاضر اثر عصاره آبی گیاه خرزهره جمع‌آوری شده از شهرستان ایلام بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* بررسی شد. در برخی مطالعات نیز خواص ضد میکروبی عصاره برگ گیاه خرزهره با روش‌های استخراج متفاوت بر تعدادی از باکتری‌ها بررسی شده است (۱۹). همچنین اثرات ضدقارچی و ضد میکروبی عصاره‌های مختلف این گیاه بر پاتوژن‌های گیاهی مشخص شده است (۲۰). با این حال تأثیر عصاره آبی برگ و گل گیاه خرزهره به صورت مجزا بر گونه‌های مورد مطالعه انجام نشده بود. از سویی دیگر، روش ساده جوشاندن

بلاخص در برگ آن بوده است که حتی پس از جوشیدن اثر سمیت خود را همچنان حفظ می‌کنند. بر اساس مطالعات انجام شده در بین ترکیبات گیاه خرزهره، اولئاندرین (Oleandrin) و نرئین از مهمترین سموم گیاهی شناخته شده اند که در مقادیر بالاتری در برگ های گیاه وجود دارند و اثرات ضد باکتریایی گیاه به آن ها نسبت داده می‌شود (۲۷-۲۵).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره آبی برگ و گل گیاه خرزهره بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری خوبی داشت که حتی در غلظت‌های متوسط بالاتر، این اثرات مهاری بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و اریترومايسين بودند. لذا اثر مهار رشد عصاره گیاه خرزهره بر گونه اورئوس می‌تواند با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بیماری‌زایی این باکتری حائز اهمیت باشد و از دیدگاه تهیه یک ترکیب ضد میکروبی با استعمال خارجی قابل توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از زحمات کادر پژوهشی و آزمایشگاهی دانشگاه ایلام و کلیه کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

همکاران ترکیبات موجود در روغن ضروری گل گیاه را با استفاده از تکنیک های کروماتوگرافی شناسایی نمودند و وجود ۳۴ ترکیب در روغن را تأیید کردند. در مطالعه آنان مهمترین ترکیب موجود در گل گیاه، نرئین (Neriine) بوده است و دیگر ترکیبات شناسایی شده شامل دیجی توکسی ژنین (Digitoxigénine)، آمورفان (Amorphane)، سینئول (1,8-cineole)، آلفا پینن (α -pinene)، کالارن (Calarene)، لیمونن (Limonene) و سایر ترکیبات با مقادیر جزئی تر هستند (۲۳). آن ها همچنین در مطالعه خود اثر ضد میکروبی گل گیاه بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* را نیز نشان داده اند که با نتایج مطالعه حاضر همسو می باشد.

در میان آنتی‌بیوتیک‌ها این دو گونه باکتری به اکسی‌تتراسایکلین و به پنی‌سیلین مقاوم بودند و این یافته بدلیل تولید آنزیم بتالاکتاماز در جنس *استافیلوکوکوس* معمول بوده که موجب مقاومت باکتری نسبت به بسیاری از پنی‌سیلین‌ها (نظیر پنی‌سیلین G، آمپی‌سیلین و تیکارسیلین) می‌گردد (۲۴). در گونه اورئوس اثر مهاری عصاره برگ بیشتر از آنتی‌بیوتیک اریترومايسين، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین مشاهده شد؛ که این نتایج نشان از مقاومت دارویی گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک های رایج و اثر عصاره گیاه بر این گونه می‌باشد. احتمالاً اثرات دارویی این گیاه بدلیل وجود برخی ترکیبات سمی، گلیکوزیدهای فراوان

منابع:

1. Yang YE, Li XQ, Tang CP. Natural products chemistry research 2006's progress in china. Chin J Nat Med. 2008; 6: 70-8.
2. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran Univ Pub. 1993.
3. Pathak S, Multani AS, Narayan S, Kumar V, Newman RA. Anvirzel, an extract of *Nerium oleander*, induces cell death in human but not murine cancer cells. Anticancer Drugs. 2000 Jul; 11(6): 455-63.
4. Smith JA, Madden T, Vijjeswarapu M, Newman RA. Inhibition of export of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) from the prostate cancer cell lines PC3 and DU145 by Anvirzel and its cardiac glycoside component, oleandrin. Biochem Pharmacol. 2001 Aug; 62(4): 469-72.

5. Siddiqui BS, Sultana R, Begum S, Zia A, Suria A. Cardenolides from the methanolic extract of *Nerium oleander* leaves possessing central nervous system depressant activity in mice. J Nat Prod. 1997 Jun; 60(6): 540-4.
6. Zia A, Siddiqui BS, Begum S, Siddiqui S, Suria A. Studies on the constituents of the leaves of *Nerium oleander* on behavior pattern in mice. J Ethnopharmacol. 1995 Nov; 49(1): 33-9.
7. Langford SD, Boor PJ. Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic exposures. Toxicology, 1996 May; 109(1): 1-13.
8. Al-Farwacchi MI. In vitro and in vivo immunodulatory activities of *Nerium oleander* aqueous leaf extract in rabbits. J Anim Vet Adv. 2007; 6: 1047-50.
9. Jeong SE, Lee Y, Hwang JH, Knipple DC. Effects of the sap of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera, Noctuidae). J Exp Biol. 2001 Nov; 204(22): 3935-42.
10. Rakhshandeh H, Brushki M, Sadeghian A, Parsaie H. Antibacterial effect of different extracts of *Nerium oleander* on nosocomial microorganisms and standard ones. Koomesh. 2004; 6(6): 37-42.
11. Nwanze PI, Nwaru LM, Oranusi S, Dimkpa U, Okwu MU, Babatunde BB. Urinary tract infection in Okada village: Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern. Sci Res Essays. 2007; 2 (4): 112-6.
12. Tasdelen Fisgin N, Tanriverdi Cayci Y, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, et al. Antimicrobial activity of plant extract *Ankaferd Blood Stopper*. Fitoterapia. 2009; 80(1): 48-50.
13. Elumalai E, Ramachandran M, Thirumalai T, Vinothkumar P. Antibacterial activity of various leaf extracts of *Merremia emarginata*. Asian Pac J Trop Biomed. 2011; 1(5): 406-8.
14. Trentin DdS, Giordani RB, Zimmer KR, Da Silva AG, Da Silva MV, Correia MTdS, et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. J Ethnopharmacol. 2011; 137(1): 327-35.
15. Islam S, Rahman A, Sheikh MI, Rahman M, Jamal AHM, Alam F. In vitro antibacterial activity of methanol seed extract of *elettaria cardamomum* (L.) maton. Agri Conspec Sci. 2010; 75(3): 113-7.
16. Kiyaei E, Mazandarani M, Ghaemi E. Effect of ethanol extract of seven medicinal plants on isolated bacterium from patients with urine infection at Gorgan County. J Med Plants. 2010; 9(34): 74-83.
17. Modaresi Chahardehi A, Ebrahim D, Fariza Soliman SH, Abolhasani F. Effect of alcoholic extract of *Urtica dioica* L. on some of gram negative and gram positive bacteria. J Med Plants. 2012; 9(42): 74-83.
18. Ghaderi R, Hassanpour M, Saadatjo A. Comparison of antibacterial effect of alcoholic extract of *Cichorium Intybus* with Gentamycin and Cephalexin. J Birjand Univ Med Sci. 2005; 11(4): 9-15.
19. Hussain MA, Gorski MS. Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. Asian J Plant Sci. 2004; 3: 177-180.
20. Bidarigh S, Massiha A, Pahlaviani MRK, Issazadeh K, Muradov PZ, Azarpour E. Antimicrobial (screening) properties of various plant extracts from *Ocimum basilicum* L. and *Nerium oleander* L. against fungal common rots of potato in vitro bioassay. J Basic Appl Sci Res. 2012; 2(7): 6810-15.
21. Tannua G, Gupta A, Suresh Kumar KS. Anti-microbial activity of *Nerium oleander* stems extract. IJPPR. 2011; 2(1): 210-1.

22. Matu EN, van Staden J. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *J Ethnopharmacol.* 2003; 87(1): 35-41.
23. Derwich E, Benziane Z, Boukir A. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil from flowers of *Nerium oleander*. *Elec J Env Agricult Food Chem.* 2010; 9(6): 1074-84.
24. Nordmann P, Naas T, Fortineau N, Poirel L. Superbugs in the coming new decade; multidrug resistance and prospects for treatment of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* in 2010. *Current opinion in microbiology.* 2007; 10(5): 436-40.
25. Goktas O, Mammadov R, Duru ME, Ozen E, Colak AM. Application of extracts from the poisonous plant, *Nerium Oleander* L., as a wood preservative. *Afr J Biotechnol.* 2010; 6(17): 2000-3.
26. Jawarkar A, Shirao A, Mohale D, Chandewar A, Chipade V, Dongre V. Brief review on medicinal potential of *Nerium indicum*. *Int J Inst Pharm Life Sci.* 2012; 2(2): 521-7.
27. Zibbu G, Batra A. A review on chemistry and pharmacological activity of *Nerium oleander* L. *J Chem Pharm Res.* 2010; 2(6): 351-8.

Evaluation of *Nerium oleander* aqueous extract effect on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*

Hamon-Navard S (MSc)¹, Bahrami AM (MSc)², Razmjou M (PhD)³, Asadi-Samani M (MSc)⁴, Hatami-Lak M (BSc)²

¹Microbiology Dept Urmia University, Urmia, I.R. Iran; ²Pathology Dept., Ilam University, Ilam, I.R. Iran; ³Pathology Dept., Kermanshah Razi University, Kermanshah, I. R. Iran; ⁴Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 5/Sep/2012 Revised: 26/Sept/2012 Accepted: 31/Jan/2013

Background and aims: Antibiotic resistance has paved the way for replacing conventional medications with herbal therapies that supposedly have less side-effects. The present study aimed to investigate the antibacterial effect of *Nerium oleander* on strains of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*.

Methods: In this experimental study, the aqueous extract effect of *Nerium oleander*'s leaf and flower on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis* was independently investigated through boiling at three 12.5, 25 and 50 mg/ml concentrations, in 20, 40 and 80 µl by well diffusion and disk methods. Antibiogram test was performed on these two strains with three antibiotics, namely, oxitetracycline, erythromycin and penicillin. The diameter zone of inhibition was measured and the effect of extract was evaluated.

Results: According to antibiogram test *Staphylococcus aureus* was sensitive to erythromycin, but resistant to oxitetracycline and penicillin. *Staphylococcus epidermis* was relatively resistant to erythromycin, but resistant to oxitetracycline and penicillin. *Staphylococcus aureus* was sensitive to 40 and 80 µl in 25 mg/ml concentration and all amounts of leaf extract in 50 mg/ml concentration. But *staphylococcus epiderm* is showed no sensitivity to the mentioned concentrations. In all concentration adding the amount of extract from 20 to 80 µl, mean of diameter zone was increased. Leaf extract has more inhibitory effect compare to flower extract.

Conclusion: Regarding the fact that antibiotic resistance is growing, the extract of *Nerium oleander* could be used as an antibacterial compound for external application on wounds and removal of epidermal infections.

Keywords: Antibacterial effect, Antibiotic resistance, *Nerium oleander*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*.

Cite this article as: Hamon-Navard S, Bahrami AM, Razmjou M, Asadi-Samani M, Hatami-Lak M. Evaluation of *Nerium oleander* aqueous extract effect on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Apr, May; 15(1): 46-54.

***Corresponding author:**

Vice Chancellery for Technology of Research, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00983813349509, E-mail: biology_2011@yahoo.com