View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۸، شماره ۳/ پائیز ۱۳۸۵/ ۳۳-۲۵

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تعدادی از گیاهان دارویی علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز

دکتر محمد جلالی*[1]، دکتر داریوش عابدی**، دکتر نصراله قاسمی دهکردی***، دکتر امیر چهارمحالی†

*استادیار گروه تغذیه دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، **استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ***استاد گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی -دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، †دکترای داروسازی- دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

تاریخ دریافت: ۸۵/۳/۲۳ تاریخ تأیید: ۸۵/۸/۶

چکیده:

زمینه و هدف: باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes*) می تواند عامل بسیاری از موارد اسپورادیک و اپیدمیک بیماری در انسان باشد که معمولاً از طریق مواد غذایی منتقل می شود. میزان بالای مرگ و میر ناشی از ابتلا به لیستریوز باعث نگرانی در صنایع غذایی و سازمان های نظارتی شده است. با توجه به حضور گونه های گیاهی متعدد در ایران، با انجام مطالعات ضد میکروبی بر روی تعدادی از گیاهان دارویی کشور، احتمالاً می توان به ترکیبات با ارزشی در این زمینه دست یافت. بدین منظور در مطالعهٔ حاضر خواص ضد لیستریایی تعدادی از گیاهان دارویی بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی گیاهان آویشن (*Thymus vulgris L.*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*)، بابونه (*Matricaria recutita L.*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis L.*) و مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) جهت مطالعه انتخاب گردیدند. پس از جمع آوری و تهیه گیاهان و بررسی های گیاه شناسی و فارماکوگنوزی، عصاره هیدروالکلی گیاهان مورد نظر با روش پرکولاسیون تهیه و اثرات ضد میکروبی این گیاهان با استفاده از روش انتشار دیسک (Disc Diffusion Method) و همچنین تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد میکروب (Minimum Inhibitory Concentration= MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (Minimum Bactericidal Concentration=MBC) با استفاده از روش رقت لوله ای (Macro Dilution Method) بر علیه دو سروتیپ 4a و 4b باکتری لیستریا مونوسیتوژنز انجام شد. آمپی سیلین (۱۰ µg/disc) به عنوان مادهٔ ضد میکروبی مرجع بکار رفت.

یافته ها: نتایج بدست آمده نشان داد که تنها عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس در هر دو روش رقت لوله ای و انتشار دیسک، دارای اثرات ضد باکتریایی بر روی لیستریا مونوسیتوژنز بود. حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره اکالیپتوس بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوژن ۳۱/۲۵ µg/ml و حداقل غلظت کشندگی عصاره این گیاه ۵۰۰ µg/ml بود و تفاوت معنی داری بین حساسیت دو سروتیپ لیستریا مونوسیتوژنز مشاهده نشد. از عصاره هیدروالکلی دیگر گیاهان مورد آزمایش در این تحقیق، هیچ گونه اثرات ضد میکروبی بر روی هر دو سروتیپ باکتری مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: عصاره اکالیپتوس می تواند به عنوان ترکیب ضد لیستریایی مطرح شود. استفاده از اسانس این گیاه در غلظت های بالاتر و روش های دیگر عصاره گیری اثرات ضد لیستریایی اکالیپتوس را روشن تر خواهد کرد.

واژه های کلیدی: آویشن، اکالیپتوس، بابونه، رزماری، لیستریا مونوسیتوژنز، مریم گلی.

مقدمه:

لیستریا مونوسیتوژنز یک باکتری گرم مثبت، میله ای شکل، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی است (۱). این باکتری بطور معمول در طبیعت و در دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات یافت می شود (۱). مطالعات اخیر نشان

[1] *نویسنده مسئول:* اصفهان- دانشگاه علوم پزشکی – دانشکده بهداشت - تلفن: ۷۹۲۲۷۷۶-۰۳۱۱، E-mail: Jalali@mui.ac.ir

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

داده است که لیستریا مونوسیتوژنز می تواند از طریق مصرف غذای آلوده به انسان منتقل شود(۱). لیستریا مونوسیتوژنز از آن جهت از نظر بهداشتی مهم است که ممکن است عفونت غذایی ناشی از باکتری منجر به عوارضی مانند منتژیت، سپتی سمی و سقط جنین در زنان آبستن شود (۲). از طرفی در موارد اپیدمیک بیماری لیستریوزیز، میزان مرگ و میر ممکن است تا حد ۲۰ درصد و در افراد مستعد تا حد ۷۵ درصد نیز برسد (۳). با توجه به اینکه باکتری به فراوانی در محیط های مختلف طبیعت یافت می شود به همین دلیل می تواند غذاهای گوناگون را آلوده نماید. مطالعات متعددی تاکنون توانسته اند باکتری را از غذاهای گوناگون جدا نمایند (۳،۱). با توجه به اینکه باکتری به راحتی می تواند در دمای یخچالی رشد و تکثیر نماید لذا نگهداری غذاهای آلوده در حرارت های پایین نیز خطر آلودگی را رفع نمی نماید (۴). میزان مرگ و میر ناشی از لیستریوزی، دوز بسیار پایین باکتری جهت ایجاد عفونت، فراوانی آن در طبیعت، آلودگی بسیاری از غذاها و رشد باکتری در دماهای پایین باعث گردیده است تا تلاش های فراوانی بویژه در کشورهای صنعتی برای کنترل باکتری در غذا انجام گیرد. تلاش های اخیر در جهت آن بوده است تا از مضرات بهداشتی و اقتصادی بیماری های ناشی از غذا که لیستریوزیز نیز یکی از آنها است کاسته شود. یکی از روش های کنترل میکروارگانیسم های بیماری زا استفاده از نگهدارنده های شیمیایی ساخت بشر در غذا است. اما همواره استفاده از این گونه مواد شیمیایی در غذا باعث نگرانی مردم شده است زیرا اعتقاد عمومی در مردم آن است که مواد شیمیایی ضد میکروبی ممکن است سلامتی آنها را تهدید نماید. به همین دلیل استفاده از مواد طبیعی بجای مواد شیمیایی از اهمیت خاصی برخوردار است. بدون شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین بسیار مناسبی می تواند باشد. عصاره های گیاهی دارای موادی هستند که می توانند بر علیه بسیاری از میکروارگانیسم ها بکار روند. این اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری ها، مخمرها و قارچ ها ثابت گردیده است (۷،۶،۵). اثرات ضد لیستریایی اسانس ها (۱۲-۸) و عصاره های گیاهی نیز توسط برخی از محققین بررسی شده است (۱۴،۱۳،۵).

ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می گردد و در گذشته هم منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. در این تحقیق اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی پنج گیاه دارویی که دارای مقادیر بالایی از اسانس فرار بوده و همچنین گیاهان بومی و در دسترس ایران به شمار می روند. با نام های آویشن، اکالیپتوس، بابونه، رزماری و مریم گلی بر روی دو سروتیپ بیماری زای 4a و 4b باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بررسی گردید.

روش بررسی:

محیط های کشت:

در این مطالعهٔ تجربی سروتیپ های 4a و 4b باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از مؤسسه رازی (تهران-کرج) تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت. در کلیه آزمون های میکروبیولوژیکی که نیاز به محیط آسپتیک بوده از هود لامینار فلو استفاده شد. آمپول های لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط آسپتیک باز و به محیط کشت مایع BHI (Brain Heart Infusion) انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵°c انکوبه شد. سپس جهت اطمینان از خالص بودن باکتری از محیط BHI یک شبه بصورت خطی بر روی محیط کشت انتخابی- افتراقی اکسفورد آگار که حاوی ساپلیمنت ویژه است کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵°c انکوبه گردید. سپس از کلنی تیپیک

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

و سیاه رنگ باکتری یک لوپ برداشت کرده و ۲۴ ساعت قبل از هر آزمون آن را بهBHI مایع تلقیح نموده (محیط کشت ۲۴ ساعته)، برای هر آزمون جهت بررسی اثرات ضد میکروبی هر بار کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه گردید. با استفاده از پیپت استریل به مقـــدار لازم از محیط کشت تازه ۲۴ ساعته را به لوله های حاوی نرمال سالین استریل انتقال داده و سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با استفاده از محلول ۰/۵ استاندارد مک فارلند برابر با حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml تنظیم گردید.

در آزمایشات رقت لوله ای از محیط BHI مایع و در آزمایشات انتشار دیسک از محیط کشت BHI آگار استفاده شد. کلیه محیط های کشت بر اساس دستور کارخانه سازنده مرک (MERK -Germany) تهیه و با استفاده از دستگاه اتوکلاو استریل گردید.

گیاهان و استخراج عصاره ها:

گیاهان مورد استفاده در این تحقیق شامل آویشن، بابونه، اکالیپتوس، رزماری و مریم گلی بود که گیاهان رزماری، اکالیپتوس و مریم گلی از بازار گیاهان دارویی اصفهان، گیاه آویشن از شرکت گل دارو (ایران) و گیاه بابونه از باغ گیاهان دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه گردید. آزمون های گیاه شناسی بر اساس فارماکوپه گیاهی ایران (۱۶) توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردید. بعد از جمـــع آوری گیاهان را کامـــلاً خشک نموده و جهت عصـــاره گیری با آسیاب خـــرد گردیدند. عصاره گیری به روش پرکولاسیون و با استفاده از حلال اتانل ۸۰ درجه صورت گرفت. نسبت میزان حلال مورد استفاده جهت عصاره گیری به گیاه ۱۰ به ۱ تعیین و استفاده شد (۱۶). بعد از اتمام عملیات عصاره گیری، عصاره های بدست آمده با استفاده از دستگاه تقطیـــر در خلاء در درجه حرارتی حدود ۵۰ درجه سانتی گراد، تغلیظ شدند. عمل تغلیظ تا رسیـــدن به حـــدود ۵ درصد مقدار اولیه هر عصاره ادامه یافت. از عصاره های تغلیظ شده بوسیله حلال DMSO (Dimthylsulfoxide) و متانل با نسبت های ۶۰ به ۴۰ رقت های لازم جهت استفاده در آزمایشات MIC و انتشار دیسک تهیه گردید (۱۷).

بررسی اثرات ضد میکروبی:

با استفاده از روش رقت لوله ای حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (MBC) تعیین گردید (۱۹،۱۸). برای تعیین MIC، برای هر عصاره از یک سری ۱۰ تایی از لوله های آزمایش استفاده شد. ۸ لوله برای آزمایش رقت های مختلف هر عصاره و یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی بکار رفت. هر عصاره با رقت های مختلف از لوله شماره یک با غلظت ۱۰۰۰ µg/ml تا لوله شماره ۸ با غلظت ۷/۸ µg/ml در محیط کشت BHI آبگوشت به همراه ۱ ml از سوسپانسیون میکروبی که دارای $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml باکتری بود. یک لوله حاوی ۹ ml محیط کشت به علاوه ۱ ml از عصاره رقیق شده به عنوان کنترل مثبت و نیز یک لوله حاوی ۹ ml محیط کشت به علاوه ۱ ml از سوسپانسیون باکتری به عنوان کنترل منفی تهیه شد. همه لوله های آزمایش برای مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از طی زمان انکوباسیون لوله ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند (۱۸،۱۹). این روش برای هر عصاره و هر سروتیپ لیستریا مونوسیتوژنز ۳ بار تکرار شد. از همه لوله هایی که در آنها عدم رشد باکتری مشاهـــده شده بود، نمونـــه برداری و جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره ها، به روش پورپلیت (Pour Plate Method)

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

کشت داده شد. بدین منظور ۱ ml از هر لوله با ۲۰ ml از مخلوط BHI آگار با درجه حرارت حدود ۴۸ درجه سانتی گراد در ظروف پتری دیش مخلـــوط و پس از بسته شدن آگار و انکوبه کردن به مـــدت ۲۴ ساعت، پلیت های کشت داده شده از نظر وجود رشد میکروبی کنترل شد. لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوطه عدم رشد باکتری مشاهده گردید، به عنوان MBC آن ماده در نظر گرفته شد.

برای انجام آزمایشات انتشار دیسک ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری سوسپانسیونی که در هر میلی لیتر حاوی 10^8 باکتری بـــود با استفاده از استاندارد محلول مک فارلند تهیه شـــد. جهت تهیه دیسک های مورد آزمایش، هر دیسک با ۱۵ µl از عصاره های تهیه شده با غلظت ۳۰ mg/ml از هر گیاه، اشباع گردید. در هر سری آزمایش یک دیســک حاوی ۱۵ µl حلال DMSO و متانول به عنوان کنترل منفی و یـک دیسک حاوی آمپی سیلین ۱۰ µg/disc به عنوان آنتی بیوتیک استاندارد بکار برده شد. در این آزمایشات از BHI آگار به عنوان لایه زیرین (Base Layer) و از محیط BHI آگار به همراه ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی به عنوان لایه حاوی میکروب (Base Layer) استفاده گردید. بعد از ریختن لایه حاوی میکروب بر روی لایه زیرین و پس از بسته شدن آن، دیسک های تهیه شـــده در فاصله مناسب از یکدیگر کاشته شدند. محیـــط های کشت، برای مدت ۲۴ ساعت در گرمخـــانه ۳۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس قطر هاله های عدم رشد اندازه گیری و میانگین مربوطه گزارش گردید (۲۱،۲۰). آزمون های بررسی اثرات ضد میکروبی در آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی دانشـــگاه علوم پزشکی اصفهان انجام و هر آزمون حداقل سه بار تکرار گردید. با استفاده از آزمون t تفاوت دو سروتیپ باکتری بـــا یکدیگر و با نمونه های کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها:

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمایشات رقت لوله ای و انتشار دیسک، فقط از عصاره هیدروالکلی

جدول شماره ۱: میانگین قطر هاله مهار رشد عصاره هیدروالکلی گیاهان مورد آزمایش (غلظت عصاره مورد آزمایش ۳۰µg/ml) بر لیستریا مونوسیتوژنز 4a و 4b

عصاره گیاه	میانگین قطر هاله های عدم رشد (mm)	
	لیستریا مونوسیتوژنز 4a	لیستریا مونوسیتوژنز 4b
آویشن	—	—
اکالیپتوس	*۱۱/۳۳±۰/۵۸	*۱۱/۱۷±۰/۲۹
بابونه	—	—
رزماری	—	—
مریم گلی	—	—
آمپی سیلین	۲۱/۳۳±۱/۱۵	۱۹±۱
شاهد منفی	—	—

– داده ها به صورت میانگین±انحراف معیار می باشد. خط تیره به معنای عدم تشکیل هاله مهار رشد است.
**$p<0/01$ در مقایسه با آمپی سیلین.*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

جدول شماره ۲: نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) مربوط به عصاره هیدروالکلی گیاه اکالیپتوس بر روی لیستریا مونوسیتوژنز 4b و 4a

غلظت µg/ml / تکرار	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	کنترل عصاره	کنترل مثبت
اول	-	-	-	-	-	-	+	+	—	+
دوم	-	-	-	-	-	-	+	+	_	+
سوم	-	-	-	-	-	-	+	+	—	+

*(-) عدم رشد میکروب یا عدم کدورت. (+) رشد میکروب یا کدورت **MIC:** Minimum Inhibitory Concentration*

گیاه اکالیپتوس اثرات آنتی لیستریایی مشاهده گردید. مقایسهٔ آماری میانگین قطر هاله های عدم رشد عصاره گیاه اکالیپتوس بر علیه سروتیپ های 4b و 4b با ماده ضد میکروبی استاندارد (آمپی سیلین) نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار با P<۰/۰۰۱ می باشد (جدول شماره ۱).

در این آزمایشات هیچ گونه اثر آنتی لیستریایی از عصاره هیدروالکلی گیاهان آویشن، بابونه، رزماری و مریم گلی بر روی هر دو سروتیپ 4a و 4b باکتری لیستریا مونوسیتوژنز مشاهده نشد. در آزمایشات رقت لوله ای عصاره هیدروالکلی گیاه اکالیپتوس، برای هر دو نوع سروتیپ 4a و 4b لیستریا مونوسیتوژنز MIC برابر ۳۱/۲۵ µg/ml بود (جدول شماره ۲).

MBC در حدود ۵۰۰µ g/ml برای هر دو سروتیپ 4a و 4b مشاهده گردید (جدول شماره ۳).

بحث:

علیرغم مشاهده نشدن اثرات آنتی لیستریایی گیاهان آویشن، بابونه، رزماری و مریم گلی در تحقیق حاضر، گزارشات بسیاری از اثرات ضد باکتریائی و ضد قارچی آنها در شرایط مختلف بر روی سایر میکروارگانیسم ها گزارش شده است (۲۴،۲۳،۲۲). به عنوان مثال در مطالعه ای که توسط Moreno و همکاران

جدول شماره ۳: حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره هیدروالکلی گیاه اکالیپتوس بر روی لیستریا مونوسیتوژنز4b و 4a

غلظت µg/ml / تکرار	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	کنترل منفی
اول	-	-	+*	+	+	+	—
دوم	-	-	+	+	+	+	—
سوم	-	-	+	+	+	+	—

** عدم رشد لیستریا مونوسیتوژنز 4a (+) رشد میکروب یا کدورت (-) عدم رشد میکروب یا عدم کدورت.*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

صورت گرفت عصارهٔ متانولی و آبکی روزماری اثرات خوبی را بر علیه باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و مخمر نشان داد. علت این اثر به غلظت بالاتر موادی همچون Rosmarinic acid، Carnosic، Carnosol در عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبکی نسبت داده شده است (۲۴). در مطالعهٔ دیگری توسط Fujita و همکاران مشاهده شد بکارگیری عصارهٔ آویشن منجر به بروز خواص سینرژیسمی ضد میکروبی تتراسایکلین می گردد (۲۵). Masterova و همکاران نیز در مطالعهٔ دیگری دریافتند عصارهٔ اتری ریشه گیاه مریم گلی دارای اثرات قابل توجهی بر علیه باکتری های گرم مثبت مانند استافیلوکوس اورئوس می باشد. این اثرات به وجود موادی همچون Royleanones ارتباط داده شده است (۲۶).

در تحقیق حاضر از عصاره گیاه آویشن هیچ گونه اثرات ضد باکتریائی مشاهده نگردید در حالی که اثرات ضد باکتریائی اسانس گونه های مختلف این گیاه بر روی لیستریا مونوسیتوژنز به اثبات رسیده است (۲۷). بنابر این به نظر می رسد یکی از دلایل احتمالی عدم مشاهده اثرات ضد باکتریائی از عصاره آویشن و دیگر گیاهان آزمایش شده در این تحقیق این است که مادهٔ مؤثره واجد اثرات ضد باکتریائی این گیاهان در اسانس گیاه می باشد که با توجه به غلظت پائین اسانس در عصاره یک گیاه، مشاهده نشدن اثرات ضد باکتریائی از آن دور از انتظار نیست. عامل دیگری که ممکن است اثرات ضد باکتریائی عصارهٔ یک گیاه را تحت تأثیر قرار دهد، روش عصاره گیری و نوع حلال مورد استفاده می باشد. عصاره هایی که با روش ها و حلال های متفاوتی از یک گیاه گرفته شده، می توانند اثرات ضد باکتریائی متفاوتی بر روی یک باکتری خاص از خود نشان دهند (۲۸). بنابراین احتمال دارد یکی از دلایل عدم مشاهده اثرات ضد باکتریائی از چهار گیاه مورد اشاره، روش و حلال بکار برده شده جهت عصاره گیری باشد. عامل دیگری که می تواند اثرات ضد یاکتریایی عصاره یا اسانس یک گیاه را تحت تأثیر قرار دهد، محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضد باکتریایی می باشد. تفاوت در اثرات ضد باکتریائی یک ماده در محیط کشت های گوناگون به اثبات رسیده است (۱۴).

عصاره گیاه اکالیپتوس بعنوان یک عصارهٔ دارای خواص قوی ضد میکروبی در مطالعات قبلی معرفی گردیده است. بطور مثال در مطالعه ای که توسط Nagata و همکاران صورت گرفت عصارهٔ متانولی این گیاه اثرات بسیار خوبی بر ضد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی ارائه نمود (۲۹). همچنین Branter و همکاران انواع عصاره های آبکی، متانولی، استونی و اتری اکالیپتوس را از نظر اثرات ضد توموری و ضد میکروبی بررسی نمودند. نتایج نشان دهنده اثرات قاطع ضد قارچی و اثرات متفاوت ضد باکتریائی بود (۳۰). هر چند هیچگونه گزارشی مبنی بر بررسی اثرات عصارهٔ این گیاه بر ضد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز مشاهده نگردیده است.

در این تحقیق غلظت حداقل مهاری (MIC) برابر با ۳۱/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر، غلظت حداقل کشندگی (MBC) برابر ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و قطر هاله عدم رشد برابر ۰/۲۹±۱۱/۱۷ میلی لیتر از عصاره گیاه اکالیپتوس مذکور مشاهده گردید که می توان اثرات آنرا بر ضد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز خوب ارزیابی نمود. در طی این تحقیق همچنین هیچگونه تفاوت معنی داری از نظر اثرات ضد میکروبی عصارهٔ اکالیپتوس بر علیه دو سروتیپ لیستریا مونوسیتوژنز بنام های 4a و 4b مشاهده نگردید. دریافته های دیگر محققین نیز در حساسیت سروتیپ های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز به مواد مؤثر گیاهی تفاوت معنی داری مشاهـــده نشد. این تفاوت حتی در مورد گونه های مختلف لیستریا نیز معنی دار نبوده است (۲۷،۱۲،۹،۸).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه لیستریوز انسانی اغلب توسط سروتیپ ۴ لیستریا مونوسیتوژنز ایجاد می شود، عصاره اکالیپتوس می تواند به عنوان ترکیب ضد لیستریایی مطرح باشد. با مطالعهٔ اثرات ارگانولپتیک عصاره اکالیپتوس در غذا از آن می توان به عنوان یک ماده محافظت کننده استفاده نمود. مطالعات بیشتری نیاز است تا اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهان مورد مطالعه را بررسی نماید. استفاده از روش های دیگر عصاره گیری و یا استفاده از غلظت های بالاتر از حداکثر غلظت عصاره بکار برده شده در این تحقیق می تواند اثرات ضد لیستریایی گیاهان مورد مطالعه را روشن تر نماید.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از جناب آقای دکتر سید محسن حسینی عضو محترم هیأت علمی گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و سرکار خانم ها شفیع زادگان کارشناس محترم آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی اصفهان، سرکار خانم قوکاسیان کارشناس محترم آزمایشگاه کنترل مواد غذایی دانشکده بهداشت اصفهان و کارکنان محترم آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اصفهان قدردانی می گردد.

منابع:

1. Farber JM, Peterkin PL. *Listeria monocytogenes,* a food-borne pathogen. Microbiol Rev. 1991 Sep; 55(3): 476-511.

2. Hof H, Nichterlein T, Lampidis R, Wecke J. Listeria dispose of many facettes. Biotest Bull. 1998; 6: 21-3.

3. Aguado V, Vitas AI, Garcia-Jalon I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and Listeria innocua from a vegetable processing plant by RAPD and REA. Int J Food Microbiol. 2004 Feb; 90(3): 341-7.

4. Hof H, Rocourt J. Is any strain of *Listeria monocytogenes* detected in food a health risk? Int J Food Microbiol. 1992 Jul; 16(3): 173-82.

5. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999 Oct; 12(4): 564-82.

6. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in food-a review. Int J Food Microbiol. 2004 Aug; 94(3): 223-53.

7. Thuille N, Fille M, Nagl M. Bactericidal activity of herbal extracts. Int J Hyg Environ Health. 2003 Jun; 206(3): 217-21.

8. Canillac N, Mourey A. Antimicrobial activity of the essential oil of picea excelsa on Listeria, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. Food Microbiol. 2001; 18: 261-8.

9. Canillac N, Mourey A. Comportement de *Listeria monocytogenes* en presence d'huiles essentielles de sapin et de pin. Sci Dis Aliments. 1996; 16: 403-11.

10.Aureli P, Constantini A, Zolea S. Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocyogenes*. J Food Prot. 1992; 55: 344-8.

11.Pandit VA, Shelef LA. Sensitivity of *L. monocytogenes* to rosemary *(Rosmarinus officinalis)*. Food Microbiol. 1994; 11: 57-63.

12.Smith-palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences aginst five important food-borne pathogens. Lett Appl Microbiol. 1998 Feb; 26(2): 118-22.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017

13.Chung KT, Thomasson WR, Wu- Yuan CD. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes,* by plant extracts. J Appl Bacteriol. 1990 Oct; 69(4): 498-503.

14.Tassou CC, Drosinos EH, Nychas GJ. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 degrees and 10 degrees C. J Appl Bacteriol. 1995 Jun; 78(6): 593-600.

15.Gill AO, Delaquis P, Russo P, Holley RA. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacaum packed ham. Int J Food Microbiol. 2002 Feb; 73(1): 83-92.

۱۶. کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران. فارماکوپه گیاهی ایران. تهران: وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. ۱۳۸۲، ۹۲-۸٤، ۹۹-۱۰۷.

17.Rios JL, Recio MC, Villar A. Screening methods of natural products with antimicrobial activity: a review of the literture. J Ethnopharmacol. 1988 Jul; 23(2-3): 127-49.

18.Vanden DA, Vlietinck AJ. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds.), Methods in plant biochemistry: screening medthods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London: Academic Press; 1991. p: 47-69.

19.Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A, et al. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activites. J Ethnopharmacol. 1999 Apr; 65(1): 71-7.

20.Baner AW, Kirby WMM, Sherries JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol. 1991; 45: 493-6.

21.Mangena T, Muyima NY. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana and *Rosmarinus* officinalis on selected bacteria and yeast strains. Lett Appl Microbiol. 1999 Apr; 28(4): 291-6.

22.Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. Int J Food Microbial. 2003 Feb; 80(3): 223-30.

23.Del Compo J, Amiot MJ, Nguyen The C. Antibacterial effect of rosemary extracts. J Food Prot. 2000 Oct; 63(10): 1359-68.

24.Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosmery extracts linked to their polyphenol composition. Free Radic Res. 2006 Feb; 40(2): 223-31.

25.Fujita M, Shiota S, KurodaT, Hatano T, Yoshida T, Mizushima T, et al. Remarkable synergies between baicalein and tetracycline and baicalein and beta-lactama against methicillin – resistant *staphylococcus aureus.* Microbiol Immunol. 2005; 49(4): 391-6.

26.Masterova I, Miskova E, Sirotkova L, Vaverkova S, Ubik K. [Royleanones in the roots of *Salvia officinalis* L. of domestic provenance and their antimicrobial activity] Ceska Slov Farm. 1996 Sep; 45(5): 242-5.

27.Singh A, Singh RK, Bhunia AK, Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Lebenmittel Wissenschaft and Technologie. 2003; 36(8): 787-94.

28.Nostro A, Germano MP, Angelo VA, Marino A, Connatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lett Appl Microbiol. 2000; 30(5): 389-94

29.Nagata H, Inagaki Y, Yamamoto Y, Maeda K, Kataoka K, Osawa K, et al. Inhibitory effects of macrocarpals on the biological activity of *Porphyromonas gingivalis* and other periodontopathic bacteria. Oral Microbiol Immunol. 2006 Jun; 21(3): 159-63.

30.Branter AH, Asres K, Chakraborty A, Tokuda H, Mou XY, Mukainaka T, et al. Crown gall, a plant tumour with biological activities. Phytother Res. 2003 Apr; 17(4): 385-90.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:30 +0430 on Sunday September 3rd 2017