View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Repository of Research and Investigative Information

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۲، بهمن ۱۳۹۶، صفحه ۵۵-۴۹

مقاله تحقیقی

مقایسه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی رازیانه و زنیان با جنتامایسین بر سویه های اشرشیاکلی: مطالعه آزمایشگاهی

فاطمه عابدی (MD)[۱]، رمضان رجب نیا (PhD)[۲]، هادی سرخی (MD)[۳]، زهرا معماریانی (PhD)[۱]،
هدی شیرافکن (PhD)[۴]، سید علی مظفرپور (MD,PhD)[۵*]

۱-گروه طب ایرانی، دانشکده طب ایرانی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۲-مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۳- مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۴-گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵-مرکز تحقیقات طب سنتی و تاریخ علوم پزشکی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

دریافت:۹۶/۸/۲۹، اصلاح: ۹۶/۱۱/۱۰، پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۳

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به مقاومت باکتریایی به آنتی بیوتیکها، یافتن عوامل ضد باکتری جدید ضروری می باشد. در طب ایرانی، رازیانه و زنیان برای درمان برخی عفونت ها پیشنهاد می شود. لذا در این تحقیق اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال عصاره آبی و هیدروالکلی رازیانه و زنیان بر اشریشیاکلی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی ۳۰ نمونه بالینی اشرشیاکلی حاصل از کشت ادرار اطفال مبتلا به عفونت ادراری از بیمارستان کودکان امیرکلا بابل و یک سویه استاندارد استفاده شد. اثرات آنتی باکتریال ۴ گروه عصاره آبی و هیدروالکلی رازیانه و زنیان با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد به روش Disc Diffusion (غلظتهای ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶و ۵۱۲ میلی‌گرم/دیسک) و تعیین حداقل غلظتهای مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) به روش Microdilution در مقایسه با جنتامایسین (۳۰میلیگرم/دیسک) به عنوان کنترل مثبت بررسی شد.

یافته ها: هاله عدم رشد در عصاره هیدروالکلی زنیان در غلظت های ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میلی‌گرم/دیسک در نمونه های استاندارد و بالینی، اختلاف معنی داری با گروه جنتامایسین نداشت و در غلظت های ۱۶ و ۳۲، برای جنتامایسین به میزان معنی داری بیشتر بود. در گروه زنیان اثر گروه عصاره ۵۱۲ (۱۲/۹۳±۲/۶۶) به میزان معنی داری بهتر از عصاره ۲۵۶ (۹/۵۳±۱) بود (p=۰/۰۰۲). MIC و MBC بدست آمده برای نمونه استاندارد به ترتیب ۴ و ۸ و برای نمونه های بالینی ۳/۸۳±۲/۳۶ و ۵/۸±۴/۰۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر بوده است. سایر عصاره ها، قادر به اثر مهاری بر اشریشیاکلی نبودند.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی زنیان اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال بر نمونه استاندارد و بالینی اشریشیاکلی دارد.

واژه های کلیدی: عوامل آنتی باکتریال، رازیانه، زنیان، طب ایرانی.

مقدمه

عفونت ادراری یکی از شایعترین عفونت‌های باکتریایی در جمعیت است. شیوع عفونت ادراری براساس سن و جنس متفاوت بوده و به طور واضحی به دلایل آناتومیکی در جنس مونث شایع تر است(۱). براساس آمارهای موجود ۱ درصد پسرها و ۳ درصد دخترها در دهه اول زندگی مبتلا به عفونت ادراری می‌شوند(۲). در دختران ۹۰-۷۵ درصد موارد، عامل عفونت اشریشیاکلی و در مرحله بعدی کلبسیلا و پروتئوس می‌باشد. در برخی گزارشات در پسران بالای یک سال شیوعی برابر با اشریشیا کلی دارد(۳). میکروارگانیسم ها با روش های متفاوتی می‌توانند با محیط سازگاری حاصل کنند. یکی از این سازگاری‌ها مقاومت دارویی است(۵و۴). با توجه به مقاومت های دارویی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، در چند دهه اخیر رویکرد تحقیقات علمی به منابع طبیعی و گیاهی در حال افزایش می‌باشد(۱۲-۶). از جمله گیاهان دارویی مورد استفاده در درمان عفونت های ادراری در طب ایرانی می‌توان به گیاهان رازیانه و زنیان اشاره کرد(۱۳). تیمول موجود در زنیان عمده‌ترین ترکیب شیمیایی آن می‌باشد و به عنوان یک آنتی باکتریال، ضداسپاسم و داروی ضد قارچ شناخته شده است(۱۴). همچنین از مواد موثره اسانس رازیانه می توان به ترانس آنتول و کارواکرول اشاره نمود (۱۵). بررسی‌های گوناگونی بر روی اثر ضد میکروبی اسانس رازیانه و زنیان صورت پذیرفته است. اسانس دانه رازیانه اثر ضد میکروبی علیه پاتوژن هایی با منشا مواد غذایی مانند اشریشیاکلی از خود نشان داده است(۱۷و۱۶). مطالعات محدودی

این مقاله حاصل پایان نامه فاطمه عابدی دانشجوی پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۶۴۴۳۱۹ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد
* مسئول مقاله: دکتر سید علی مظفرپور
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده طب ایرانی. تلفن: ۰۱۱-۳۲۱۹۴۷۲۸
E-mail: seyyedali1357@gmail.com

مبنی بر اثرات ضد میکروبی عصاره های رازیانه و زنیان صورت گرفته است (۱۸-۱۲). در یک مطالعه در کشور پاکستان، هیچ یک از عصاره های متانولی و اتانولی رازیانه با غلظت های ۳۰ میلیگرم/میلی لیتر، واجد اثرات ضد میکروبی بر سویه استاندارد اشرشیاکلی نبودند(۱۹). در مطالعه ای دیگر عصاره های آبی و اتانولی رازیانه و زنیان (۲۰۰ میلیگرم/میلیلیتر)، در مقایسه با جنتامایسین (۱۰ میلی گرم/میلیلیتر) اثرات ضد میکروبی قابل توجهی بر سویه های استاندارد اشرشیاکلی نشان دادند(۲۱و۲۰) در مطالعه ای دیگر اثرات ضدباکتری عصاره های آبی رازیانه و زنیان (غلظت ۱۰ درصد) بر اشرشیاکلی در مقایسه با جنتامایسین (۱۰میلی گرم/میلی لیتر) و سفیکسیم (۵ میلیگرم/میلی لیتر) قابل توجه بوده است (۲۲). با توجه به اینکه عمده مطالعات، بر روی اثر عصاره های حاصل از رازیانه بر روی سویه های باکتری استاندارد اشرشیاکلی بوده است، این مطالعه به منظور بررسی اثرات غلظت های مختلف عصاره های آبی و هیدروالکلی رازیانه و زنیان بر سویه های اشرشیاکلی بیمارستانی جدا شده از نمونه های کشت ادرار کورکان مبتلا به عفونت ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی پس از توصیب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد MUBABOL.REC. ۱۳۹۶.۴۷ انجام شد. حجم نمونه با استفاده از نرم افزار PASS (Power Analysis & Sample Size) با سطح اطمینان ۵٪ و توان ۸۰٪ و با فرض دیدن همبستگی ۰/۴۵ بین دو گروه، ۳۰ تعیین شد.

تهیه عصاره ها: برای تهیه عصاره هیدروالکلی از روش خیساندن یا ماسراسیون استفاده شد. مقدار ۵۰ گرم از دانه گیاهان رازیانه و زنیان پس از توزین و پودر کردن به ۳۰۰ میلیلیتر اتانول۸۰ درصد اضافه شد و به مدت ۳ روز در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس محلول بدست آمده توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شد و در دمای محیط برای تبخیر حلال قرار داده شد. برای تهیه عصاره آبی نیز دانه گیاهان رازیانه و زنیان ابتدا ۱۰۰ گرم وزن و پودر گردید و به میزان ۶ برابر وزن آن آب مقطر به آنها اضافه شد. ترکیب حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد. درنهایت هرکدام به طور جداگانه در دمای محیط برای تبخیر حلال قرار گرفتند.

سویه های میکروبی مورد مطالعه: در این تحقیق از سویه استاندارد اشریشیاکلی (ATCC25922) استفاده گردید. همچنین تعداد ۳۰ نمونه اشریشیاکلی جدا شده از عفونت های ادراری کودکان مرکز آموزشی درمانی کودکان امیرکلا که تب دار بوده، در نمونه آزمایش ادرار، پیوری داشته و (از نمونه میان ادرار در کودکان با توانایی استفاده از توالت و نمونه کاتتر در بقیه موارد) کشت مثبت ادراری با اشریشیاکلی داشته اند، تهیه شد. سویه های بالینی مجدد توسط آزمایش های بیوشیمیای تعیین هویت نهایی شدند.

اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن: در این روش از کشت باکتری مورد نظر غلظتی معادل با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه گردید و با استفاده از سوآپ پنبه ای استریل روی سطح پلیت که حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار بود به طور یکنواخت تلقیح شد. سپس با توجه به ۶ غلظت مورد بررسی در پژوهش (۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶ میلی‌گرم بر دیسک)، ۶ دیسک بلانک در محیط کشت قرار داده شد و غلظت های تهیه شده از عصاره آبی و هیدروالکلی هر کدام از گیاهان به طور جداگانه اضافه گردید (۲۳). پلیت ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴-۱۸ ساعت نگهداری شدند و پس از گذشت زمان مورد نظر، قطر هاله عدم رشد با خط‌کش اندازه گیری شد و نتایج حاصل ثبت گردید. برای آزمایش کنترل مثبت از دیسک دارویی جنتامایسین (۳۰ میلی گرم/دیسک) نیز استفاده گردید. تمام مراحل ذکر شده برای نمونه‌های استاندارد و بالینی با دو تکرار انجام شد.

اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی به روش میکرودایلوشن: تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره ها به روش میکرودایلوشن و بر اساس پروتوکل استاندارد Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) انجام شدد (۲۴). در این روش از میکروپلیت ۹۶ خانه ای استفاده گردید. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره های مورد بررسی براساس روش سریال دایلوشن به ۱۰ چاهک نخست هر ردیف از میکروپلیت افزوده شد(۲۵). ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که با ۰/۵ مک فارلند برابر شده بود به هر چاهک اضافه شد. چاهک ۱۱ و۱۲ به ترتیب به عنوان کنترل منفی (محیط کشت حاوی عصاره بدون باکتری) و مثبت (محیط کشت حاوی باکتری) در نظر گرفته شدند. سپس میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت مهارکننده (MIC) در نظر گرفته شد. حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره، با توجه به نتایج حداقل غلظت مهارکننده تعیین گردید.

میزان ۵ میکرولیتراز چاهک هایی که رشد باکتری در آنها کاملا متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت منتقل شدند و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد باکتری بودند به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید. تمام مراحل ذکر شده برای نمونه استاندارد و سویه های بالینی با ۲ تکرار انجام شد. در این مطالعه دیسک های جنتامایسین (۳۰ mg/disc) به عنوان شاهد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. داده ها پس از جمع آوری با استفاده از آزمون آماری آنالیز همبستگی تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از یک نمونه استاندارد اشریشیاکلی و ۳۰ نمونه آزمایشگاهی اشریشیاکلی جداشده از نمونه های ادراری با کشت مثبت در کودکان استفاده شد. ۱۱ نمونه از کودکان پسر و ۱۹ نمونه دختر بودند. میانگین سنی کودکان ۱/۴±۳/۶ سال بود. در این مطالعه عصاره هیدروالکلی زنیان، در غلظت ۱۶ میلی گرم بر دیسک در دو گروه باکتری استاندارد و سویه های بالینی، قادر به مهار رشد باکتری نبود. در غلظت ۳۲ میلی گرم بر دیسک نیز اگرچه در گروه سویه های بالینی مهار رشد اتفاق افتاد، ولی در هر دو گروه، نسبت به جنتامایسین به میزان معنی داری کمتر بود ($p=۰/۰۱۷$). با این حال میانگین هاله عدم رشد در باکتری استاندارد و سویه های بالینی زنیان در غلظت‌های ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ عصاره هیدروالکلی زنیان، اختلاف معنی داری با جنتامایسین نداشته است (جدول ۱). با

افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی زنیان از ۲۵۶ به ۵۱۲ میلی‌گرم بر دیسک، اثر مهاری آن بر نمونه های بالینی اشریشیاکلی به طور معنی داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۲)، اما در مقایسه سایر غلظت‌های مورد مطالعه این اختلاف معنادار نبوده است.

در این مطالعه MIC و MBC بدست آمده برای جنتامایسین در روش Microdilution برای نمونه استاندارد اشریشیاکلی، به ترتیب ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر بوده است. میانگینMIC و MBC عصاره هیدروالکلی زنیان برای نمونه های بالینی اشریشیاکلی به ترتیب ۲/۳۶±۳/۸۳ و ۴/۰۱±۵/۸ به دست آمد. عصاره آبی و هیدروالکلی رازیانه و همچنین عصاره آبی گیاه زنیان در مطالعه انجام شده در هیچ کدام از ۲ روش استفاده شده قادر به مهار رشد باکتری نشدند.

جدول ۱. هاله عدم رشد غلظت‌های عصاره هیدروالکلی زنیان و جنتامایسین بر نمونه های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی

غلظت عصاره (mg/disc)	قطر هاله عدم رشد (mm) نمونه استاندارد اشریشیاکلی	نمونه بالینی اشریشیاکلی Mean±SD
۱۶	۰*	۰*
۳۲	۰*	۱/۲۷±۰/۲۳*
۶۴	۸	۳/۶۱±۳/۱
۱۲۸	۹	۲/۶±۷/۴۶
۲۵۶	۱۱	۱±۹/۵۳
۵۱۲	۱۴	۲/۶۶±۱۲/۹۳
جنتامایسین	۱۵	۱/۸±۱۴/۷

*اختلاف معنی دار نسبت به جنتامایسین (p<۰/۰۵)

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، در میان عصاره های آبی و هیدروالکلی (۸۰٪) زنیان و رازیانه، عصاره هیدروالکلی زنیان دارای اثرات ضد میکروبی بر نمونه استاندارد و نمونه های بالینی اشریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری کودکان بود. در برخی مطالعات اثرات آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی زنیان بر نمونه استاندارد اشرشیاکلی نشان داده شده است.

در مطالعه Shafaghat و همکاران عصاره هیدروالکلی (۷۰٪) زنیان با حداقل غلظت مهارکننده ۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر، قادر به مهار رشد سویه های استاندارد اشریشیا کلی مقاوم به سفیکسیم، اریترومایسین و تتراسیکلین شده است(۲۶). Amiri و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی (۵۰٪) زنیان را بر سویه استاندارد اشرشیاکلی با حداقل غلظت مهار رشد ۵۰ میلی گرم/میلی لیتر گزارش نمودند. در این مطالعه مقایسه آماری با آنتی بیوتیک صورت نگرفته است(۲۷).

در مطالعه دیگر Khosravipour و همکاران خواص آنتی باکتریال با اثرات وابسته به دوز اسانس زنیان را بر روی عوامل باکتریال از قبیل اشریشیاکلی نشان دادند (۲۸). در سایر مطالعات انجام شده نیز عمدتا اثر ضدمیکروبی اسانس زنیان مورد توجه قرار گرفته است(۳۰و۲۹). در تمام مطالعات ذکر شده از نمونه استاندارد اشرشیاکلی استفاده شده است. اما مطالعه نمونه های بالینی جداشده از عفونت های دستگاه ادراری، از جهت تفاوت پاتوژنیسیته آنها منطبق بر مناطق جغرافیایی اهمیت دارد(۳۱).

در مطالعه حاضر از یک نمونه استاندارد و ۳۰ نمونه بالینی جمع آوری شده از عفونت ادراری مرکز آموزشی درمانی استفاده شده است و تاثیر عصاره های آبی و هیدروالکلی رازیانه و زنیان بر روی این پاتوژن مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به اینکه غیر از عصاره هیدروالکلی زنیان، سایر عصاره‌ها اثرات ضد میکروبی بر سویه استاندارد و نه بر نمونه های بالینی نشان ندادند و با در نظر داشتن شرایط یکسان عصاره گیری، می‌توان به تاثیر منطقه جغرافیایی جمع آوری گیاه بر اجزای تشکیل دهنده آن اشاره نمود. به‌طوری که در مطالعه Zakeri و همکارانش که به بررسی اثرات زیست بوم، بر فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی پرداختند اختلاف معنی داری میان حداقل غلظت مهاری گیاهان مناطق مختلف بر روی عوامل باکتریال وجود داشته است(۳۲).

در مطالعه ای دیگر در کشور پاکستان، هیچ یک از عصاره های متانولی و اتانولی رازیانه با غلظت های ۳۰ میلیگرم/میلی لیتر، واجد اثرات ضد میکروبی بر سویه استاندارد اشرشیاکلی نبودند(۱۹). همچنین Manonmani و همکاران نشان دادند که عصاره اتانولی رازیانه بر روی سویه های استاندارد اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی و استافیلوکوکوس ارئووس اثر ضدباکتریایی ندارد(۳۳). علاوه بر تاثیر منطقه جغرافیایی بر مواد موثره آنتی باکتریال گیاهان، به طور کلی باکتریهای گرم منفی به علت دارا بودن دیواره لیپوپلی ساکاریدی، نسبت به باکتریهای گرم مثبت در برابر اثرات ضد میکروبی گیاهان مقاومتر هستند(۳۴). Gulfraz و همکاران گزارش کردند که اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی رازیانه بر روی باکتریهای گرم مثبت بیشتر از باکتریهای گرم منفی است(۳۵).

در مطالعه دیگری در ترکیه رازیانه هیچگونه اثر مهارکننده رشدی بر روی میکروارگانیسمهایی از جمله اشریشیاکلی نشان نداد(۳۶). اما در پژوهشی دیگر عصاره های آبی و اتانولی رازیانه و زنیان با غلظت های نسبتا بیشتر (۲۰۰ میلیگرم/میلیلیتر)، اثرات ضد میکروبی بر سویه های استاندارد اشرشیا کلی نشان دادند(۲۱و۲۰). در این مطالعه جهت بررسی اثر آنتی باکتریال گیاهان رازیانه و زنیان از ۲ روش دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن استفاده شده است که در سایر مطالعات نیز از این دو روش استفاده گردید.

در رابطه با روش استخراج عصاره آبی و هیدروالکلی، در این مطالعه برخلاف سایر مطالعات به منظور حفظ حداکثر ماده موثره گیاه از دادن حرارت جهت تغلیظ عصاره خودداری گردید و عصاره ها در دمای محیط تغلیظ شدند. Kaur و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که با افزایش دما در فرآیند تهیه عصاره آبی از زنیان و رازیانه اثرات ضد میکروبی زنیان بطور معنی داری کاهش یافته و عصاره آبی رازیانه فاقد اثر ضد میکروبی بر اشرشیا کلی بوده است(۲۰). علاوه بر تفاوت های روش عصاره گیری، با توجه به نتایج متفاوت مطالعات تنوع مقدار ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان مورد توجه قرار می گیرد. از مهمترین مواد موثره اسانس زنیان می توان به تیمول، گاماترپینن، بتاپینن، سایمن و سابینن اشاره کرد که اثرات ضد میکروبی آنها در مطالعات مختلف گزارش شده است(۳۷).

همچنین از سایر ترکیبات موجود در عصاره تام زنیان می توان به ترکیبات فلاونوییدی آن با منشاء اثر ضد میکروبی اشاره نمود. حضور مقادیر متنوع ترکیبات موثره مختلف در عصاره گیاه، موجب افزایش اثر بیولوژیک آنها و افزایش اثر در

برابر مقاومت میکروبی می گردد(۳۸). در این مطالعه از جنتامایسین به عنوان آنتی بیوتیک استاندارد استفاده شد و از جمله محدودیت های این مطالعه می توان به عدم استفاده از سایر آنتی بیوتیک ها برای بررسی مقاومت میکروبی احتمالی سویه های بالینی اشاره کرد.

با بررسی داده‌های بدست آمده از مطالعه انجام شده بر روی نمونه استاندارد و بالینی اشریشیاکلی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدروالکلی زنیان اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال بر نمونه استاندارد و بالینی اشریشیاکلی دارد. مطالعات بیشتر جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره زنیان بر سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک و همچنین بررسی اثر هم افزایی عصاره زنیان با آنتی بیوتیک‌های رایج پیشنهاد می گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل جهت حمایت از این تحقیق، همچنین از کارشناسان گروه میکروب شناسی این دانشگاه که در انجام این کار به ما کمک نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

Comparision of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of Foeniculum Vulgare and Carum Copticum with Gentamicin on Escherichia Coli Strains: in Vitro Study

F. Abedi (MD)[1], R. Rajabnia (PhD)[2], H. Sorkhi (MD)[3], Z. Memariani (PhD)[1], H. Shirafkan (PhD)[4], S.A. Mozaffarpur (MD,PhD)[5*]

1.Department of Persian Medicine, Faculty of Persian Medicine, Babol university of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
2.Infection Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
3.Non-Communicable Pediatric Disease Research Center, Health Research Institute, Babol Medical University, Babol, I.R.Iran.
4.Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Public Health, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.
5.Traditional Medicine and History of Medical Sciences Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 20(2); Feb 2018; PP: 49-55
Received: Nov 20th 2017, Revised: Jan 30th 2018, Accepted: Feb 12th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Due to bacterial resistance to antibiotics, new antibacterial agents is essential. In Persian medicine Fennel (*Fuenoculum vulgare* Mill.) and Ajwain (*Carum copticum* (L.) Benth. & Hook.f.) are recommended for the treatment of some infections. In this research, bacteriostatic and bactericidal effects of aqueous and hydroalcoholic extracts of fennel and Ajwain on *E. coli* were investigated.

METHODS: In an in-vitro study 30 clinical isolates of urine culture of children with urinary tract infection from Amirkola Pediatric Hospital in Babol and a standard sample were used. Antibacterial effects of 4 grouos including aqueous and hydroalcoholic extracts of fennel and Ajwain by measuring the diameter of the inhibition zone using disc diffusion (concentrations 16, 32, 64, 128, 256 and 512 mg/disc) and determination of Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) with Microdilution method was compared with Gentamicin (30mg/disc) as a positive control

FINDINGS: There was no significant difference in inhibition zone with Gentamicin at concentrations of 64, 128, 256, and 512 mg/disc in standard and clinical samples. At concentrations of 16 and 32, Gentamicin was significantly better. The extract of 512 mg/disc (12.93±2.66) of hydroalcoholic extract of *Carum copticum* was significantly better than 256 mg/disc (9.53±1) (p=0.002). The MIC and MBC for standard samples were 4 and 8, respectively, and for clinical samples 3.83±2.36 and 5.8 mg / ml, respectively. Other extracts were not able to inhibit the growth of *Escherichia coli*.

CONCLUSION: The results showed that the Hydroalcoholic extract of *Carum copticum* has bacteriostatic and bactericidal effects on standard and clinical isolates of *Escherichia coli*.

KEY WORDS: *Anti-Bacterial Agents, Ajwain, Fennel, Persian Medicine*.

Please cite this article as follows:

Abedi F, Rajabnia R, Sorkhi H, Memariani Z, Shirafkan H, Mozaffarpur SA. Comparision of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of Foeniculum Vulgare and Carum Copticum with Gentamicin on Escherichia Coli Strains: in Vitro Study. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(2):49-55.

* **Corresponding Author; S.A. Mozaffarpur.**
Address: Traditional Medicine and History of Medical Sciences Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.
Tel: +98 11 32194728.
E-mail: seyyedali1357@gmail.com

References

1.Colgan R, Nicolle LE, McGlone A, Hooton TM. Asymptomatic bacteriuria in adults. Am Fam Physician. 2006;74(6):985-90.

2.Jonathan HC. Investigation of urinary tract infection in children. current paediatric. 2006,16(4):248-253.

3.Shokrollahei MD. Epidemiology of urinary tract infections in hospitolized children in fatemi-sahamieh hospital (2005-2006). Qom Univ Med Sci. 2008;2(1):35-41. [in Persian]

4.Sharma R, Sharma Ch, Kapoor B. Antibacterial resistance :current problems and possible solution. Indian J Med Sci. 2005;59(3):120-295.

5.Moghadam Nia A, Ghadimi R, Fatemi A. Sensitivity of bacteria involving pediatric urinary tract infection to some available antibiotics. J Babol Univ Med Sci. 1999;1(2):47-53. [In Persian].

6.Mahmoudpour Z, Shirafkan H, Mojahedi M, Gorji N, Mozaffarpur SA. Digesters in traditional persian medicine. Caspian J Intern Med. 2018;9(1):1-6.

7.Esmaeilidooki MR, Mozaffarpur SA, Mirzapour M, Shirafkan H, Kamalinejad M, Bijani A. Comparison between the cassia fistulas emulsion with polyethylene glycol (peg4000) in the pediatric functional constipation: a randomized clinical trial. Iran Red Crescent Med J. 2016;18(7):33998.

8.Mozaffarpur SA, Khodadust M, Shirafkan H, Yousefi M, Mirzapor M. Introducing a model for prioritization of drugs, based on iranian traditional medicine references. Med History. 2014;6(19):11-28.[In Persian].

9.Mozaffarpur SA, Naseri M, Esmaeili Dooki, MR, Bijani A, Kamalinejad M, Yousefi M, Mojahedi M, Khodadust M. Introduction of natural medicinal materia effective in treatment of constipation in Persian traditional medicine. History Med J. 2012;3(9):79-95. [In Persian].

10.Mozaffarpur SA, Naseri M, Esmaeili Dooki MR, Kamalinejad M, Bijani A. The effect of cassia fistula emulsion on pediatric functional constipation in comparison with mineral oil: a randomized, clinical trial. Daru. 2012; 20(1): 83.

11.Bazzaz BS, Memariani Z, Khashiarmanesh Z, Iranshahi M, Naderinasab M. Effect of galbanic acid, a sesquiterpene coumarin from Ferula szowits. Brazil J Microbiol. 2010;41:574-80.

12.Saeedi M, Ebrahimzadeh MA, Morteza-Semnani K, Akha A, Rabiei K. Evaluation of antibacterial effect of ethanolic extract of foeniculum vulgare mill. J Mazand Univ Med Sci. 2010;20(77):88-91. [In Persian]

13.Aghili Shirazi MH. Tehran: Institute of Meical History, Islamic Medicine and Complementary Medicine; 2008. Moalejat-e Aghili (Persian) PP. 133-223.

14.Haghiroalsadat BF, Vahidi AR, Azimzadeh M, Kalantar SM, Bernard F, Hokmollahi F. Chemical assessment of active ingredients and anti-oxidant effects of trachyspermum copticum's seeds harvested in yazd province. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2012;11(3):197-206. [In Persian]

15.Diao WR, Hu QP, Zhang H, Xu JG. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (Foeniculum vulgare Mill.). Food Control. 2014;35(1):109-16.

16.Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA, Qurishi MA. Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. Arabian J Chem. 2016;1(9):1574-83.

17.Mohsenzade M. Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oil against Staphylococcus areus and E coli in nutrient broth medium. Pak J Book Sci. 2007;10(20):3693-7.

18.Mahdavi S, Alizad M, Sajjadi P, Baleghi M. A Study of the Antioxidant and Antimicrobial Effects of Ethanolic Extract of Fennel (Foeniculum vulgare Mill) Seeds. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(5):32-8. [In Persian]

19.Anwar F, Ali M, Hussain AI, Shahid M. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds from Pakistan. Flav Fragranc J. 2009;24(4):170-6.

20.Kaur GJ, Arora DS. Antibacterial and phytochemical screening of Anethum graveolens, Foeniculum vulgare and Trachyspermum ammi. BMC Complement Alternat Med. 2009;9(1):30.

21.Mahmoudi H, Arabestani MR, Molavi M, Karamolah KS, Fahim NZ. The study effects antimicrobial of Foeniculum vulgare mill and Achilles mille folium plant on bacterial pathogens causing urinary tract infections and nosocomial infection. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2016;8(9):1549-54.

22.Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. J Nat Med. 2007;61(3):313-7.
23.Tehrani FA, Azizian S, Modaresifar KH, Peirovi H, Niknejad H. The antibacterial effect of low temperature stored amnion on growth of escherichia coli, staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(1):19-3. [In Persian].
24.Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009a. Methods for Diluition Antimicrobial Susceptibility Tests; Approved Standard Eighth Edition. CLSI document M07–A8 (ISBN1-56238- 689-1). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania19087-1898,USA.
25.Zeighami H, Haghi F, Hajiahmadi F, Kashefiyeh M, Memariani M. Multi-drug-resistant enterotoxigenic and enterohemorrhagic Escherichia coli isolated from children with diarrhea. J Chemother. 2015;27(3):152-5.
26.Shafeghat M, Sharifi-Mood B, Metanat M, Saeidi S, Sepehri- Rad N. The Antibacterial Activity of the Ajowan Extract. Iran J Infec Dis Trop Med. 2015;19(67): 37-40. [In Persian]
27.Amiri A, Jomehpour N. Evaluation the Effect of Anti bacterial of Ferula assa-foetida L, Carum copticum, Mentha piperita L Hydroalcoholic Extract on Standard Sensitive and MethicillinResistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli O157H7 and Salmonella typhimurium. J Ilam Univ. 2016;24(2):72-9. [In Persian].
28.Khosravipour R, Rezaeian-Doloei, R. Antibacterial activity Carum copticum essential oil against Pectinobactrrium carotovorum subsp. Carotovorum and Escherichia coli in nutrient broth medium. Curr Microbiol. 2016;73(2):265-72.
29.Mahboubi M, Kazempour N. Chemical composition and antimicrobial activity of Satureja hortensis and Trachyspermum copticum essential oil. Iran J Microbiol. 2011;3(4):194-200.
30.Kavoosi G, Tafsiry A, Ebdam AA, Rowshan V. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from Carum copticum seed and Ferula assafoetida latex. J Food Sci. 2013;78(2):356-61.
31.Zeidabadi Nejad M, Amini, K. Detection of pap, fim, sfa and afa genes in eschreshia coli strains isolated from patients with urinary tract infection by multiplex-pcr in kerman, iran. Jundishapur J Microbiol. 2017;16(4):393-400. [In Persian]
32.Zakerin AR, Ahmadi E, Fasihi-Ramandi M, Abdollahi S, Molazadeh AR, Jafari S, Allahverdi Gh. The Effects of Ecologic Condition on Antimicrobial Activity of Endemic Herbal Extracts in Fars Province. Fasa Univ Med Sci. 2015;5(1):111-9. [In Persian].
33.Manonmani R, Khadir VMA. Antibacterial screening on foeniculum vulgare Mill. Int J Pharma Bio Sci. 2011;2(4):390-4.
34.Lo Cantore P, Iacobellis NS, De Marco A, Capasso F, Senatore F. Antibacterial Activity of coriandrum sativum L and foeniculum vulgare miller var vulgare (Miller) essential Oils. J Agric Food Chem. 2004;52(26):7862-6.
35.Gulfraz M, Mehmood S, Minhas N, Jabeen N, Kausar R, Jabeen K, Arshad G. Composition and antimicrobial properties of essential oil of Foeniculum vulgare. Afri J Biotech. 2008;7(24):4364-8.
36.Sağ dıç O, Özcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Cont 2003;14(3):141-3.
37.Ashrafi Tamai I, Zahraei Salehi T, Khosravi A, Sharifzadeh A, Balal A. Chemical composition and anti-candida activity of trachyspermum ammi essential oil on azoles resistant candida albicans isolates from oral cavity of hiv+ patients. J Med Plant. 2013;2(46):137-49. [In Persian].
38.Hassan W, Gul S, Rehman S, Noreen H, Shah Z. Chemical composition, essential oil characterization and antimicrobial activity of carum copticum. Vitam Miner. 2016;5:139.