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

مقایسه اثر مهاری عصاره های مختلف گیاه تشنه داری بر باکتری های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا و هلیکوباکترپیلوری در شرایط in vitro

محمدرضا نظری[۱]، ایرج پاکزاد[۲*]، عباس ملکی[۲]، علی همتیان[۲]

۱) گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی کرج

۲) گروه میکروب شناسی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۳

چکیده

مقدمه: باکتری های استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و هلیکوباکترپیلوری از مهم ترین باکتری های ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی هستند. صدها گیاه در سراسر جهان در درمان سنتی عفونت های باکتریال استفاده می شوند استفاده از گیاهان داروئی به عنوان یک راه جایگزین جهت درمان عفونت های باکتریال مطرح می باشد. هدف این تحقیق بررسی اثر مهاری عصاره آبی و الکلی گیاه تشنه داری بر روی باکتری های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا و هلیکوباکترپیلوری در شرایط in vitro بود.

مواد و روش ها: عصاره گیری به صورت آبی و الکلی انجام گرفت، اثر مهاری این عصاره در محیط مولر هینتون آگار بر روی باکتری های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بررسی گردید. سپس MIC و MBC در لوله های محیط کشت TSB به روش براث ماکرودایلوشن انجام شد و جهت تعیین MIC و MBC عصاره در مورد هلیکوباکترپیلوری از روش آگار دیفیوزن استفاده گردید.

یافته های پژوهش: هاله عدم رشد عصاره آبی در مورد باکتری استافیلوکوک اورئوس ۱۶ میلی متر و سودوموناس آئروژینوزا ۲۴ میلی متر و هاله عدم رشد عصاره اتانلی و متانلی در مورد استافیلوکوک اورئوس به ترتیب ۱۱ و ۱۲میلی متر و هاله عدم رشد عصاره اتانلی و متانلی در مورد سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۱۲ و ۱۶ میلی متر بود. عصاره کلروفرمی فاقد هر گونه اثر مهاری بود. در بین عصاره ها، عصاره آبی جوشانده ۰/۵ ساعته موثرتر از سایرین بود و عصاره جداگانه ریشه و ساقه فاقد هر گونه اثر مهاری بودند. MIC و MBC عصاره آبی برای باکتری استافیلوکوک اورئوس به ترتیب ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین گردید. MIC و MBC عصاره آبی برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. MIC و MBC عصاره آبی برای باکتری هلیکوباکترپیلوری به ترتیب ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین گردید.

بحث و نتیجه گیری: از بین عصاره های مختلف عصاره آبی و متانلی بیشترین اثر مهاری را داشته اند و جوشانده ۰/۵ ساعته گیاه بیشترین اثر را دارا می باشد. با توجه به مقادیر MIC و MBC به نظر می رسد که عصاره آبی این گیاه یکی از ترکیبات گیاهی موثر بر باکتری ها باشد.

واژه های کلیدی: گیاه درمانی، Scrophularia striata، عصاره، MIC

* **نویسنده مسئول:** گروه میکروب شناسی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

Email:pakzad-i2006@yahoo.com

مقدمه

صدها گیاه در سراسر جهان در درمان سنتی عفونت های باکتریال استفاده می شوند و اثرات ضد میکروبی آن ها در شرایط in vitro اثبات شده است،(۱،۲). سهولت استفاده از گیاهان داروئی و مقبولیت عام آن ها بستری مناسب برای استفاده از گیاهان داروئی فراهم نموده است،(۳،۲۳). در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی ایران و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع آن امکان تولید این مواد به مقدار زیاد در سطح صنعتی وجود دارد. این کار به ویژه در مورد گیاهانی که منحصر به ایران هستند و تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته اند اهمیت ویژه ای دارند،(۵،۴). گیاه Scrophularia striataگیاهی از تیره گل میمون است که در مناطق کوهستانی رشته کوه های زاگرس رویش دارد و نام محلی آن در استان ایلام تشنه داری است.(۸)

مو اد و روش ها

عصاره گیری: عصاره آبی با افزودن ۵ گرم پودر گیاه خشک شده در آب مقطر استریل به مدت ۲/۵ ساعت جوشاندن سپس عصاره فیلتر گردید. عصاره الکلی کلروفرمی با افزودن ۱۰ گرم پودر خشک شده گیاه تشنه داری به ۱۰۰ میلی لیتر اتانل(مرک)، متانل(مرک) و کلروفرم(مرک) و بعد از ۷۲ ساعت عصاره فیلتر گردید.(۱۴،۱۶)

بررسی تاثیر عصاره های مختلف بر باکتری های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا: از سوسپانسیون باکتریایی ۰/۵ مک فارلند از باکتری های فوق طبق اصول آنتی بیوگرام به صورت چمنی کشت داده شد، سپس چاهک هایی در محیط کشت با پیپت پاستور استریل تعبیه گردید و حجم مشخصی از عصاره های مختلف در این چاهک ها ریخته شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون هاله عدم رشد اطراف چاهک ها قرائت گردید.(۱۱،۱۳)

تعیین MIC و MBC با استفاده از عصاره آبی گیاه تشنه داری: از عصاره خشک شده غلظتی معادل ۵ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه گردید سپس به ۱۰ لوله استریل حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت T.S.B و سوسپانسیون میکروبی طوری اضافه گردید که کدورت نهایی معادل ۰/۵ مک فارلند باشد. سپس مقادیر مختلفی از عصاره به این محیط های کشت اضافه گردید به طوری که غلظت نهایی آن ها معادل ۴۵،۴۰،۳۵،۳۰،۲۵،۲۰،۱۵،۱۰،۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر رسید. سپس لوله ها در انکوباتور قرار گرفته بعد از ۲۴ ساعت نتیجه قرائت گردید.(۹،۱۷)

در تعین MIC و MBC از ۳۰ ایزوله بالینی استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در کنار سویه های استاندارد استافیلوکوک اورئوس ATCC و سودوموناس آئروژینوزا ATCC استفاده گردید،(۶،۷). برای تعیین MIC و MBC باکتری هلیکوباکترپیلوری غلظت های مختلف از عصاره(۵،۱۰،۱۵،۲۰،۲۵،۳۰،۳۵،۴۰،۴۵،۵۰) در محیط کشت اختصاصی تهیه و سپس باکتری در آن کشت داده شد بعد از ۳ روز نتیجه قرائت گردید.(۱۴،۱۵)

یافته های پژوهش

نتایج نشان داد که عصاره آبی این گیاه در حجم ۵۰µl بسیار موثرتر می باشد. با توجه به این که عصاره های ریشه و ساقه به تنهایی موثر نمی باشند احتمال می رود این رقت حاوی موادی باشند که پس از ترکیب با همدیگر خاصیت ضد باکتریایی آن ها نمایان شود.(۱۹،۲۰،۲۱)

جدول شماره ۱ اثر عصاره های مختلف(آبی، الکلی وکلروفرمی) گیاه تشنه داری در حجم ۵۰ میکرولیتر بر روی باکتری های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا، را نشان داد که عصاره آبی بیشترین اثر مهاری بر باکتری های فوق دارد.

نام عصاره	هاله عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا(برحسب میلی متر)	هاله عدم رشد استافیلوکوک اورئوس(برحسب میلی متر)
آبی در حجم ۵۰ میکرولیتر	۲۴	۱۴
اتانولی در حجم ۵۰ میکرولیتر	۱۲	۱۱
متانولی در حجم ۵۰ میکرولیتر	۱۶	۱۲
کلروفرمی در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر

جدول شماره ۲ نشان می دهد که در بین عصاره های مختلف آبی این گیاه، عصاره ۳۰ دقیقه ای بیشترین تاثیر را بر روی استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا دارد.

نام عصاره آبی	هاله عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا(برحسب میلی متر)	هاله عدم رشد استافیلوکوک اورئوس(برحسب میلی متر)
عصاره جوشانده ۳۰ دقیقه ای	۲۴	۱۴
عصاره جوشانده ۲/۵ ساعته	۱۴	۱۰
عصاره نجوشانده ۷۲ ساعته	صفر	صفر

اثر عصاره های مختلف آبی: جدول شماره ۳ که نتایج مقایسه اثر عصاره ریشه و ساقه با عصاره کل گیاه را نشان داد. مشاهده می شود که عصاره های مختلف آبی، اتانلی، متانلی و کلروفرمی ریشه و ساقه به صورت جداگانه فاقد هر گونه اثر مهاری می باشند.

نام عصاره	هاله عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا(برحسب میلی متر)	هاله عدم رشد استافیلوکوک اورئوس(برحسب میلی متر)
آبی ریشه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
اتانولی ریشه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
متانولی ریشه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
کلروفرمی ریشه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
آبی ساقه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
اتانولی ساقه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
متانولی ساقه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
کلروفرمی ساقه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر
آبی کل گیاه درحجم ۵۰ میکرولیتر	۲۴	۱۴
اتانولی کل گیاه در حجم ۵۰ میکرولیتر	۱۲	۱۱
متانولی کل گیاه در حجم ۵۰ میکرولیتر	۱۶	۱۲
کلروفرمی کل گیاه در حجم ۵۰ میکرولیتر	صفر	صفر

جدول شماره ۴ نشان می دهد که میانگین MIC و MBC عصاره آبی برای باکتری استافیلوکوک اورئوس به ترتیب ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

جدول شماره ٤ . تعیین MIC و MBC عصاره آبی برای باکتری های استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و هلیکوباکترپیلوری

MBC	MIC	مقادیرمختلف عصاره (µg/ml)								
۱۰	۵	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵
۱۰	۵	۲۵	۲۲/۵	۲۰	۱۷/۵	۱۵	۱۲/۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵
۱۰	۵	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵
۱۰	۵	۲۵	۲۲/۵	۲۰	۱۷/۵	۱۵	۱۲/۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵

جدول شماره ۵ نشان می دهد که میانگین MIC و MBC عصاره آبی باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۱۵ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

MBC	MIC	مقادیر مختلف عصاره(µg/ml)									
۲۰	۱۵	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵
۲۰	۱۵	۲۵	۲۲/۵	۲۰	۱۷/۵	۱۵	۱۲/۵	۱۰	۷/۵	۵	۲۵
۲۰	۱۵	۳۵	۳۲/۵	۳۰	۲۷/۵	۲۵	۲۲/۵	۲۰	۱۷/۵	۱۵	۱۲/۵
۲۰	۱۵	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵

جدول شماره ٦ نشان می دهد که میانگین MIC و MBC عصاره آبی باکتری هلیکوباکترپیلوری به ترتیب ٤٠ و ٥٠ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

MBC	MIC	مقدار عصاره(µgr/ml)										شماره سویه
۵۰	۴۰	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵	۱
۵۰	۴۰	۵۵	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۲
۵۰	۴۰	۱۱۰	۱۰۰	۹۰	۸۰	۷۰	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰	۲۰	۳
۵۰	۴۰	۱۰۰	۹۰	۸۰	۷۰	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰	۲۰	۱۰	۴

بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان می دهد که از بین عصاره های مختلف، عصاره آبی موثرتر از مابقی عصاره ها می باشد که نشانگر این است که ماده موثره این عصاره در فاز آبی بهتر استخراج می شود،(۱۰)، از طرف دیگر عصاره معمولی آبی در مقیاس با عصاره آبی فاقد هر گونه اثر مهاری است و نشانگر این است که ماده موثره با جوشاندن از سلول های گیاهی خارج می شود.(۵)

عصاره آبی، اتانلی و متانلی مجزا ریشه، ساقه فاقد هر گونه اثر مهاری می باشند،(۱۲). احتمالاً ماده موثره این گیاه از اجزای مختلفی تشکیل شده است که باید در کنار هم قرار گیرند تا اثر مهاری داشته باشند.(۲۰)

عصاره کلروفرمی فاقد هر گونه تاثیر مهاری بود که نشانگر این است که حلال قادر به جداسازی ماده موثره از این گیاه نمی باشد،(۱۴). هم چنین عصاره های آبی مختلف تاثیرات متفاوتی داشته اند که در بین آن ها بیشترین تاثیر مربوط به عصاره جوشانده نیم ساعته است یعنی اگر کمتر جوشانده شود استخراج ماده موثره کامل نمی باشد و اگر بیشتر جوشانده شود حرارت باعث تخریب ماده موثره می شود.(۲۱)

این گیاه از اجزای مختلفی تشکیل شده است که باید در کنار هم قرار گیرند تا اثر مهاری داشته باشند،(۱۸). از نتایج حاصل از MIC و MBC عصاره آبی این گیاه این طور به نظر می رسد که اثر مهاری آن بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا بیشتر از استافیلوکوک اورئوس است،(۱۴). عصاره آبی این گیاه نسبت به سایر عصاره ها موثرتر می باشد و نیز اثر آن بر باکتری های گرم منفی بیشتر از باکتری های گرم مثبت می باشد.(۲۲)

References

1.Tavakoli-Saberi MR. [Therapeutic her-bs]. Rozbehan Publication:Tehran; 1990. (Persian)
2.Haji-Akhondi MK, Baligh N. [Applied herbal medicine]. Scientific Publication of Islamic Azad University; 2001. (Persian)
3.Rahimi MK, Athari A. [Medical microbeology]. Aeizh Publication. 2002.P.485. (Persian)
4.Smsam Shariat H. [Herbal medicine cu-ltivation]. Mani Publication; 2004. (Per-sian)
5.Eidi A, Eidi M. [Herbal medicine in Ir-an]. Publication of Islamic Azad Universit-y; 2005. (Persian)
6.Mozafaryan V. [Plant flora of Ilam province]. Park and Jungle Research Institute: Ministry of Agronomy; 2005. (Persian)
7.Adeniyi BA, Anyiam FM. In vitro pote-ntial of methanol extract of allium asc-alonicum Linn. (Liliaceae) Leaf; Susespt-iblity and effect on urease activity. J Mic-robial 2004;18: 357-61.
8.Agil F. Effect of certain bioactive plant extracts on clinical isolates of beta lacta-mase producing methicillin resistant staph-ylococcus aureus. J Basic Microbial 2005; 45; 106-14.
9.Baron F. Diagnostic Microbiology. Masby:Missouri USA;1990.
10.Basile A. Antibacterial and antioxidant activeties in siderites italica (miller) Greuer et Burdet essential oils. J Ethnopharacol 2006; 8:562-7.
11.Braga LC. Synergic interaction bet-ween pomegranate extract and antibiotics against staphylococcus aureus. Can J Mi-crobial 2005;10:237-42.
12.Cellinil A. Inhibition by garlic extract (Allium sativum). FEMS Immunol Med Microbial 1996;11:437-42.
13.Collee JG. Practical medical micro-biology charchill livingstance. Uk; 1990.
14.Ferenadez MA. Antibacterial activity of the phenolic acids fraction of scrop-hularia frutescens and scrophularia sambu-cifolia. J Ethnopharmacol 1996;8:628-32.
15.John JR. Screening for antimicrobial activeeity of ten medicinal Colombian falk-loric medicine: A possible alternative treat-ment of non-nosocomial infections. J Eth-nopharmacol 2006;10:1186-472.
16.Karenm A, Ernest E. Herbal medicines for treatment of bacterial infection; are vie-w of controlled clinical trals. J Antimicrob Chem 2003;21:987-92.
17.Liu IX. Baicalin synergy with beta-lact-am antibiotics against methicillin resist-ant staphylococcus aureus and other beta-lactam resistant strains of stphylococcus, aureus. J Pharm 2000;6:286-94.
18.Newton SM. The evaluation of forty-three plant species for in vitro anti myco-bacterial activities, isolation of active constituents from psoralea- cory lifolia and sanguinaria Canadensis. J. Ethnopharm-acol 2002;7:118-22.
19.Rasooly M, Weis A. In vitro Antiba-cterial Activities of phloxine Band other Halogenated fluorescenins against Methi-cillin Resistant staphylococcus aureus. A-ntimicrob Agent Chem 2003;9:17-25.
20.Romero CD. Antibacterial properties of common herbal remedies of the south-west. J Ethnopharmacol 2005;23:578-84.
21.Tadeg H. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian med-icinal plants used in the treatment of skin disorders. J Ethnopharmacol 2005;5:66-72.
22.Yang Z .The syneristic activity of antibiaties combined with eight traditional Ch-inese medicines against two different stra-ins of staphyhococcus aureus. Coll Surf Biointer Faces 2005;21:246-52.
23.Zaidi MA, Crow SA. Biologically acti-ve traditional medicinal herbs from Baloc-histan, Pakistan. J Ethnopharm 2005; 6:191-8

Comparison of in vitro inhibitory effects of different extracts of Scrophularia striata plant on Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa and Helicobacter pylori

Nazari MR[1], Pakzad I[2], Maleki A[2], Hematian A[2]*

(Recived: 7August, 2013 Accepted: 14November, 2013)

Abstract

Introduction: The most important nosocomial infectious agents are Staphylococcus aureus (S. aureus), Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa), and Helicobacter pylori (H. pylori). An alternative way for treatment of bacterial infection is herbal therapy. The aim of this study was to evaluate the inhibitory effects of alcoholic and water extracts of Scrophularia striata (S. striata) plant on S. aureus, P.aeruginosa and H. Pylori at in vitro condition.

Materials & Methods: Water and alcoholic extracts of S. striata plant were prepared. Inhibitiory effect of these extracts was examined on S. aureus and P.aeruginosa in Mueller-Hinton agar medium. MIC and MBC of the extracts was determined in TSB medium by macro dilution method. MIC and MBC of H. Pylori was determined by agar diffusion mehod.

Findings: Inhibitory zone of water extraction for S. aureus and P. aeruginosa was 16 mm and 24 mm, respectively. Inhibitory zone of ethanol extract for S. aureus and P. aeruginosa was 11 mm and 12 mm and that of methanol extract was 12 mm and 16 mm, respectively.
The chloroform extract had not any inhibitory effect. The MIC of water extract of S. striata for S. aureus, P. aeruginosa and H. Pylori were 15µg/ml, 20µg/ml, and 5µg/ml, respectively. Also, the figures of MBC were 10µg/ml, 40µg/ml and 50µg/ml, respectively.

Discussion & Conclusion: Water and methanol extracts of S. striata had better inhibitory effect then other extracts. The best effect was belonged to the 5-hour boiled extract of the plant. Given to the MIC and MBC values, water extract of S. striata may be a candidate for herbal therapy in bacterial infections.

Keywords: Herbal, Scrophularia striata, extraction, MIC

1.Dept of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
2.Dept of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
** (Corresponding author)*