فعالیت ضد باکتریایی عصاره گشنیز (Coriandrum sativum) بر میکروارگانیسم‌های بیماری زا در شرایط برون تنی

علیرضا وسیعی[۱]، فریده طباطبایی یزدی*[۲]، سید علی مرتضوی[۳]

۱ دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ دانشیار و عضو هئیت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳ استاد و عضو هئیت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

***نشانی برای مکاتبه:** تلفن: ۸۷۶۳۸۴۲ – ۰۵۱۱، tabatabai@um.ac.ir

دریافت مقاله: تیر نود و چهار پذیرش برای چاپ: مهر نود و چهار

چکیده

سابقه و هدف: مقاومت های آنتی بیوتیکی تهدید جدی برای سلامت انسان ها به ویژه گروه های در معرض خطر هم چون کودکان، سال خوردگان و دارای ایمنی ضعیف بوده و لذا جست وجو و یافتن برای ترکیبات ضد میکروبی طبیعی، ارزان و موثر ضروری است. هدف از این پژوهش تعیین اثر ضد میکروبی گشنیز (*Coriandrum sativum*) بر باکتری های عفونت زا شامل *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* بود.

روش‌کار: این پژوهش تجربی از بهمن ۱۳۹۳ تا اردیبهشت ۱۳۹۴ در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفت. برای عمل عصاره گیری گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) از روش خیساندن و از حلال های آبی و اتانولی استفاده شد. از روش تمام ظرف و انتشار در آگار برای تعیین حساسیت سویه های مورد مطالعه استفاده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش میکروپلیت انجام گرفت.

یافته‌ها: بیش ترین میزان اثر عصاره اتانولی گشنیز بر باکتری *استافیلوکوکوس*اورئوس و در غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. کم ترین قطر هاله در این غلظت مربوط به باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* بود. MIC عصاره اتانولی برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب* ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۶/۲۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی گشنیز دارای اثر ضد میکروبی کم تری بود بنحوی که حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گشنیز برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب* ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰میلی گرم بر میلی لیتر بود.

نتیجه‌گیری: گیاه گشنیز دارای اثرات ضدمیکروبی قابل ملاحظه ای است. به طوریکه بیش ترین اثر ضد میکروبی بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و کم ترین اثر ضد میکروبی بر باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* مشاهده شد.

واژگان کلیدی: ***گشنیز، عصاره، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی***

مقدمه

گشنیز نوعی سبزی با نام علمی *Coriandrum sativum* بومی جنوب غرب آسیا و شمال آفریقا است. ارتفاع این گیاه تا نیم متر هم می‌رسد. اغلب گشنیز تولیدی ایران در شهرستان نهاوند استان همدان بدست می آید اما این گیاه در سایر مناطق از جمله تبریز، بلوچستان، کرمان، برازجان، تهران، دماوند، باختران، آبادان، نیز کشت می شود. تخم گشنیز به عنوان یکی از ادویه‌جات مهم استفاده می‌گردد. در طب سنتی هم از آن استفاده می کنند. در ایران از تخم گشنیز برای تصفیه خون و استفاده در شیرینی‌جات خانگی بهره می‌برند. گشنیز در کاهش اضطراب و بی‌خوابی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثر ادرارآوری این گیاه در انسان، باعث کاهش فشار خون، دفع سنگ‌های کلیه و مثانه، رفع تجمع آب در بافت ها می‌گردد. مصرف گشنیز در بیماری های عفونی مختلف با منشأ کلی باسیل ها و تب های دانه ای از جمله تب تیفوئیدی توصیه شده است(۳-۱).

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین سلامت و بهداشت جوامع امروزی هم به لحاظ درمان و هم پیش گیری از بیماری ها عفونی و مسمومیت زا برخوردار بوده و هستند. گیاهان دارویی قدمتی به درازای طول عمر بشر داشته و از

مهم ترین منابع تأمین غذایی و دارویی بشر در طول تاریخ بوده است. امروزه در سرتاسر دنیا از جمله ایران گرایش عمومی جامعه به استفاده گیاهان دارویی و فرآورده های طبیعی جهت درمان است. در طی سال های اخیر روند استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش بوده و مهم ترین علل آن، اثبات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی می باشد(۴).

امروزه با افزایش استفاده از آنتی بیوتیک ها و داروهای ضد میکروبی شاهد شیوع و گسترش روز افزون گونه‌های میکروبی بیماری زای مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها هستیم. بیماری‌های عفونی از جمله بیماری‌های گسترده و شایع در جهان هستند که هزینه‌های فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌کنند. گیاهان دارویی نه تنها در درمان بیماری های عفونی، بلکه به طور هم زمان تعداد زیادی از آثار جانبی را که اغلب با ترکیبات ضد میکروبی هم راه هستند را کاهش می دهند. باکتری‌ها عمومی‌ترین عامل در ارتباط با مسمومیت‌ها و عفونت‌ها هستند. تعداد زیادی از عفونت‌ها و مسمومیت‌ها توسط *سودوموناس آئروژینوزا*، استافیلوکوکوس اورئوس و *اشرشیا کلی* ایجاد می شود. خانواده آنتروباکتریاسه شامل گروهی از باکتری های ساکن روده انسان و سایر جانوران است. *اشرشیاکلی* به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد(۵ و ۶). *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از گروه های بسیار مهم ایجاد کننده بیماری های اکتسابی در بیماران بستری شده در مراکز درمانی است. سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی بیوتیک تهدیدی جدی در عفونت های بیمارستانی به شمار می آیند که روند درمان عفونت های این باکتری را با مشکل مواجه و بسیاری از مشکلات بالینی و اپیدمیولوژی در بیمارستان ها را به وجود آورده اند. *سودوموناس آئروژینوزا* سبب عفونت‌های مجاری ادراری، سیستم تنفسی و ... می شود(۷).

هدف از این پژوهش آزمایشگاهی تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی گیاه گشنیز به ۴ روش تمام ظرف، انتشار در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر باکتری های بیماری زا شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* در شرایط برون تنی بود.

روش کار

این پژوهش از بهمن ماه ۱۳۹۳ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفت. سویه‌هایی که در این پژوهش استفاده شدند شامل: *Escherichia coli* PTCC 1330، *Staphylococcu aureus* PTCC 1337 و *Pseudomonas aeruginosa* PTCC 1310 بود که از دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه شد. جهت رشد میکروارگانیسم و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه گشنیز از محیط کشت مولر هینتون آگار برای روش تمام ظرف و انتشار در آگار و از مولر هینتون براث برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. تمامی محیط کشت ها و مواد مصرفی همگی ساخت شرکت مرک آلمان بود.

گیاه گشنیز از بازار مشهد (استان خراسان رضوی) خریداری شد. آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد جنس و گونه گیاه گشنیز را تایید کرد. ابتدا گیاه گشنیز در سایه خشک گردید. سپس برگ های خشک شده با آسیاب برقی آزمایشگاهی مدل (Waring) پودر گردید، جهت یک نواختی اندازه ذرات برگ های پودر شده از الک آزمایشگاهی عبور داده شدند. از روش خیساندن جهت عصاره‌گیری از گیاه گشنیز استفاده شد. در این روش ۱۵۰ گرم از برگ های گیاه گشنیز به وسیله ترازوی آزمایشگاهی توزین و در ظروف جداگانه استریل که حاوی ۴۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد (مرک آلمان) و آب مقطر ریخته شدند. ظروف حاوی پودر گیاه گشنیز و حلال(اتانول و آب مقطر) به مدت ۴۸ ساعت روی انکوباتور لرزان در دمای محیط قرار داده شد. بعد از طی ۴۸ ساعت ابتدا مخلوط حاصل صاف گردید و ذرات پودر گیاه شوید ئ عصاره اولیه به طور دقیق از هم جدا شدند، سپس جهت شفاف سازی عمل سانتریفوژ به مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید. جهت حذف حلال از دستگاه روتاری استفاده گردید. در انتها عصاره‌های گیاه گشنیز در ظروفی استریل که جداره آن با فویل آلومینیوم جهت حذف اثر نور پوشانده شده بود قرار گرفت و در یخچال نگهداری شد(۸).

برای تعیین وزن خشک گیاه گشنیز از روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۳) با کمی اصلاحات استفاده گردید. این روش

سه بار تکرار گردید و میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره های آبی و اتانولی گیاه گشنیز گزارش شد(۹).

جهت تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی گیاه گشنیز از روش آمیخته (تمام ظرف) طبق روش پیرنیا و همکاران(۱۳۹۴) (۱۰)، انتشار در آگار (دیسک دیفوژن) طبق روش به کار گرفته شده توسط طباطبایی یزدی و همکاران(۲۰۱۳) (۱۱)، حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) با استفاد ه از روش کلیکتاس و همکاران (۲۰۰۷) و وسیعی و همکاران (۱۳۹۳) (۱۲ و ۱۳) استفاده شد. در زیر به صورت خلاصه هریک از روش های ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آورده شده است.

در روش تمام ظرف پس از افزودن ۰/۲ گرم از عصاره های آبی و اتانولی گیاه گشنیز به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، مخلوط حاصل هم زده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول به ظرف های پتری استریل اضافه گشت. سپس یک لوپ از کشت استاندارد حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$CFU/ml بود بر محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) کشت داده شد و به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت(۱۰).

در روش انتشار در آگار ابتدا دیسک‌های کاغذی (جنس صافی واتمن و به قطر ۶ میلی متر) با غلظت‌های mg/ml ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ عصاره‌ها آغشته توسط پنس استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار از کشت استاندارد حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$CFU/ml قرار داده شدند. بعد از گرم خانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. تمامی آزمایشات با ۳ بار تکرار انجام پذیرفت(۱۱).

برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد از روش کلیکتاس و همکاران (۲۰۰۷) و وسیعی و همکاران (۱۳۹۳) استفاده شد(۱۲ و ۱۳). از سه گونه باکتری های عامل بیماری زا مورد بررسی ، کشت۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در محیط مولر هینتون براث تهیه شد. سریال های رقت معادل ۴۰۰ میلی گرم در میلی لیتراز ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ عصاره های آبی و اتانولی گشنیز تهیه و ۷۰ میکرو لیتر از آنها به میکرو پلیت های ۹۶ خانه ایی که قبلا حاوی ۷۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با کدورت نیم مک فارلند که معادل با $۱/۵\times۱۰^{۸}$CFU/ml بودند اضافه گردید. سپس به مدت ۲۴ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه گرم خانه گذاری گردیدند. کم ترین رقت از عصاره که کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش شد. از تمام خانه هایی که کدورت در آن مشاهده نشد، به پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم خانه گذاری شدند. غلظت‌هایی که هیچ کلنی باکتری بر آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) گزارش شد. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و آنالیز یک طرفه آنووا و آزمون تی استفاده شد. سطح معنی دار بودن ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته ها

وزن خشک عصاره اتانولی گیاه گشنیز ۱۲ درصد و وزن خشک عصاره آبی گشنیز ۱۰ درصد بود، درنتیجه درصد استحصال عصاره اتانولی گشنیز ۲ درصد بیشتر از زمانی است که از آب به عنوان حلال استفاده شده است.

برای عصاره آبی استافیلوکوکوس اورئوس نیمه حساس و اشرشیا کی و سودوموناس ائروژینوزا هر دو مقاوم بودند. برای عصاره اتانولی استافیلوکوکوس اورئوس حساسریال اشرشیا کلی نیمه حساس و سودوموناس ائروژینوزا مقاوم بود. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی به روش انتشار در آگار در جدول ۱ آورده شده است. بیش ترین میزان اثر عصاره اتانولی گشنیز بر باکتری *استافیلوکوکوس*اورئوس و در غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. کم ترین قطر هاله در این غلظت مربوط به باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* بود.

جدول۱- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره های آبی و اتانولی گشنیز بر میکروارگانیسم های مورد مطالعه بر حسب میلی‌متر (انتشار در آگار)

		غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)			
	میکروارگانیسم	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۹/۱۰±۰/۵۴^{a}	۱۰/۹۰±۰/۲۸^{b}	۱۳/۵۰±۰/۵۲^{c}	۱۶/۲۰±۰/۵۴^{d}
آبی	*اشرشیا کلی*	۷/۱۰±۰/۲۸^{a}	۹/۲۰±۰/۵۰^{b}	۱۱/۱۰±۰/۵۲^{c}	۱۳/۰۰±۰/۲۸^{d}
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	-	۷/۱۰±۰/۵۰^{a}	۹/۳۰±۰/۵۲^{b}	۱۰/۹۰±۰/۵۰^{c}
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۰/۰۰±۰/۲۸^{a}	۱۳/۷۰±۰/۵۴^{b}	۱۶/۴۰±۰/۵۲^{c}	۱۹/۴۰±۰/۲۸^{d}
اتانولی	*اشرشیا کلی*	۷/۹۰±۰/۵۰^{a}	۹/۷۰±۰/۵۷^{b}	۱۲/۰۰±۰/۵۴^{c}	۱۴/۱۰±۰/۵۰^{d}
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	۶/۸۰±۰/۵۴^{a}	۸/۸۰±۰/۲۸^{b}	۹/۹۰±۰/۵۷^{b}	۱۱/۸۰±۰/۵۰^{c}

- علامت (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد باکتری عصاره های آبی و اتانولی گشنیز می‌باشد.
- حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.
- حروف مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.

MIC عصاره اتانولی برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۶/۲۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی گشنیز دارای اثر ضد میکروبی کم تری بود بنحوی که حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گشنیز برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰میلی گرم بر میلی لیتر بود(جدول ۲).

جدول۲- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره های آبی و اتانولی گشنیز بر باکتری‌های مورد مطالعه

نوع عصاره	میکرو ارگانیسم	MIC	MBC
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۶/۲۵	۶/۲۵
اتانولی	*اشرشیا کلی*	۱۲/۵	۲۵
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	۲۵	۵۰
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۲/۵	۲۵
آبی	*اشرشیا کلی*	۲۵	۵۰
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	۵۰	۱۰۰

بحث

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین سلامت و بهداشت جوامع امروزی هم به لحاظ درمان و هم پیش گیری از بیماری ها عفونی و مسمومیت زا برخوردار بوده و هستند. گیاهان دارویی قدمتی به درازای طول عمر بشر داشته و از مهم ترین منابع تأمین غذایی و دارویی بشر در طول تاریخ بوده است. استفاده از مواد ضدمیکروبی با پایه گیاهی می تواند در کنترل بیماری های انسانی نقش با ارزشی ایفا نماید. در همین راستا، در مطالعه اخیر به بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره گشنیز بر سه گونه باکتری پاتوژن انسانی پرداخته شد. نتایج نشان می‌دهد که از لحاظ حساسیت به عصاره های آبی و اتانولی گیاه گشنیز در باکتری های مورد مطالعه اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد وجود دارد. به عبارت دیگر بیش ترین حساسیت در باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و کم‌ترین حساسیت در باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* مشاهده شد. همانگونه که در جدول ۱، مشاهده می شود عصاره آبی گشنیز بر *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر بود، اما نتوانست به طور کامل از رشد این گونه باکتریایی بر محیط کشت جلوگیری نمود، این در حالی است که عصاره آبی گشنیز فاقد اثر ضد میکروبی مشخص بر روی دو گونه باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* بود. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گشنیز در روش تمام ظرف به طور کامل از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جلوگیری نمود در مورد باکتری *اشرشیا کلی* عصاره اتانولی موثر واقع شده بود اما نتوانست به طور کامل از رشد آن بر محیط کشت جلوگیری نماید نهایتا در این غلظت نتوانست از رشد باکتری گرم منفی باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* جلوگیری کند و این باکتری در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر به طور کامل بر روی محیط کشت رشد نموده بود. برومند و همکاران (۲۰۰۸) اثر ضد میکروبی اسانس بذر های گشنیز و شوید بر تعدادی از باکتری های بیماری زا و عامل عفونت و مسمومیت را در شرایط آزمایشگاهی با روش حساسیت رقت در محیط مایع مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققین نشان داد *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس ترین و سالمونلا تیفی موریو م مقاوم ترین گونه باکتری بود (۱۴)، نتایج مطالعه حاضر هم نشان داد که بیشترتن حساسیت در باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و کم‌ترین حساسیت در باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* مشاهده شد

نتایج این مطالعه نشان داد که تغییر نوع حلال باعث افزایش ۲ درصدی وزن خشک عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی گشنیز شده است. تحقیقات مشابه ای در این زمینه بر تعدادی از گیاهان دارویی نیز انجام شده که تئوری ذکر شده را تایید می کند. به عنوان مثال پیرنیا و همکاران (۱۳۹۳) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی میوه سپستان را بر تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی عامل عفونت و مسمومیت در شرایط برون تنی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که افزایش فعالیت ضد میکروبی میوه سپستان رابطه مستقیمی با نوع حلال دارد، این پژوهشگران گزارش دادند که عصاره های اتانولی میوه سپستان نسبت به عصاره های آبی دارای اثر ضد میکروبی بر سویه های مورد بررسی داشت (۱۵). کاشانی و همکاران (۱۳۹۳) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی میوه در خت کاج تهران را بر تعدادی از باکتری ها و قارچ های بیماری زا را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران در تایید نتایج این مطالعه بود به نحوی که عصاره اتانولی میوه درخت کاج تهران دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به آب بود (۱۶).

نتایج نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد عصاره های آبی و اتانولی گشنیز در غلظت ۸۰mg/ml مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین قطر هاله در این غلظت مربوط به باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* بود. در مقایسه دو به دو میان غلظت‌های عصاره آبی گشنیز بر *سودوموناس ائروژینوزا* نیز اختلاف میانگین قطر بازدارندگی مشاهده شد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی در تمامی غلظت‌ها روی استافیلوکوکوس اورئوس و *اشرشیا کلی* موثر بوده اما در غلظت mg/ml ۵ روی *سودوموناس ائروژینوزا* اثر بازدارندگی نشان نداد. همچنین مشاهد شد به جز درغلظت‌های ۴۰ با ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی بر روی *سودوموناس ائروژینوزا* در بقیه موارد اختلاف میانگین قطر عدم رشد (به صورت دو به دو) با هم معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲).

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره های آبی و اتانولی گشنیز اثر ضد میکروبی مناسبی بر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی دارد، به نحوی که این اثر در

مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بالاترین و در مورد باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* کمترین می باشد تفاوتی که در مورد ساختار باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی وجود دارد باعث شده که اثر ضد میکروبی در مورد عصاره های آبی و اتانولی گیاه خرفه در سطح احتمال $p<0/05$ معنی دار باشد. طباطبایی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی گیاه بیلهر (کندل کوهی) را بر گونه های عامل عفونت و مسمومیت غذایی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی بیلهر بر باکتری های گرم مثبت بیشتر می باشد (۱۷). در تحقیق مشابه علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی مورد را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابه با این مطالعه دست یافتند (۱۸).

حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره اتانولی برای باکتری-های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب* ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۶/۲۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی گشنیز دارای اثر ضد میکروبی کم تری بود، بنحوی که حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گشنیز برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب* ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC نیز در خصوص آن‌ها به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. طباطبایی یزدی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد میکروبی عصاره میوه ازگیل را بر باکتری های *لیستریا اینوکوا، انتروباکتر ائروژینوزا* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* را با آنتی بیوتیک های رایج درمانی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره میوه ازگیل به خوبی از رشد باکتری های مذکور جلوگیری نموده است، و کم ترین غلظت بازدارندگی برای باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* و معادل ۴ میلی گرم بر میلی لیتر و برای باکتری انتروباکتر ائروژینوزا ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد (۱۹). در تحقیقی مشابه علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۵) عصاره *Mangle negro* بر را بر تعدادی از باکتری های خانواده باسیلاسه و انتروباکتریاسه در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابه دست یافتند (۲۰). الغونه و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی مرزه بختیاری را در شرایط محیط کشت و ماده غذایی سوسیس فرانکفورتر با استفاده از سیستم های هوشمند مورد بر باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* مورد بررسی قرار دادند، نتایج این محققان نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی مرزه بختیاری نسبت به عصاره آبی کم تر بوده در غلظت کم تری نسبت به عصاره آبی اثر کشندگی مشاهده شد (۲۱). نتایج این مطالعات ذکر شده در بالا همپوشانی بسیار خوبی با مطالعه حاضر داشت.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که گیاه گشنیز فعالیت ضد میکروبی مناسبی بر باکتری های عامل عفونت دارد و می توان از این گیاه در جهت مقابله با بیماریهای عفونی استفاده نمود. پیشنهاد می‌شود در ادامه، مطالعات وسیع‌تری در زمینه اثر ضد میکروبی سایر عصاره های گشنیز بر روی طیف بیشتری از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط برون تنی انجام گیرد و بعد از شناسایی ترکیبات موثر ضد میکروبی و از آنجا که گیاه گشنیز به عنوان یک گیاه خوردنی رایج و متداول است تحقیقات به صورت درون تنی نیز انجام پذیرد تا شاهد اقدامی شگرف در بهبود بیماری‌های مربوط به باکتری‌های بیماری زا انجام شود.

REFERENCES

1- Wong PY, Kitts DD. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (Petroselinum crispum) and cilantro (Coriandrum sativum) extracts. Food chemistry. 2006;97(3):505-15.

2- Matasyoh J, Maiyo Z, Ngure R, Chepkorir R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Coriandrum sativum. Food chemistry. 2009; 113(2):526-9.

3- Saeed S, Tariq P. Antibacterial activities of Emblica officinalis and Coriandrum sativum against Gram negative urinary pathogens. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 2007; 20(1):32-5.

4- Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F, Shahidi F, Riazi F. Antifungal Effect of the Aqueous and Ethanolic Avicennia marina Extracts on Alternaria citri and Penicillium digitatum. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2015.

5- Doyle MP, Beuchat LR, Montville T, edithors. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington: ASM Press: 2001; 24-6.

6- Barrick, J. E., Yu, D. S., Yoon, S. H., Jeong, H., Oh, T. K., Schneider, D., Kim, J. F. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli*. Nature, 2009; 461(7268): 1243-7.

7- Vali L, Davies SE, Lai LL, Dave J, Amyes SG. Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of chlorhexidine exposure on clinical methicillin- resistant Staphylococcus aureus isolates. Jo Antimicrob Chemother 2008; 61: 524- 32.

8- Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM, Vasiee A. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". Journal of Paramedical Sciences 2013; 4(3): 89-99.

9- Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus "in vitro". Inter Agro Plant Produc 2013; 4(7): 1652-8.

10- Pirnia M, Edalatian Dovom MR, Tabatabaee Yazdi F, Shahidi F. The antibacterial effects of the aqueous and ethanolic extracts of Cordia myxa L. Fruit on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli, and Salmonella typhi. Qom Univ Med Sci J 2015;9(4):39-48

11- Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, A., Koocheki, A., Afsharian, S., & Alizadeh Behbahani, B. Antimicrobial properties of plant extracts of *Thymus vulgaris* L., *Ziziphora tenuior* L. and *Mentha Spicata* L., against important foodborne pathogens in vitro. Sci J Microbiol 2013; 2(2): 23-30.

12- Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser KHC. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry. 2007; 100(2): 553-9.

13- Vasiee A, Zanganeh H, Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F. The in vitro investigating of Antimicrobial Effect of *Portulaca oleracea* Extract on Infectious Microorganisms. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 19(66): 37-43.

14- Borumand A, Hamedi M, Emam Jomea Z, Razavi H, Gholmakani MT. Investigation on the antimicrobial effects of essential oils from dill and coriander seeds on Staphylococcus aureus, Escherichia coli O 157:H7 an *Salmonella typhimurium*. J Iran Food Sci Technol Res J. 2008; 4(1): 1-10.

15- Pirnia M. Survey antimicrobial activity of Cordia myxa aqueous and ethanol extracts on infectious and food poisoning microorganisms. MSc Thesis. 2014. Ferdowsi University of Mashhad.

16- Kashani H. Comparison of aqueous and ethanol extract of Pinus elderica fruit by Maceration and ultrasonic and Study of antimicrobial effects against infection and food poisoning microorganisms. MSc Thesis. 2014. Ferdowsi University of Mashhad.

17- Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Mortazavi SA, Yazdi FT. An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of Dorema aucheri (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. Journal of Paramedical Sciences. 2015;6(1): 58-64.

18- Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F, Noorbakhsh H, Riazi F, Jajarmi A, Tabatabaei-Yazdi F. Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of Myrtus communis on pathogenic strains causing infection. 2015.

19- Tabatabaei-Yazdi F, Alizadeh-Behbahani B, Zanganeh H. The Comparison among Antibacterial Activity of Mespilus germanica Extracts and Number of Common Therapeutic Antibiotics “In Vitro”. 2015.

20- Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F. In vitro Study of Antibacterial Activity of Mangle negro Extracts against Selected Pathogens from Enterobacteriaceae and Bacillaceae Familia. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2015.

21- Alghooneh A, Alizadeh-Behbahani B, Noorbakhsh H, Tabatabaei-Yazdi F. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing Satureja bachtiarica extracts. Microbial pathogenesis. 2015; 85:58-65.