# مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه قاصدک ( *Taraxacum pseudocalocephalum*) با آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط برون تنی

**فخری شهیدی* [1]، فریده طباطبایی یزدی[1]، سحر روشنک[2]، بهروز علیزاده بهبهانی[3]، علیرضا وسیعی[2]، ندا نوروزی[2]**

1ـ استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
2ـ دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
3ـ استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** fshahidi@um.ac.ir

دریافت مقاله: مهر نود و هفت پذیرش برای چاپ: آذر نود و هفت

## چکیده

***سابقه و هدف:*** *قاصدک با نام علمی Taraxacum pseudocalocephalum متعلق به خانواده Asteraceae می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه قاصدک، بر کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوآ، اشرشیا کلی ، سالمونلا تیفی و سودوموناس آئروژینوزا و مقایسه آن با تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط برون تنی بود.*

***روش کار:*** *در این پژوهش آزمایشگاهی، از روش ماسراسیون (خیساندن) جهت استخراج عصاره برگ گیاه قاصدک استفاده شد. فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ قاصدک به روش‌های دیسک دیفیوژن، انتشار چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی (میکرودایلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت.*

***یافته‌ها:*** *نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برگ قاصدک برای میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوآ، سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر با 128، 128،256، 256، 256 و 512 بود. مقاوم ترین سویه نسبت به عصاره آبی برگ گیاه قاصدک باکتری گرم منفی سودوموناس ائروژینوزا بود. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد در روش چاهک در آگار نسبت به روش دیسک دیفیوژن بیشتر بوده و سویه‌ها در غلظت‌های کم‌تری هاله بزرگتری را نشان دادند.*

***نتیجه‌گیری:*** *به طور کلی می‌توان بیان نمود که عصاره آبی برگ قاصدک بر باکتری‌های گرم مثبت و مخمر کاندیدا آلبیکنس اثر ضد میکروبی بیشتری را نسبت به سویه‌های گرم منفی از خود نشان داد. با توجه به نتایج این مطالعه، پژوهش‌های بیشتری در زمینه ترکیبات ضد میکروبی گیاه قاصدک پیشنهاد می‌گردد تا بتوان از این گیاه در درمان بیماری‌های عفونی بهره جست.*

***واژگان کلیدی: عصاره، برگ قاصدک، میکروارگانیسم‌های بیماری زا، آنتی بیوتیک، اثر ضد میکروبی.***

**مقدمه**

در حال حاضر بیماری‌های ناشی از عفونت و مسمومیت غذایی تعداد کثیری از انسان‌ها را در سرتاسر جهان درگیر ساخته است، به طوری که برآوردهای انجام شده در کشورهای توسعه یافته نشان می‌دهد که سالانه 30 ٪ جمعیت آن کشورها حداقل یک بار توسط بیماری‌های ناشی از عفونت و مسمومیت غذایی بیمار می‌گردند(1و2). میکروارگانیسم‌های بیماری زا با تغییر نفوذپذیری دیواره، تغییر گیرنده در سطح سلول، دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی و تولید آنزیم‌های تخریب کننده نسبت به داروهای ضدمیکروبی و آنتی بیوتیک-های رایج درمانی مقاوم می‌شوند(3). لذا با توجه به مقاومت روز افزون سویه های میکروبی نسبت به داروهای به کار گرفته شده جهت کنترل و درمان بیماری‌ها یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید با کم ترین اثر جانبی امری لازم و ضروری به نظر می رسد.

با توجه به جایگاه و اهمیتی که داروهای گیاهی در طب سنتی داشته و همچنین استفاده از گیاهان دارویی در درمان

بیماری‌های عفونی از زمان‌های قدیم تا به امروز، جلوگیری و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری زا توسط این گیاهان به خوبی شناخته شده است. با وجود تنوع بسیار زیاد گیاهان دارویی در سطح جهان، پژوهش‌های فروانی همچنان در سرتاسر دنیا جهت استفاده از این گیاهان جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی در حال انجام می‌باشد(4). هم اکنون مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری زا به یک مشکل بزرگ و تهدید کننده سلامت انسانی در دنیا تبدیل شده است. با توجه به علاقه و میل بشر جهت استفاده از ترکیبات طبیعی با کم ترین اثر جانبی و همچنین آگاهی بشر از عوارض استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان‌ها، گرایش برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی (اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی) روز به روز در حال افزایش می باشد(5). قاصدک با نام علمی *Taraxacum pseudocalocephalum* معروف به *dandelion*، یک گیاه چندساله علفی از خانواده کاسنیان (Asteraceae) است، که در سراسر جهان به ویژه در مناطق گرمسیری نیمکره شمالی کره زمین رشد می‌کند(6و7). قاصدک یک گیاه کاملا خوراکی است و برگ، ریشه و گل آن در محصولات غذایی مختلف استفاده می‌شوند. آنالیز محتوای تغذیه‌ای قاصدک نشان دهنده‌ی مقادیر بالایی از مواد معدنی، پروتئین، فیبر، ویتامین‌ها و یک ترکیب متعادل از عناصر کمیاب است. هرچند معمولا قاصدک به عنوان یک علف هرز در نظر گرفته شده است، اما این گیاه حاوی ترکیبات شیمیایی متعددی از جمله فلاوونوئیدها، اسیدهای فنولیک، آلکالوئید و ترپن‌ها است(7-9). بیش از 30 نوع ترکیب فنولیک از قاصدک شناسایی و جداسازی شده‌اند. فراوانترین ترکیات فنولیک در قاصدک شامل مشتقات اسید هیدروکسی‌سینامیک به خصوص اسید چیکوریک، اسید کلروژنیک و اسید کافئیک می‌باشد. ترکیباتی از جمله لوتئولین-7-O-گلوکوزید، لوتئولین-7-دی‌گلوکوزیدها و لوتئولین نیز در عصاره‌های برگ و گل قاصدک به میزان زیاد وجود دارند(6). قاصدک به عنوان یک گیاه دارویی برای کاهش علائمی مانند ورم مفاصل و بیماری‌های کبدی، و برای سرکوب استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود. مقایسه ترکیبات تغذیه‌ای قاصدک با کاهو و اسفناج، به عنوان سبزی‌هایی با مصرف مشابه، مقدار بالاتری از فیبر رژیمی، پروتئین، انواع بیشتری از اسیدهای آمینه و بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی را نشان داد(7-9). قاصدک شامل 1/5 ٪ چربی (وزن کل) بوده، نسبت بالاتری از اسیدهای چرب اشباع نشده (اولئیک، لینولئیک و لینولنیک اسید) را نسبت به کاهو و اسفناج دارا می باشد. همچنین یکی از غنی ترین منابع سبز گیاهی از بتا کاروتن است(7).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه قاصدک، بر *کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوآ، اشرشیا کلی ، سالمونلا تیفی و سودوموناس آئروژینوزا* توسط روش‌های متنوع کیفی و کمی ضد میکروبی بوده و در نهایت اثر ضد میکروبی عصاره برگ قاصدک با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی تتراساکلین، ونکومایسین، کانامایسین، آمفی‌تریسین B و نیستاتین مقایسه شود.

## روش کار

این پژوهش آزمایشگاهی، از فروردین ماه 1396 تا فروردین ماه 1397 در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. برگ گیاه قاصدک در ابتدای دوره رویشی (فروردین ماه) از سطح فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد (مشهد، خراسان رضوی) جمع آوری شد. برگ‌های قاصدک جمع آوری شده با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد و جناب آقای مهندس جوهرچی طی نامه به شماره (147 ه) شناسایی و تعیین جنس و گونه شدند.نمونه‌های برگ گیاه قاصدک پس از تمیز کردن و عمل شست و شوی سطحی در سایه و در دمای اتاق (25 درجه سانتی گراد) خشک گردید. پس از خشک شدن برگ های گیاه قاصدک، برگ‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل Waring پودر شد. جهت استخراج عصاره از برگ گیاه قاصدک از روش خیساندن در حلال استفاده شد. از آب مقطر به عنوان حلال جهت استخراج هر چه بهتر عصاره از برگ گیاه قاصدک استفاده شد. جهت استخراج عصاره آبی، از پودر گیاه برگ قاصدک، به نسبت 1 به 5 با آب مقطر مخلوط شده و به مدت 72 ساعت در دستگاه شیکر جهت اختلاط هرچه بهتر حلال و گیاه استفاده شد. مخلوط حلال و گیاه بعد از 72 ساعت، توسط تور پارچه ای تمیز و کاغذ صافی، صاف شده و پس از خروج حلال، تا انجام آزمون‌های ضد میکروبی، در میکروتیوب های استریل 15 میلی متری که دور آن ها جهت جلوگیری از

رسیدن نور به عصاره‌ها توسط فویل آلومینیومی پوشیده شده در دمای یخچال نگهداری شد(10). لازم به ذکر می‌باشد جهت استریل کردن عصاره‌ها جهت انجام آزمون‌های ضد میکروبی از فیلتر سر سرنگی با قطر 0/45 میکرونی استفاده شد. راندمان عصاره‌دهی بر اساس وزنی/ وزنی محاسبه گردید.
سویه های میکروبی شامل *کاندیدا آلبیکانس* PTCC 5027 ، *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC *1337* ، *اشرشیا کلی* ATCC 25922 ، *باسیلوس سرئوس* PTCC 1247 ، *لیستریا اینوکوآ* ATCC 33090 ، *سالمونلا تیفی* PTCC 1609 و *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC 1707 از کلکسیون میکروبی واقع در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. قبل از انجام آزمون‌های ضد میکروبی از سویه های میکروبی کشت 24 ساعت برای باکتری‌ها و کشت 72 ساعت برای سویه قارچی تهیه شد(11). برای استاندارد نمودن سویه‌های میکروبی از استاندارد نیم مک فارلند مطابق بر دستورالعمل تهیه آن که معادل $1/5\times 10^8$ CFU/ml میکروارگانیسم بود، استفاده شد.

اثر ضد میکروبی عصاره برگ قاصدک به روش‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC یا MFC)، دیسک آگار دیفیوژن و چاهک آگار دیفیوژن بررسی شد. در روش MIC ابتدا غلظت512 میلی-گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ قاصدک با استفاده از محیط مولرهینتون براث برای باکتری‌ها و محیط سابروز دکستروز براث برای قارچ‌ها، تهیه شد، سپس این محلول با عبور دادن از فیلتر 0/45 استریل شده و رقت‌های متوالی 1، 2، 4، 8، 16، 32، 64، 128 و 256 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ازآن تهیه گردید. 100 میکرولیتر از هر رقت به همراه 10 میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (معادل با نیم مک فارلند) درون پلیت-های 96 خانه‌ای ریخته شده و به مدت 24 ساعت در دمای بهینه (برای باکتری‌ها 37 درجه سانتی‌گراد و برای قارچ‌ها 27 درجه سانتی‌گراد)، گرمخانه گذاری شد. رشد میکروبی با افزودن معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید با غلظت 5 میلی-گرم بر میلی‌لیتر، گرمخانه‌گذاری مجدد و بررسی ایجاد رنگ قرمز بررسی شد(12). اولین غلظتی که در آن رشد میکروارگانیسم روی نداد و رنگ قرمز رویت نگردید به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد.

از خانه هایی که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد جهت تعیین MBC یا MFC استفاده گردید؛ به این صورت که از این خانه‌ها 10 میکرولیتر بر محیط کشت مولر هینتون آگار( برای باکتری‌ها) و سابروز دکستروز آگار برای قارچ‌ها، کشت داده شد و پس از گرمخانه‌گذاری در دمای بهینه، غلظت‌هایی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین شد(13).

برای انجام آزمون‌های دیسک آگار دیفیوژن و چاهک آگار دیفیوژن غلظت‌های 100، 200، 300 و 400 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ قاصدک تهیه و پس از استریل شدن با فیلتر سر سرنگی 0/45 میکرونی مورد استفاده قرار گرفتند. طبق روش دیسک آگار دیفیوژن دیسک‌های کاغذی با قطر6 میلی متر به غلظت‌های تهیه شده از عصاره آغشته و روی سطح محیط کشت تازه‌ای (محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و سابروز دکستروز آگار برای قارچ‌ها )که قبلا 10 میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به روش کشت سطحی روی آن پخش شده بود، با فواصل مناسبی که مانع تداخل هاله شود؛ قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای بهینه (برای باکتری‌ها 37 درجه سانتی‌گراد و برای قارچ‌ها 27 درجه‌سانتی‌گراد)، گرمخانه‌گذاری شدند. ازدیسک فاقد عصاره به عنوان کنترل استفاده گردید(14-16).

در روش چاهک آگار دیفیوژن، 60 میکرولیتر از رقت‌های فوق‌الذکر درون چاهک‌های ایجاد شده با قطر 6 میلی‌متری روی محیط کشت تازه‌ای (محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و سابروز دکستروز آگار برای قارچ‌ها) که قبلا 10 میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به روش کشت سطحی روی آن پخش شده بود، ریخته شد و پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای بهینه (برای باکتری‌ها 37 درجه سانتی‌گراد و برای قارچ‌ها 27 درجه‌سانتی‌گراد)، گرمخانه‌گذاری شدند(17). پس از گرمخانه‌گذاری قطر هاله‌ها با خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌لیتر گزارش گردید.

برای مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره برگ قاصدک از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های تتراساکلین، ونکومایسین، کانامایسین، آمفی-تریسین B و نیستاتین استفاده شد. روش مورد استفاده مانند روش دیسک آگار دیفیوژن بود با این تفاوت که به جای دیسک‌های آغشته به عصاره از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی استفاده شد.

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار یا بیشتر انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 18 انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد.

**یافته‌ها**

بررسی گونه گیاهی به کار رفته در این پژوهش نشان داد که متعلق به گونه *Taraxacum pseudocalocephalum* بود. بازده عصاره آبی برگ گیاه قاصدک برابر با 26/52 درصد (وزنی- وزنی) بود. نتایج حاصل از آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ گیاه قاصدک در جدول 1 و 2، نشان داده شده است.

**جدول 1- حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه**

| عصاره | سویه های میکروبی | غلظت (میلی گرم/ میلی‌لیتر) | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | کنترل |
| آبی | *استافیلوکوکوس اورئوس* | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *باسیلوس سرئوس* | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *لیستریا اینوکوآ* | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *سالمونلا تیفی* | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *سودوموناس آئروژینوزا* | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *اشرشیا کلی* | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| آبی | *کاندیدا آلبیکنس* | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - |

**جدول 2- نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه**

| سویه های میکروبی | حداقل غلظت کشندگی |
|---|---|
| *استافیلوکوکوس اورئوس* | 256 |
| *باسیلوس سرئوس* | 256 |
| *لیستریا اینوکوآ* | 256 |
| *سالمونلا تیفی* | 512 |
| *سودوموناس آئروژینوزا* | 512 |
| *اشرشیا کلی* | 512 |
| *کاندیدا آلبیکنس* | 256 |

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی برگ گیاه قاصدک به روش انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن) در جدول 3، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اثر عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و در غلظت 400 میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت 100 میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* بود.

**جدول 3- میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت های مختلف عصاره آبی برگ گیاه قاصدک به روش دیسک دیفیوژن بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بر حسب میلی متر**

| سویه های میکروبی | 100 mg/ml | 200 mg/ml | 300 mg/ml | 400 mg/ml |
|---|---|---|---|---|
| *استافیلوکوکوس اورئوس* | 8/00±0/50$^{a}$ | 10/10±0/55$^{b}$ | 12/50±0/28$^{c}$ | 17/10±0/50$^{d}$ |
| *باسیلوس سرئوس* | 7/00±0/50$^{a}$ | 9/20±0/50$^{b}$ | 10/10±0/50$^{b}$ | 13/00±0/50$^{c}$ |
| *لیستریا اینوکوآ* | 7/30±0/50$^{a}$ | 10/00±0/55$^{b}$ | 12/10±0/50$^{c}$ | 14/80±0/50$^{d}$ |
| *سالمونلا تیفی* | - | 7/00±0/50$^{a}$ | 9/10±0/50$^{b}$ | 10/10±0/52$^{b}$ |
| *سودوموناس آئروژینوزا* | - | - | - | 8/00±0/50$^{a}$ |
| *اشرشیا کلی* | - | - | 7/20±0/50$^{a}$ | 9/00±0/52$^{b}$ |
| *کاندیدا آلبیکنس* | 7/00±0/50$^{a}$ | 8/10±0/50$^{a}$ | 10/20±0/45$^{b}$ | 12/00±0/50$^{c}$ |

- حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری 5 درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ قاصدک است.
- حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری 5 درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ قاصدک است.
- ( ـ ) نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی برگ گیاه قاصدک می‌باشد.

نتایج آزمون چاهک آگار برای سویه های مورد بررسی در این پژوهش در جدول 4، آورده شده است. نتایج هاله بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی تتراساکلین، ونکومایسین، و نیستاتین بر میکروارگانیسم-Bکانامایسین، آمفی‌تریسین های مورد بررسی در جدول 5، آورده شده است

**جدول 4- میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت های مختلف عصاره آبی برگ گیاه قاصدک به روش چاهک آگار بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بر حسب میلی متر**

| سویه های میکروبی | 100 mg/ml | 200 mg/ml | 300 mg/ml | 400 mg/ml |
|---|---|---|---|---|
| *استافیلوکوکوس اورئوس* | 10/00±0/50[a] | 14/20±0/55[b] | 16/00±0/50[c] | 18/00±0/50[d] |
| *باسیلوس سرئوس* | 9/00±0/50[a] | 12/30±0/55[b] | 14/40±0/50[c] | 15/00±0/50[c] |
| *لیستریا اینوکوآ* | 8/20±0/50[a] | 11/10±0/50[b] | 14/00±0/50[c] | 17/00±0/50[d] |
| *سالمونلا تیفی* | - | 7/10±0/50[a] | 10/00±0/50[b] | 12/20±0/55[c] |
| *سودوموناس آئروژینوزا* | - | - | 7/00±0/50[a] | 9/00±0/50[b] |
| *اشرشیا کلی* | - | 7/00±0/50[a] | 10/20±0/50[b] | 12/00±0/50[c] |
| *کاندیدا آلبیکنس* | 8/00±0/55[a] | 14/20±0/45[b] | 16/00±0/45[c] | 17/30±0/50[c] |

- حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری 5 درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ قاصدک است.
- حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری 5 درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ قاصدک است.
- ( ـ ) نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی برگ گیاه قاصدک می‌باشد.

**جدول 5- میانگین قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های تتراساکلین، ونکومایسین، کانامایسین، آمفی‌تریسین B و نیستاتین بر میکروارگانیسم-های مورد مطالعه بر حسب میلی متر**

| سویه های میکروبی | Tet | Kan | Van | Amph B | Nys |
|---|---|---|---|---|---|
| *استافیلوکوکوس اورئوس* | 11/00±0/50 | 9/20±0/50 | - | انجام نشد | انجام نشد |
| *باسیلوس سرئوس* | 20/00±0/45 | 22/20±0/50 | 24/00±0/45 | انجام نشد | انجام نشد |
| *لیستریا اینوکوآ* | 20/00±0/55 | 21/20±0/50 | 22/00±0/50 | انجام نشد | انجام نشد |
| *سالمونلا تیفی* | 20/00±0/50 | 19/10±0/50 | 18/00±0/50 | انجام نشد | انجام نشد |
| *سودوموناس آئروژینوزا* | 11/00±0/45 | - | - | انجام نشد | انجام نشد |
| *اشرشیا کلی* | 13/00±0/50 | 10/20±0/50 | - | انجام نشد | انجام نشد |
| *کاندیدا آلبیکنس* | انجام نشد | انجام نشد | انجام نشد | 20/20±0/50 | 18/00±0/45 |

- ( ـ ) نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدمیکروبی آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی می باشد.
- Tet: تتراساکلین؛ Kan: کانامایسین؛ Van: ونکومایسین؛ Amph B: آمفی‌تریسین B؛ Nys: نیستاتین.

**بحث**

*استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس* حساس‌ترین سویه مورد بررسی نسبت به عصاره آبی برگ گیاه قاصدک، در این پژوهش بود. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برگ قاصدک برای میکروارگانیسم‌های *کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوآ، سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب برابر با 128، 128،256، 256، 256، 256 و 512 بود. به طور کلی می توان بیان کرد که عصاره آبی برگ قاصدک بر باکتری های گرم مثبت و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* اثر ضد میکروبی بیشتری را نسبت به سویه های گرم منفی از خود نشان داد. مقاوم ترین سویه نسبت به عصاره آبی برگ گیاه قاصدک باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* بود. حداقل غلظت کشندگی برای هر یک از سویه های میکروبی مورد بررسی در این پژوهش برابر یا بزرگتر از حداقل غلظت مهارکنندگی می باشد. حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی

برگ گیاه قاصدک برای هر یک از سویه های *کاندیدا آلبیکانس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوآ، سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب برابر با 256، 256، 256، 256، 512، 512 و 512 بود. عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر باکتری‌های گرم مثبت موثرتر از باکتری‌های گرم منفی بود که این نتیجه می‌تواند به علت تفاوت ساختار دیواره باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و وجود لایه‌های بیشتر در دیواره باکتری‌های گرم منفی باشد که مانع نفوذ عصاره و تاثیر آن بر باکتری می-شود(18). سهیل و همکاران (2014)، اثر ضد باکتریایی عصاره آبی برگ گیاه قاصدک را بر سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ، *اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس* و *میکروکوکوس لتوس* بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های مورد بررسی30 میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. نتایج آنالیز ترکیبات فیتوشیمیایی وجود متابولیت ثانویه از قبیل آلکالوئیدها، تانن‌ها و فلاونوئیدها را نشان داد، که این ترکیبات ممکن است باعث اثر ضد میکروبی عصاره آبی برگ قاصدک باشد(19). هان و همکاران (2010)، اثر مهارکنندگی عصاره آبی قاصدک را بر همانندسازی و فعالیت ترانس کریپتازی معکوس ویروسHIV-1 بررسی کردند و گزارش دادند در مقایسه با نمونه کنترل، سطح هر دو متغیر بررسی شده، کاهش یافت(20).

ه طور کلی نتایج نشان داد که عصاره آبی برگ گیاه قاصدک دارای اثر ضد میکروبی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوآ*) می باشد.

مقایسه دو به دو میان غلظت‌های عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت در غلظت‌های مختلف (100، 200، 300 و 400 میلی گرم بر میلی لیتر) نشان داد به طور کلی اختلاف معنی داری بین غلظت ها وجود دارد و با افزایش غلظت عصاره آبی برگ گیاه قاصدک قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) افزایش یافت، اما همانگونه که در جدول 3، مشخص است بین غلظت های 200 و 300 میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* اختلاف معنی داری در سطح 5 درصد مشاهده نشد. نتایج آزمون‌های آماری نشان داد بین غلظت‌های 300 و 400 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی برگ گیاه قاصدک بر باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* اختلاف معنی داری وجود ندارد. نتایج نشان داد برای سویه مخمری *کاندیدا آلبیکنس* بین غلظت های 100 و 200 میلی گرم بر میلی لیتر اختلاف معنی داری در سطح 5 درصد وجود ندارد، اما در سایر غلظت ها اختلاف معنی دار مشاهده شد. زو همکاران (2016)، عصاره قاصدک را در برابر گونه‌های واکنش گر اکسیداتیو و التهابی در سلول‌های اپیتلیال روده بررسی کردند. آن‌ها مشاهده کردند برگ قاصدک بالاترین محتوای فنولیک و فلاونوئیدی، و ریشه کمترین محتوا را داشت. در تمام قسمت‌های قاصدک اسید شیکوریک Chicoric acidبالاترین ترکیب فلاوونوئیدی اندازه‌گیری شده با HPLC بود. ویژگی‌های سلامت‌زایی قاصدک بیشتر مربوط به ویژگی‌های به دام انداختن رادیکال‌های واکنش‌گر فعال اکسیژنReactive Oxygen Species و شیکوریک اسید بود(9). وانگ و همکاران (2013)، عصاره استخراجی با کمک سلولاز و فعالیت ضد باکتریایی پلی ساکارید محلول در آب حاصل از گیاه قاصدک (*Taraxacum officinal*) را بررسی کردند. بازده پلی ساکارید استخراجی 20/67 ٪ (w/w)، مقدار قند 95/6 ٪ (w/w) بود و اثر ضد باکتریایی در غلظت 100 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در برابر *اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نشان داد. این نتایج نشان داد که این پلی ساکارید ممکن است قابل استفاده به عنوان نگهدارنده مواد غذایی باشد(21). شانگیتا و همکاران (2016)، فعالیت ضد باکتریایی قاصدک را در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای دهان و دندان در شرایط آزمایشگاهی *in vitro* بررسی کردند. آن‌ها اثر ضد باکتریایی قاصدک را به دو روش MIC وMBC در رابطه با سویه‌های ایزوله شده‌ی باکتریایی شامل *انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سالیواریوس* و *باسیلوس اسیدوفیلوس* بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که قاصدک اثر ضد باکتریایی بر باکتری‌های مورد ارزیابی داشت. این گیاه به طور خاص، حساسیت بالایی نسبت به باکتری‌های ایجاد کننده پوسیدگی نشان داد(22). یو و همکاران (2010) اثر محافظت کبدی عصاره آبی به دست آمده از ریشه قاصدک (*Taraxacum officinale*) را در محیط *in vivo* و *in vitro* بر استرس‌های اکسیداتیو ایجاد شده با الکل، بررسی کردند(23).

نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد در روش چاهک در آگار نسبت به روش دیسک دیفیوژن بیشتر بوده و سویه‌های در غلظت های کم‌تری هاله بزرگتری را نشان دادند. شاید بتوان دلیل هاله بیشتر در روش چاهک در آگار را به تماس مستقیم عصاره آبی برگ گیاه قاصدک با سویه های عامل عفونت و مسمومیت مرتبط دانست، همچنین در روش دیسک دیفیوژن لازم است ماده ضد میکروبی از دیسک به سطح محیط کشت انتقال یابد که عواملی مانند دما، زمان و ... می توانند در رهایش ماده ضد میکروب (عصاره آبی برگ گیاه قاصدک) موثر باشد. به طور کلی نتایج نشان داد که بیشترین حساسیت در روش چاهک در آگار برای سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد به طوری که در غلظت 400 میلی گرم بر میلی لیتر قطر هاله عدم رشد برابر با 18 میلی متر بود. کم ترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* مشاهده شد. به طور کلی مقایسه میانگین داده های حاصل از هاله عدم رشد عصاره آبی گیاه قاصد به روش چاهک در آگار نشان داد در غلظت‌های مورد بررسی به جز غلظت‌های 300 و 400 میلی گرم بر میلی لیتر برای *باسیلوس سرئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* در سایر غلظت ها تفاوت معنی داری در سطح 5 درصد مشاهده شد(جدول 4).

داواتسرن و همکارن (2013)، عصاره برگ قاصدک را در کم کردن کبد چرب غیر الکلی ایجاد شده با رژیم غذایی پر چربی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره برگ قاصدک می‌تواند یک رویکرد امیدوارکننده در در پیشگیری و درمان بیماری کبد چرب غیر الکلی مرتبط با چاقی باشد(24). عبدانی پور و همکاران (2015)، تاثیر عصاره هیدروالکلی گل قاصدک بر روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی موش صحرایی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که در حضور عصاره گل قاصدک تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و بیان ژن Sox2 به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت و با توجه به تاثیر عصاره گل قاصدک بر روند تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی، استفاده از این عصاره گیاهی می‌تواند جهت مقاصد کلینیکی به منظور درمان برخی از بیماری‌های سیستم عصبی از جمله ایسکمی مغزی و ضایعات نخاعی مفید باشد(25). کیوآن و همکاران (2014)، فعالیت ضدباکتریایی الیگوساکاریدهای مشتق شده از قاصدک را مورد ارزیابی قرار دادند. این ترکیبات فعالیت ضد باکتریایی زیادی را در برابر *اشرشیا کلی* ، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نشان دادند که می‌تواند تصدیقی باشد بر قابلیت استفاده از این گیاه به عنوان یک ترکیب ضد باکتری(26). نظری و همکاران (1392)، استخراج و شناسایی ترکیبات مؤثر عصاره هیدروالکلی قاصدک و اثر محافظتی آن بر مسمومیت کلیوی ناشی از استامینوفن در موش صحرایی نر را بررسی کردند. آن-ها نشان دادند که عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه *Taraxacum syriacum Boiss* در مسمومیت کلیوی ناشی از استامینوفن در موش صحرایی نر تا حدودی اثر محافظتی دارد که به نظر می‌رسد در این میان نقش ترکیبات فنولی از جمله کارواکرول آن حائز اهمیت است(27).

## نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، به طور کلی عصاره برگ گیاه قاصدک در شرایط برون تنی "*in vitro*" قابلیت ضد میکروبی قابل ملاحظه ای روی سویه‌های مورد مطالعه، به خصوص باکتری های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوآ*) و سویه قارچی *کاندیدا آلبیکنس* داشت. در ادامه لازم است مطالعات گسترده تری در شرایط "*in vivo*" انجام شود تا عواملی همچون دوز موثر این عصاره بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا تعیین شود. با توجه به نتایج این مطالعه، پژوهش‌های بیشتری در زمینه ترکیبات ضد میکروبی گیاه قاصدک پیشنهاد می‌گردد تا بتوان از این گیاه در درمان بیماری‌های عفونی بهره جست.

## تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد 2/44260 در دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

## REFERENCES

1. Cao, L., et al., Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of Mosla chinensis Maxim. Food Chemistry, 2009. **115**(3): p. 801-805.
2. Pérez-Pérez C., R.-G.C., Rodríguez-Rodríguez C. A. Barbosa-Rodríguez J. R. and Villaseñor-Ortega F., Incorporation of antimicrobial agents in food packaging films and coatings. Advances in Agricultural and Food Biotechnology, 2006. **2**(37/661): p. 193-216.
3. Khan, U.A., et al., Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. European Journal of Microbiology & Immunology, 2013. **3**(4): p. 272-274.
4. O. O. Igbinosa, E.O.I.a.O.A.A., Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from Jatropha curcas (Linn). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009. **3**(2): p. 58-62.
5. Pruneda, E., et al., Water Vapor Permeability, Mechanical Properties and Antioxidant Effect of Mexican Oregano–Soy Based Edible Films. Journal of Food Science, 2008. **73**(6): p. C488-C493.
6. Sadeghi, N.E.K., R; Raftani Amiri, Z, Effect of Supercritical Fluid on the Antioxidant Properties of Dandelion Leaf Extract. food processing and production, 1394. **5**(2): p. 23-30.
7. González-Castejón, M., F. Visioli, and A. Rodriguez-Casado, Diverse biological activities of dandelion. Nutrition Reviews, 2012. **70**(9): p. 534-547.
8. Schütz, K., R. Carle, and A. Schieber, Taraxacum—A review on its phytochemical and pharmacological profile. Journal of Ethnopharmacology, 2006. **107**(3): p. 313-323.
9. Xue, Y., et al., Dandelion extract suppresses reactive oxidative species and inflammasome in intestinal epithelial cells. Journal of Functional Foods, 2017. **29**: p. 10-18.
10. van Riel, N.A.W., Dynamic modelling and analysis of biochemical networks: mechanism-based models and model-based experiments. Briefings in Bioinformatics, 2006. **7**(4): p. 364-374.
11. GD, G., Neural networks :An introductory guide for social scientists. 1998: Sage.
12. Tepe, B., et al., Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia tomentosa Miller (Lamiaceae). Food Chemistry, 2005. **90**(3): p. 333-340.
13. Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Clinical Microbiology and Infection, 2000. **6**(9): p. 503-50.8
14. Espinel-Ingroff A, F.A., Peter J, Rinaldi M, Walsh T, Testing Conditions for Determination of Minimum Fungicidal Concentrations of New and Established Antifungal Agents for Aspergillus spp.: NCCLS Collaborative Study. Journal of Clinical Microbiology, 2002. **40**(9): p. 3204-3208.
15. Golshani, Z.D., V, In vitro antimicrobial effect of Rosmarinus officinalis leaf extract against some pathogens. Arak University of Medical Sciences Journal, 2013. **16**(77): p. 82-89.
16. Awoyinka OA, B.I., Ogunnowo AA, Phytochemical screening and in vitro bioactivity of Cnidoscolus aconitifolius (Euphorbiaceae). Journal of Medical Plants Research, 2007. **1**(3): p. 63-65.
17. Buzón-Durán, L., R. Capita, and C. Alonso-Calleja, Antibiotic susceptibility of methicillin-resistant staphylococci (MRS) of food origin: A comparison of agar disc diffusion method and a commercially available miniaturized test. Food Microbiology, 2018. **72**: p. 220-224.
18. Behrooz Alizadeh Behbahani , F.T.Y., Hamid Noorbakhsh , Fatemeh Riazi , Amir Jajarmi and Forouzan Tabatabaei Yazdi Study of the Antibacterial Activity of Methanolic and Aqueous Extracts of Myrtus communis on Pathogenic Strains Causing Infection. Zahedan J of Res in Med Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences, 201 :(2)18 .6p. 1-7.
19. Sohail, Z.I., Muhammad Afzal, Aftab Afzal, Inayat Ur Rahman, Salma shad, Bilal Ahmed, Naveed Anjum, Kalsoom Qureshi, Afsana Bibi, In vitro antibacterial study of Taraxacum officinale leaves extracts against different bacterial pathogenic strains. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2014. **3**(2): p. 15-17.

20. Huamin Han, W.H., Wei Wang and Bin Gao, Inhibitory effect of aqueous dandelion extract on HIV-1 replication and reverse transcriptase activity. Complementary and Alternative Medicine, 2010. **11**.(112)
21. Wang, H.-B., Cellulase-assisted extraction and antibacterial activity of polysaccharides from the dandelion Taraxacum officinale. Carbohydrate Polymers, 2014. **103**: p. 140-142.
22. Shankar Sangeetha, D.E., In vitro Antimicrobial Activity of Dandelion Against Orodental Pathogens. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2016. **8**(10): p. 1598-1600.
23. You, Y., et al., In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from Taraxacum officinale (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. Food and Chemical Toxicology, 2010. **48**(6): p. 1632-1637.
24. Davaatseren, M., et al., Taraxacum official (dandelion) leaf extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. Food and Chemical Toxicology, 2013. **58**: p. 30-36.
25. Abdanipour AR, K.S., Sagha M, Salimi Nanehkaran F, Naghizadeh D, Bonabi R, Investigating the effect of Cirsium vulgare hydroethanolic extract on neural stem cells proliferation. Journal of Cell & Tissue, 2015. **5**(4): p. 385-391.
26. Qian, L., et al., Preparation and antibacterial activity of oligosaccharides derived from dandelion. International Journal of Biological Macromolecules, 2014. **64**: p. 392-394.
27. Nazari, a., et al., The identification of chemical compounds of Taraxacum Syriacum Boiss (Gasedak) and assessing its extract effect on Acetaminophen induced nephro-toxicity in rat. scientific magazine yafte, 2013. **15**(2): p. 15-24.