مقایسه اثر Descurainia Sophia و Myrtus Communis بر سویه های باکتریایی و قارچی جدا شده از عفونت های ادراری

منیر السادات سید صالحی[۱]، میترا صالحی*[۲] ، فریبا شریف نیا [۳]

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
***نشانی برای مکاتبه:**mitra_salehi_microbiology@yahoo.com تلفن: ۰۲۱۲۲۹۴۹۷۹۴

دریافت مقاله: آذر نود ونه پذیرش برای چاپ: بهمن نود و نه

چکیده

سابقه و هدف: در بسیاری از مطالعات از گیاهان دارویی جهت درمان عفونت‌های میکروبی استفاده می‌شود. گیاه مورد (Myrtus communis) جزء خانواده Myrtaceae و گیاه خاکشیر(Descurainia Sophia) از اعضای خانواده Brassicaceae می‌باشند. گیاه خاکشیر و مورد به علت وجود ترکیبات شیمیایی مختلف دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشند. از این رو هدف از این مطالعه بررسی مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان مورد و خاکشیر بر روی عوامل باکتریایی و قارچی عفونت دستگاه ادراری می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه عصاره‌های اتانولی و متانولی مورد و خاکشیر با روش خیساندن تهیه شد، اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان بر روی ۴ سویه گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس، باسیلوس سرئوس و ۶ سویه گرم منفی شامل اشریشیا کلی، سراشیا مارسیسنس، شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیه، سالمونلا تیفی‌موریوم، سودوموناس آئروژینوزا و قارچ کاندیدا آلبیکنس، با روش‌های چاهک‌گذاری و دیسک‌گذاری مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به روش تهیه رقت در لوله تعیین گردید.

یافته ها:کمترین مقدار MIC و MBC برای مورد، مربوط به باسیلوس سرئوس(۰/۹۷ mg/ml) و بیشترین مقدار مربوط به انتروکوکوس فکالیس و شیگلا فلکسنری (۶۲/۵ mg/ml) بود.

نتیجه گیری: عصاره‌های اتانولی و متانولی مورد بر میکروارگانیسم‌ها اثر آنتی میکروبیال داشت اما عصاره های خاکشیر هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی نداشت. بیشترین تأثیر ضد میکروبی گیاه مورد بر روی باکتری‌های گرم مثبت بود و تنها سویه گرم منفی حساس شیگلا فلکسنری بود. مخمر کاندیدا آلبیکنس در برابر تاثیر عصاره‌ها مقاومت نشان داد.

واژگان کلیدی: **خاکشیر، مورد، عفونت دستگاه ادراری**

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع ترین عفونت های بالینی باکتریایی در زنان است ، نزدیک به ۲۵٪ از کل عفونت ها محسوب می گردد. حدود ۵۰-۶۰٪ از زنان تجربه یک عفونت دستگاه ادراری در طول زندگی خود دارند. برآورد تعداد عفونت ادراری هر نفر در سال ۰/۵ در زنان جوان است. عود معمولا در عرض سه ماه از عفونت اصلی رخ می دهد و ۸۰ درصد ازعفونت دستگاه ادراری ها برگشت پذیر هستند(۱).

میکروارگانیسم هایی که باعث عفونت دستگاه ادراری می شوند در اکثر موارد نسبت به عفونت پراکنده مشابه هستند، بیشتر فلور رکتال پس از کلونیزاسیون در منطقه اطراف مجرای ادراری و مجرای ادرار از مثانه صعود می کنند(۲). از بیماران دارای عفونت مجاری ادراری سویه‌های اشریشیا کلی، کلبسیلا، استافیلوکوکوس، انترباکتر، پروتئوس، سودوموناس و انترکوکسی اغلب جدا می گردد(۳).

به علت مقاومت بسیاری از باکتری ها در برابر عوامل ضد میکروبی، مواد پاک کننده، مواد ضد عفونی کننده نیاز به توسعه عوامل ضد میکروبی و آنتی بیوتیک جایگزین برای مبارزه با مشکل مقاومت میکروارگانیسم احساس می شود. روغن های ضروری و برخی از اجزای گیاهان توسط خواص ضد میکروبی خود شناخته شده اند(۴). اخیرا صنعت داروسازی از بسیاری از گیاهان به عنوان اساس محصولاتشان استفاده می کنند ۵). بسیاری از روغن ها یا عصاره های گیاهان دارویی اخیرا به عنوان عوامل اساسی برای درمان و

پیشگیری از بیماری های عفونی گوناگون و پاتوژن های انسانی به طور کامل بررسی شده اند. در میان این گیاهان دارویی، خاکشیر با توجه به فعالیت ضد میکروبی آنتوجه زیادی را جلب کرده است(۶). خاکشیر همچنین در طب عامیانه ایران یکی از گیاهان دارویی با استفاده رایج است(۷).

Myrtus Communis شناخته شده به عنوان مورد سبز، یکی از گونه های معطر و دارویی مهم از خانوادهMytaseae است. مورد توسط شاخه های آن، که به صورت سر متراکم محصوری را شکل می دهد، به طور انبوهی با برگ های همیشه سبز تخم مرغی یا نیزه ای پوشیده می شود. برگ های خشک شده این گیاه حاوی ترکیبات سینئول، لینالول، لینالیل استات، ترپینئول، ترپینئولن، تانن و فلاونوئیدها می باشد(۸). در مورد خواص آنتی میکروبیال (ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی) و آنتی اکسیدانی ترکیبات تولید شده توسط این گیاه در مطالعات بسیاری وجود دارد(۹-۱۴). اسانس برگ آن به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده و دزانفکتانت مفید است و در برخی از بیماری های تنفسی و مثانه استفاده می شود و همچنین کاربرد موضعی در بیماری روماتیسم دارد(۱۵). خاکشیر با نام علمی Descurainia sophia متعلق به خانواده cruciferae است. برخی از خواص آن عبارتند از تقویت معده، تمیز کردن صدا، پاکسازی پوست، اشتها آور، درمان سرخک و مخملک(۱۶). عصاره روغنی خاکشیر شامل اسیدهای چرب اولئیک اسید، اورئیک اسید، لینولنیک اسید، لینولنیک اسید،پالمتیک اسید، استئاریک اسید و روغن های فرار خاکشیر شامل بنزیل، آلیل، پروپنیل ایزوتیوسیانات و آلیل دی سولفید است(۱۷).

به دلیل مشکلات مربوط به استفاده از آنتی بیوتیک های متعارف، از جمله مقاومت ضد میکروبی، مشکلات زیست محیطی ، سرطان زایی ، عوارض جانبی و هزینه های بالا، گرایش به جایگزین آنتی بیوتیکهای ساختگی با عوامل جایگزین طبیعی را تقویت کرده اند اثرات ضد میکروبی عصاره های اتانولی و متانولی حاصل از دو گیاه مورد و خاکشیر بر روی تعدادی از میکروارگانیسم های باکتریایی و قارچی عامل عفونت ادراری بررسی شد.

روش کار

نمونه‌های ادرار مربوط به بیماران مبتلا به عفونت های دستگاه ادراری از بیمارستان‌های سطح شهر تهران جمع آوری و با شرایط استریل به آزمایشگاه ارسال شدند. در این بررسی سویه های ایزوله شده شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس و باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی، سراشیا مارسیسنس، شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیه، سالمونلا تیفی-موریوم و سودوموناس آئروژینوزا و قارچ کاندیدا آلبیکنس بودند. به منظور شناسایی نمونه ها از آزمون های بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم استفاده گردید(۱۸). برای نگهداری سویه‌های باکتری از محیط کشت نوترینت آگار و BHI آگار(Merck Germany) و برای کاندیدا آلبیکنس از محیط کشت سابورو دکستروز (Merck Germany) استفاده شد.

نمونه‌های گیاهی تهیه شده در محل مناسبی با تهویه کافی و دور از نور مستقیم آفتاب و به صورت غیر متراکم خشک گردید. سپس به قطعات بسیار ریز جهت عمل عصاره‌گیری آسیاب شد. برای عصاره-گیری از روش ماسراسیون یا خیساندن با استفاده از دو حلال متانولی و اتانولی انجام شد. برای تهیه هر یک از عصاره‌های متانولی و اتانولی، دو بار، هر بار ۱۰۰ g از پودر دانه خاکشیر و ۷۵ g از پودر برگ مورد را وزن کرده و داخل دو ارلن شیشه‌ای استریل مجزا ریخته و درون بن‌ماری در دمای ۹۰ °C به مدت سه روز، هر روز به مدت ۱ ساعت برای از بین رفتن آلودگی‌های گیاه قرار داده شد و عمل عصاره‌گیری طی ۳-۴ مرحله انجام شد. درون یکی از ارلن‌های حاوی پودر مورد،۵۲۰ ml اتانول ۹۶٪ طی ۴ مرحله ریخته شد. درون ارلن دیگر حاوی پودر مورد ۳۷۰ ml متانول خالص طی ۳ مرحله و درون هر ارلن حاوی پودر خاکشیر، ۲۵۰ ml از حلال های مورد نظر طی ۲ مرحله ریخته شد. در هر مرحله ارلن‌های حاوی پودر مورد و خاکشیر را درون یخچال گذاشته و پس از ۴۸ ساعت با استفاده از یک قیف شیشه‌ای استریل با قرار دادن کاغذ صافی درون آن، ترکیبات حل شده ماده گیاهی درون بشر استریل ریخته شد. بعد از حذف حلال‌ها، عصاره حاوی حلال را به ظروف کوچکی که قبلا با حلال مربوطه عصاره شسته و خشک شده است منتقل نموده و به صورت در باز در فور ۴۵ °C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا حلال باقی مانده تبخیر شده و عصاره تقریبا خشک بدست آید و ظروف جهت نگهداری به یخچال منتقل شدند.

برای بررسی خاصیت آنتی‌میکروبیال دو عصاره اتانولی و متانولی گیاهان خاکشیر و مورد به روش‌های چاهک‌گذاری، دیسک گذاری و روش تهیه رقت در لوله به صورت ماکرودیلوشن انجام شد. عصاره‌ها با غلظت های سریال ۵۰۰ mg/ml، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ با حلال مربوطه آنها تهیه و داخل لوله‌های سرپوش‌دار استریل نگهداری شدند. در روش چاهک گذاری با استفاده از پیپت پاستور استریل در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شده با باکتری، چاهک ایجاد شد و سپس با سمپلر به میزان ۲۰ µl از غلظت‌های مختلف عصاره تهیه شده در چاهک ایجاد شده در پلیت ریخته و پلیت برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ °C نگهداری و پس از آن هاله عدم رشد باکتری با خط کش میلی‌متری اندازه گیری شد. در روش دیسک گذاری، دیسک‌های استریل شده با مایع مورد نظر آغشته شدند و با فاصله بر روی پلیت کشت داده شده با باکتری قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ °C، قطر منطقه ممانعت از رشد اندازه گیری شد. در روش سنجش حساسیت به روش ماکرودیلوشن براث، سری ۱۳ تایی از لوله‌های حاوی ۱ ml

محیط مولر هینتون براث استریل تهیه شد. سپس از تمام غلظت های عصاره گیاه با پیپت استریل، ml ۱ برداشته و در لوله‌ی اول ریخته شد. پس از مخلوط کردن کامل، ml ۱ از آن را در لوله‌ی دوم و به ترتیب تا لوله‌ی دوازدهم ریخته و از لوله‌ی ml،۱۲ ۱ برداشته و دور ریخته شد. لوله‌ی ۱۳، شاهد مثبت و فاقد ماده‌ی ضد میکروبی بود. بدین ترتیب لوله‌های اول تا دوازدهم دارای غلظت‌های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶ و غیره بودند. سپس سوسپانسیون با کدورت ۰/۵ مک فارلند باکتری ها به هر یک از لوله‌ها اضافه شد و بر روی آن ها µl ۱۰۰ (ml ۰/۱) با سمپلر عصاره ریخته شد. به استثنای لوله ۱۲ که شاهد منفی و فاقد میکروب بود. سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت، اولین لوله‌ای شفافی که لوله های بعد از آن داری کدورت بودند به عنوان MIC در نظر گرفته شد. جهت بدست آوردن MBC، از لوله MIC و لوله‌های قبل و بعد از آن بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد. پلیتی که در آن عدم رشد مشاهده شد به عنوان MBC گزارش گردید.

یافته ها

قطر هاله های عدم رشد تشکیل شده با غلظت های mg/ml ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ عصاره های اتانولی و متانولی به روش دیسک و چاهک در جدول ۱ و ۲ نشان داده شد. قطر هاله های تشکیل شده برای هر دو عصاره مورد تقریباً به یک اندازه بوده و میانگین قطر هاله های تشکیل شده در روش چاهک گذاری بیشتر از میانگین قطر هاله ها در روش انتشار دیسک می باشد. در آزمایش های انجام شده مبنی بر مقایسه اثر آنتی میکروبیال عصاره های مورد و خاکشیر، عصاره های متانولی و اتانولی حاصل از گیاه خاکشیر، هیچگونه هاله عدم رشدی در اطراف چاهک ها و دیسک ها ایجاد ننمودند و قادر به مهار رشد یا کشتن میکروارگانیسم های مذکور نبودند. عصاره متانولی و اتانولی حاصل از گیاه مورد، بر روی سویه های گرم مثبت جدا شده از عفونت ادراری نسبت به سویه های گرم منفی اثر مهارکنندگی بیشتری را نشان داد.

جدول۱- تاثیر عصاره های اتانولی و متانولی گیاه مورد بر باکتری های مختلف به روش انتشار از دیسک

میکروارگانیسم ها	عصاره متانولی				عصاره اتانولی			
	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۲۵	۳۰	۲۶	۲۷	۲۵	۲۵	۲۶	۲۸
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۳	۳۴	۳۴	۳۵	۳۰	۳۵	۳۴	۳۴
باسیلوس سرئوس	۲۵	۲۴	۲۵	۲۳	۲۵	۲۵	۲۴	۲۳
انتروکوکوس فکالیس	۲۱	۲۴	۲۲	۲۴	۲۱	۲۵	۲۷	۲۵
اشریشیا کلی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
شیگلا فلکسنری	۱۰	۱۶	۱۷	۱۹	۱۰	۱۱	۱۷	۱۹
سالمونلا تیفی موریوم	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلبسیلا پنومونیه	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سراشیا مارسیسنس	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سودوموناس آئروژینوزا	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کاندیدا آلبیکنس	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

جدول۲- تاثیر عصاره های اتانولی و متانولی گیاه مورد بر باکتری های مختلف به روش انتشار از چاهک

میکروارگانیسم ها	عصاره متانولی				عصاره اتانولی			
	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۵	۱۷	۱۸	۲۰	۱۶	۱۷	۱۸	۲۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۰	۲۴	۲۵	۲۶	۲۰	۲۴	۲۵	۲۵
باسیلوس سرئوس	۱۴	۱۷	۱۸	۱۹	۱۴	۱۸	۱۸	۱۹
انتروکوکوس فکالیس	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۵	۱۴	۱۶	۱۷
اشریشیا کلی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
شیگلا فلکسنری	۷	۸	۱۰	۱۳	۱۰	۱۳	۱۵	۱۷
سالمونلا تیفی موریوم	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلبسیلا پنومونیه	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سراشیا مارسیسنس	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سودوموناس آئروژینوزا	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کاندیدا آلبیکنس	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

بعد از تهیه رقت های متوالی، از رقیق ترین غلظت تشکیل دهنده هاله در روش چاهک و دیسک گذاری، میزان رشد باکتری ها در محیط کشت مایع (مولر هینتون براث) در حضور رقت های ۵۰۰mg/ml، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ مورد بررسی قرار گرفت(جدول ۳ و ۴).

جدول ۳- (MIC) و (MBC) میلی گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه مورد

شیگلا فلکسنری	*باسیلوس سرئوس*	*انتروکوکوس فکالیس*	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*باکتری ها*
					MIC/MBC
۶۲/۵	۰/۹۷	۶۲/۵	۳/۹	۳/۹	MIC
۶۲/۵	۰/۹۷	۶۲/۵	۳/۹	۳/۹	MBC

جدول ۴ - (MIC) و (MBC) میلی گرم بر میلی لیتر عصاره متانولی گیاه مورد

شیگلا فلکسنری	*باسیلوس سرئوس*	*انتروکوکوس فکالیس*	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*باکتری ها*
					MIC/MBC
۳/۹	۰/۹۷	۰	۱/۹۵	۳/۹	MIC
۳/۹	۰/۹۷	۰	۱/۹۵	۷/۸۱	MBC

بحث

در این تحقیق با توجه به افزایش مقاومت میکروارگانیسم ها به مواد ضد میکروبی فرضیه اثر ضد میکروبی عصاره های اتانولی و متانولی گیاهان خاکشیر و مورد بر روی میکروارگانیسم های جدا شده از عفونت ادراری بررسی شد. کاهش رقت‌های عصاره به ترتیب ۵۰۰ mg/ml، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ نسبت مستقیمی با کاهش قطر هاله‌های عدم رشد نشان داده است. عدم تأثیر عصاره‌ها بر باکتری‌های اشریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا در تحقیق حاضر با نتایج طاهری و همکاران مطابقت داشت. در بررسی آنها عصاره هیدروالکلی برگ مورد بر روی سودوموناس هیچگونه اثری نشان نداد و فقط در بالاترین غلظت تأثیر اندکی بر اشریشیا کلی نشان داد(۱۹).Alem اثر عصاره مورد بر روی سودوموناس آئروژینوزا با MIC ۲۰mg/L نشان داد(۲۰) که با نتایج حاضر مغایرت دارد، در مطالعات انجام شده توسط منصوری و همکاران در بررسی اثر ضد میکروبی مورد بر روی باکتری سودوموناس ائروژینوزا مشاهده شد که عصاره آن دارای بیشترین اثر بر روی سویه های باکتری با MIC بیشتر از ۱۰۰۰ µg/ml می باشد (۲۱). در مطالعه Al-Saimary و همکاران هنگامی که عصاره آبی برگ M.communis در برابر ۱۵۰ سویه جدا شده از سوختگی (سودوموناس آئروژینوزا استافیلوکوکوس اورئوس) آزمایش کردند یک اثر بسیار عالی در رشد باکتری نشان داد و تاثیرات در محدوده تاثیرات آنتی بیوتیک می باشد. (۲۲). اثر عصاره مورد بر روی سودوموناس آئروژینوزا در مطالعات بسیاری ذکر شده است(۲۳،۲۴).

در این تحقیق عصاره‌های حاصله از برگ مورد هیچگونه اثر ضد میکروبی علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس نداشته که با نتایج مطالعات Gortzi و همکاران مغایرت(۲۵) اما با نتایج Mert و همکاران مطابقت دارد (۲۶). طبق نتایج بدست آمده باکتری اشریشیا کلی نسبت به عصاره های مورد مقاوم بوده که با نتایج غلامحسینیان مغایرت دارد، در بررسی آنها MIC عصاره گیاه مورد ۱۲/۵ mg/ml برای سویه استاندارد اشریشیا کلی (K12HB101) بود(۲۷) در مطالعات دیگر عدم تاثیر عصاره مورد بر روی اشریشیا کلی را نشان دادند(۲۸،۲۹). بر اساس گزارشی از قاسمی پیر بلوطی و همکاران MBC عصاره متانولی برای اشریشیا کلی ۱۰ mg/ml بود(۲۳،۲۴).

در این مطالعه قوی ترین فعالیت عصاره اتانولی مورد(۰/۹۷mg/ml MIC) بر علیه باسیلوس سرئوس بود. کمترین میزان

MIC و MBC برای عصاره اتانولی و متانولی مربوط به باسیلوس سرئوس (۰/۹۷ mg/ml) می باشد و بیشترین مقدار MIC و MBC برای عصاره اتانولی مربوط به باکتری انتروکوکوس فکالیس و شیگلا فلکسنری (۶۲/۵ mg/ml) می‌باشد. اما برای عصاره متانولی مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، مقدار MIC (۳/۹ mg/ml) و MBC (۷/۸۱ mg/ml) بدست آمده برابر نبوده است. اثر آنتی میکروبیال عصاره مورد بر روی استافیلوکوکوس اورئوس با مطالعه Salvagnini مطابقت داشت (۲۹). افزایش رادیکال های آزاد علت تاثیر آنتی میکروبیال عصاره های برگ مورد بر روی استافیلوکوکوس اورئوس است(۳۰). فعالیت های ضد باکتری بالایی از عصاره متانولی، اتانولی و اتیل استاتی برگ و توت Myrtle هنگامی که آن در برابر پاتوژن غذازاد آزمایش شد مشاهده شد. عصاره متانولی برگ مورد فعالیت ضد باکتری حتی در برابر لیستریا مونوسایتوژنز، سودوموناس آئروژینوزا نشان داد، اما هیچ کدام از عصاره ها بر اشریشیا کلی K12 فعال نبود. قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی در استافیلوکوکوس اورئوس ۳۷ ml و MBC کمتر از mg/ml ۰/۰۷۵ گزارش شده است (۲۸). در تحقیق حاضر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس در حدود ۳۴ ml در غلظت ۵۰۰ mg/ml(بیشترین غلظت عصاره) و MBC برای آن ۳/۹ mg/ml بود. فعالیت عصاره متانولی در مطالعات محققان دیگر، مانند Gortzi و همکاران تایید شده است(۲۵). یک باکتری گرم مثبت حساس تر از باکتری گرم منفی به عصاره مورد است(۳۳،۳۲،۳۱). این فرض با توجه به مطالعات بسیاری از محققین اثبات می گردد برای مثال با توجه به مطالعه ای از Alem، حداقل غلظت باکتریوسیدال از مورد برای بیشتر میکروارگانیسم های مورد آزمایش شبیه به حداقل غلظت بازدارندگی بود. برای مثال ۰/۵ mg/ml برای استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۵ mg/ml برای کلبسیلا و سالمونلا تیفی، ۲۰ mg/ml برای سودوموناس آئروژینوزا و MBC مورد برای شیگلا و اشریشیا کلی ۴۰ mg/ml و ۴۵ mg/ml از کشت ها بود(۲۰). با توجه به مطالعه ای از Bonjar، حداقل MIC، ۰/۶۲ mg/ml از دانه مورد در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس مشاهده شد(۳۴). در مطالعه یادگارینیا و همکاران نشان داده شد که عصاره مورد فعالیت های ضد میکروبی بسیاری در برابر اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس دارد(۳۵). مطالعه غلامحسینیان نشان داد که MIC عصاره اتیل استات مورد بر استافیلوکوکوس اورئوس ۵ mg/ml است(۲۷). منصوری و همکاران نیز اثرات ضد میکروبی چندین عصاره و روغن اسانس مورد را ثابت و نیز فعالیت های متفاوت به علت وجود ترکیبات تشکیل دهنده مختلف آن را تخمین زده اند. عصاره خام مورد در برابر ۶ باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس لوتئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، استرپتوکوکوس پیوژنز، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و لیستریا مونوسیتوژنز) و ۴ باکتری گرم منفی (اشریشیا کلی، پروتئوس ولگاریس، سودوموناس آئروژینوزا و کمپیلوباکتر ژژونی) مورد آزمایش قرار گرفت و مهار رشد همه باکتری ها به جز کمپیلوباکتر ژژونی را نشان داد. دامنه MIC از ۰/۱ برای استافیلوکوکوس و میکروکوکوس تا بیش از mg/ml ۲ برای اشریشیا کلی متغیر است. آنها عصاره دی اتیل اتر، اتیل استات و هیدروالکلی را تهیه کردند. عصاره بخش دی اتیل اتر بالاترین سطح فعالیت با MIC mg/ml ۰/۰۲۵ برای استافیلوکوکوس و میکروکوکوس و mg/ml ۰/۱ برای اشریشیا و سودوموناس را نشان داد(۲۱). در مطالعه ی Ghnayaقوی ترین فعالیت بر علیه اشریشیا کلی ATCC10536 با هاله عدم رشد mm ۱۵ برای روغن اسانس جمعیت مورد Algerian ، در حالی که برای جمعیت مورد Tunisian استافیلوکوکوس اورئوسATCC 6538 با هاله عدم رشد mm ۲۲ ثبت شد(۳۶). بر اساس نتایج قاسمی پیر بلوطی و همکاران باکتری گرم منفی اشریشیا کلی (O157: H7) مقاوم تر از باکتری های گرم مثبت لیستریا مونوسیتوژنز و باسیلوس سرئوس بود. mg/ml ۱۰ غلظتMIC بود که ممانعت کننده رشد باکتری های گرم مثبت و مخمر بود. همه باکتری ها و قارچ ها در برابر فعالیت آنتی میکروبیال بیشتر عصاره ها حساسیت نسبتا بالا داشتند(۲۳). Cos و همکاران گزارش دادند باکتری های گرم منفی در مقایسه با گرم مثبت ها مقاوم تر هستند(۳۷). عصاره مورد شامل ترکیبات پلی فنلیک - اسیدهای فنلیک، تانن و فلاونوئیدها است که فعالیت ضدمیکروبی متفاوتی دارند. برخی از نتایج نشان داده اند که ترکیبات پلی فنلیک به طور قابل توجهی به فعالیت ضد باکتری کمک می کنند. Shan و همکاران اثبات کردند باکتری های گرم مثبت (لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) تاثیر پذیری بیشتری به عصاره مورد آزمایش شده نسبت به گرم منفی ها (اشریشیا کلی و سالمونلا آناتوم) نشان دادند. استافیلوکوکوس اورئوس حساس ترین، در حالی که اشریشیا

کلی مقاوم ترین بودند. کاندیدا آلبیکانس حساس تر از باکتری ها در روش سریال رقت بود. (۳۸). یک توضیح احتمالی برای این نتایج در تفاوت زیاد در لایه های خارجی باکتری های گرم منفی و گرم مثبت استوار است. باکتری های گرم منفی شامل غشاء بیرونی و یک فضای پری پلاسمیک منحصر به فرد هستند که در باکتری های گرم مثبت موجود نمی باشد(۳۹). در مطالعه قاسمی پیر بلوطی حساس ترین باکتری ها در مقابل فعالیت اسانس مورد لیستریا مونوسیتوژنز و کاندیدا آلبیکانس بود. در مطالعه وی، عصاره ها و اسانس تاثیر بیشتری بر روی باکتری های گرم مثبت و مخمر نسبت به باکتری های گرم منفی داشتند(۲۳) که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. گیاه مورد رشد کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا لیپولیکا، پروتئوس ولگاریس، استافیلوکوکوس اورئوس را سرکوب می کند(۴۰). تفاوت در حالت عمل در فعالیت عصاره ها و روغن های اسانس شرکت می کند. به علت تنوع در میزان و پروفیل شیمیایی روغن های اسانس و اجزای عصاره ها، این احتمال وجود دارد که فعالیت ضد میکروبی ناشی از تنها یک مکانیسم نباشد. نشان داده شده که این اجزاء، سایت های کنش متفاوتی در سطح سلولی دارند. به طور کلی ۶ مکانیسم برای فعالیت ضد میکروبی ممکن است که شامل: (۱) فروپاشی غشای سیتوپلاسمی، (۲) واکنش با پروتئین های غشایی (پروتئین ATPases و بقیه)، (۳) اختلال در غشای خارجی باکتری های گرم منفی با انتشار لیپوپلی ساکارید، (۴) بی ثباتی پمپ محرک پروتون با نشت یون، (۵) انعقاد محتوای سلول و (۶) ممانعت از سنتز آنزیم(۲۸، ۴۵-۴۱).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر عصاره‌های اتانولی و متانولی دانه گیاه خاکشیر بر خلاف عصاره‌های مورد، هیچ گونه اثر مهارکنندگی در هیچ یک از غلظت‌های عصاره بر روی پاتوژن-ها نداشته و هاله عدم رشدی در اطراف چاهک‌ها و دیسک‌ها ایجاد ننمود که نتایج حاصل با مطالعات شاهنده و همکاران که عصاره‌های هیدروالکلی دانه خاکشیر را بر روی سویه‌های استاندارد اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، اثر باکتریوسیدی و یا باکتریوستاتیکی نداشته مطابقت می-کند(۴۶). در عصاره هیدرو الکلی دانه خاکشیر ترکیبات آنتی میکروبیال در مجاورت ترکیبات بدون اثر آنتی میکروبیال بوده و ممکن است بر روی یکدیگر دارای اثر ممانعت کنندگی دارویی باشند(۴۸،۴۷). به علت جدا نکردن ترکیبات ضد باکتریایی اثر ضد میکروبی (باکتریوسید و باکتریوستاتیک) از عصاره مشاهده نگردید. در مطالعه ای توسط آقاعباسی و همکاران عصاره اتانولی خاکشیر می تواند اثر باکتریوستاتیک بر روی رشد باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز در محیط کشت داشته باشد(۴۹). در یک مطالعه انجام شده توسط Abachi و همکاران، اثر ۱۰ عصاره گیاه ایران مانند خاکشیر بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مورد بررسی قرار گرفت. همه ده عصاره گیاهی با نسبت های مختلف در مهار باکتری ها موثر بودند. این باکتری ها به آنتی بیوتیک وانکومایسین مقاوم بودند(۵۰). Lin و همکاران در مورد اثرات ضد میکروبی آلیل ایزوتیوسیانات از cruciferae بر اشریشیا کلی (K-12)، سالمونلا مونته ویدئو و لیستریا مونوسیتوژنز نشان دادند، اثر باکتری کش عصاره آبی این ترکیب و فرم بخار آن شبیه به پلی میکسینB معرفی شدند(۵۱).

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارشناسان آزمایشگاه محمودیه به ویژه خانم مظهر به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

REFERENCES

1. Al-Badr A, Al-Shaikh Gh. Recurrent Urinary Tract Infections Management in Women. Sultan Qaboos Univ Med J.2013; 13(3): 359-367.

2. Schaeffer AJ, Jones JM, Dunn JK. Association of vitro Escherichia coli adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary tract infection. N Engl J Med 1981; 304(18):1062–6.

3. Amin M, Mehdinejad M, Pourdangchi Z. Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. Jundishapur J Microbiol. 2009; 2(3): 118-123.

4. Sadki M, Balouiri M, Barakai H, Maataoui H, Ibnsoud Koraichi S, Elabed S. Synergistic antiiribacterial effect of Myrtus communis and Thymus vulgaris essential oils fractional inhibitory concentration. Int J Pharm Pharm Sci. 2014; 6(6): 121-124.

5. Teimoory H, Azizi M, Najafi MF, Behzadi A, Rezaei M. Antibacterial activity of Myrtus communis Land Zingiber officinale rose extracts against some gram positive pathogens. Res Opin Anim. 2013; 3(12): 478-481.

6. Fani MM, Kohanteb J, Araghizadeh A. Inhibitory Activity of Myrtus communis Oil on Some Clinically Isolated Oral Pathogens. Med Princ Pract. 2014; 23(4): 363-8.

7. Zarshenas MM, Petramfar P, Firoozabadi A, Moein MR, Mohagheghzadeh, A. Types of headache and those remedies in traditional persian medicine. Pharmacogn Rev. 2013; 7(13): 17-26.

8. Chryssavgi G, Vassiliki P, Athanasios M, Kibouris T, Michael K. Essential oil compo-sition of Pistacia lentiscus L. and Myrtus communis L.: evaluation of antioxidantcapacity of methanolic extracts. Food Chem. 2008; 107(3):1120–30.

9. Pereira P, Cebola MJ, Bernardo-Gil MG. Comparison of antioxidant activity in extractsof Myrtus communis L., obtained by SFE vs. solvent extraction. J Environ Sci Eng. A. 2012; 1 (1A): 115–20.

10. Othman A, Ismail A, Ghani NA, Adenan I. Antioxidant capacity and phenolic contentof cocoa beans. Food Chem. 2007; 100 (4): 1523–30.

11. Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. The in vitro antibacterial activity of dietary spiceand medicinal herb extracts. Int J Food Microbiol. 2007; 117 (1): 112–9.

12. Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshoda T, Hatano T, Ito H, Harai Y. Antibac-terial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against Helicobacter pilori. Microbiol Immunol. 2004; 48 (4): 251–61.

13. Naserian R. Study of phyto chemical and antibacterial effect of Myrtus communis Persian (dissertation). Shiraz: Shiraz Medical University; 1997.

14. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Assessment of factors influencing antimi-crobial activity of carvacrol and cymene against Vibrio cholerae in food. J Biosci Bioeng. 2010; 110 (5): 614–9.

15. Sumbul S, Ahmad MA, Asif M, Akhtar M. Myrtus communis Linn. A review. Indian. J Nat Prod Resour. 2011; 2(4): 395-402.

16. Mirhidar H. Herbal education, plants used in the prevention and treatment of diseases. Tehran: Publ. Office. Islamic. Cult; 1996. In Persian.

17. Nimrouzi M, Zarshenas MM. Phytochemical and pharmacological aspects of Descurainia sophia (L.) Webb ex Prantl: modern and traditional applications. Avicenna. J Phytomed. 2015.

18. Washington W, Allen S, Janda W, Koneman. E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Press; 2002.

19. Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Antibacterial Effect of Myrtus Communis Hydro-Alcoholic Extract on Pathogenic Bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013; 15(6): 19-24.

20. Alem G, Mekonnen Y, Tiruneh M, Mulu A. In vitro antibacterial activity of crude preparation of myrtle (Myrtus communis) on common human pathogens. Ethiopian. Med. J. 2008; 46(1): 63-69.

21. Mansouri Sh, Safa A, Gholamhoseinian Najar S, Gholamhoseinian Najar A. Inhibitory activity of Iranian plant extracts on growth and biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa. Malays J Microbiol. 2013; 9(2): 176-183.

22. AL-Saimary IE, Bakr SS, Jaffar T, Al-Saimary AE, Salim H, Al-Muosawi R. Effects of some plant extracts and antibiotics on Pseudomonas aeruginosa isolated from various burn cases. Saudi Med J. 2002; 23(7): 802-5.

23. Ghasemi Pirbalouti A, Jahanbazi P, Enteshari Sh, Malekpoor F, Hamedi B. Antimicrobial Activity of Some Iranian

Medicinal Plants. Archives of Biological Science Belgrade. 2010; 62 (3): 633-642.

24. Rahim Z, Sanyal SC, Aziz KM. Isolation of enterotoxigenic, haemolytic and antibiotic resistant Aermonas hydrophila

strains from infected fish in Bangladesh. Appl Environ Microbiol. 1998; 48(4): 865-867.

25. Gortzi O, Lalas S, Chinou I, Tsaknis J. Reevaluation of bioactivity and antioxidantactivity of Myrtus communis extract before and after encapsulation in liposomes. Eur Food Res Technol. 2008; 226(3): 583–90.

26. Mert T, FafalA T, Kivcak B , Özturk HT. Antimicrobial and cytotoxic activities of Myrtus communis L. J Fac Pharm, Ankara. 2008; 37 (3): 191–199.

27.Gholamhoseinian A, Shakibaei M, Jamali Z. Mechanisem of Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Myrtus communis L. on E.coli K12 HB101. Journal of Rafsenjan University of Medical Sciences. 2005; 4(4): 220-7. In Persian.

28. Amensour M, Bouhdid S, Fernandez-Lopez J. Antibacterial activity of extracts of Myrtus communis against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. Int J Food Prop. 2010; 13(6): 1215-1224.

29. Salvagnini LE, Oliveira JRS, Dos-Santos LE. Avaliaçao da Atividade Antibacteriana de folhas de Myrtus communis L. (Myrtaceae). Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2008; 18(2): 241-244. Spanish.

30. Gholamhoseinian Najar A, Mansouri S, Rahighi S. Effects of sub-Inhibitory concentration of Myrtus communis Leave Extract on the Induction of free Radicals in Staphylococcus aureus; Apossible Mechanism for the Antibacterial Action. Asian J. Plant Sci. 2009; 8(8): 551-556.

31. Reynolds JEF. Martindale the extra harmacopoeia. 31th ed. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain; 1996.

32. Bezic N, Skocibusic M, Dinkic V, Radonic A. Composition and antimicrobial activity of Achillea clavennae L. essential oil. Phytother Res. 2003; 17(9): 1073- 1040.

33. Bajpai VK, Rahman A, Kang SC. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of

Nandina domestica thumb to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. Int J Food Microbiol. 2008; 125(2): 117-122.

34. Shahidi Bonjar GH. Antibacterial activity of plants used in Iranian herbal-medicine. Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2004; 2(1): 39- 52.

35. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian Mentha

piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry. 2006; 67(12): 1249-55.

36. Ghnaya AB, Chograni H, Messoud Ch, Boussaid M. Comparative Chemical Composition and Antibacterial Activities of Myrtus communis L. Essential Oils Isolated from Tunisian and Algerian Population. J Plant Pathol Microb 2013; 4:7.

37. Cos P, Vlietinck AJ, Vanden Berghe D, Maes L. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of concept'. J Ethnopharmacol. 2006; 106(3): 290–302.

38. Shan B, Cai Y, Brooks JD, Corke H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. Int J Food Microbiol. 2007; 117 (1): 112–119.

39. Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Int J Antimicrob Agents. 2001; 17 (6): 527–529.

40. Suliman RT. The Antibacterial Effect of Myrtus communis as Root Canal Irrigant: A comparative Study. Al–Rafidain Dent J. 2009; 9 (2): 289–296.

41. Cox SD, Mann CM, Markham JL. Interactions between components of the essentialoil of Melaleuca alternifolia. J Appl Microbiol. 2001; 91(3): 492–7

42. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – areview. Food Chem Toxicol. 2008; 46(2): 446–75.

43. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications infoods – a review. Int J Food Microbiol. 2004; 94 (3): 223–53.

44. Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, Edwards M, Ercolini D, Mauriello G. Membranetoxicity of antimicrobial compounds from essential oils. J Agric Food Chem. 2007; 55(12): 4863–70.

45. Hammer KA, Carson CF, Dunstan JA, Hale J, Lehmann H, Robinson CJ, Prescott SL, RileyTV. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of five Taxandria fragrans oilsin vitro. Microbiol Immunol. 2008; 52 (11): 522–30.

46. Sahandeh Z, Molana Z, Farzinvash T. Extraction and study of Descurainia Sophia extract on Inhibition of growth of E.Coli and Staphylococcus aureus. Journal of Babol University of Medical Sciences (JBUMS). 2006; 8(5): 26-30. In Persian.

47. Sun K, Li X, Liu JM, Wang JH, Li W, Sha Y. A novel sulphur glycoside from the seeds of Descurainia sophia. J Asian Nat Prod Res. 2005: 7(6): 853-6.

48. Ono H, Tesaki S, Tanabe S, Watanabe M. 6-methyl sulfinyl –hexyl isothiocyanate and its homologues as food– originated compounds with antibacterial activity against E.coli and S. aureus. Biosci Biotechnol Biochem.1998; 62(2): 363-5.

49. Aghaabbasi K, Dehghan E, Baghizadeh A, Dashti H. Comparing the Effect of Ethanol Extracts of Descurainia sophia (L.) Seed and Althaea officinalis Root on Streptococcus pyogenes. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013; 16 (10): 29-33.

50. Abachi S, Khademi F, Fatami H and Malekzadeh F. Study of antimicrobial activity of selected Iranian plant extracts on vancomycin resistant Staphylococcus epidermidis. J Med Dent Sci. 2013; 4(1): 59-63.

51. Lin CM, Preston JF, Wei CL. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. J Food Prot. 2000; 63(6): 727-34.