



In vitro Evaluation of antibacterial efficacy of aqueous extracts of Iranian Native Plants on the Standard Strains of *Pseudomonas aeruginosa*

Saleh Jamehdor, Mehdi Zarabi, Faramarz Mehrnejad, Vahid Yavar poor kordestani

Department of Biological Sciences, Faculty of New Science and Technology, Tehran University, Tehran, Iran

Article Information

Article history:

Received:2014/03/17

Accepted:2014/06/16

Available online:2014/07/20

Article Subject:

Antimicrobial Substance

IJMM 1393; 8(2): P 51-54

Corresponding author at:

Dr. Mehdi Zarabi

Department of Biological
Sciences, Faculty of New
Science and Technology, Tehran
University, Tehran, Iran

Email:

mzarabi@ut.ac.ir

Abstract

Background and Aim: *Pseudomonas aeruginosa* is the most common cause of nosocomial infections, that known as one of the most resistant bacteria against antibiotics and show resistance to a lot of common treatment. On the same basis, the aim of the present study is evaluation of the antibacterial activity of aqueous extracts of four kinds of Iranian native plants on the growth of *P.aeruginosa* and compare them with antibiotics.

Materials and Methods: Aqueous extracts of herbs were prepared by the soxhlet extractor and after preparing dilution, antimicrobial effect of them was determined by well diffusion and Broth dilution method on 3 different concentration

Results & Conclusion: In this study, the highest anti-bacterial effect have been relative to *Hippophae rhamnoides* (17.6 mm). The minimum inhibitory concentration of *Zataria multiflora* Boiss, *Juglans regia* L and *Origanum vulgare* was 25% and was recorded 12.5% for *Hippophae rhamnoides*. At this research, defined all of the herbal extracts have antibacterial effect on the studied strain and this activity due to the culture, origin, growing season and effective material in plants could be different.

Key Words: Antibacterial activity, Herbal extract, *Pseudomonas aeruginosa*, Minimum inhibition concentration

Copyright © 2014 Iranian journal of medical microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Jamehdor S, Zarabi M, Mehrnejad F, Yavar poor kordestani V. In vitro Evaluation of antibacterial efficacy of aqueous extracts of Iranian Native Plants on the Standard Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (2) :51-54

بررسی اثر ضد باکتری عصاره های آبی گیاهان بومی ایران بر روی سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا

صالح جامه دار، مهدی ضرابی، فرامرز مهر نژاد، وحید یاور پور کردستانی

گروه علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: سودوموناس آئروژینوزا از شایع ترین علل ایجاد عفونت های بیمارستانی است که به عنوان یکی از مقاوم ترین باکتری ها در مقابل انواع پادزیست ها نیز شناخته می شود و به بسیاری از درمان های رایج مقاومت نشان می دهد. بر همین اساس، هدف از مطالعه حاضر بررسی فعالیت ضدباکتری عصاره های آبی ۴ نوع گیاه بومی ایران بر رشد سودوموناس آئروژینوزا و مقایسه فعالیت آن ها با پادزیست ها است.

مواد و روش کار: عصاره آبی گیاهان بوسیله دستگاه سوکسله تهیه شد و پس از تهیه رقت فعالیت ضدباکتری آن ها با روش های انتشار چاهک و رقت سازی براث در ۳ غلظت مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها و بحث: در این تحقیق بیشترین اثر ضدباکتری مربوط به عصاره آبی برگ سنجد در روش انتشار چاهک بوده است (۱۷/۶ میلی متر). میزان حداقل غلظت مهار (MIC) عصاره های آویشن شیرازی، برگ درخت گردو و مرزنجوش ۲۵٪ بود و برای برگ درخت سنجد ۱۲/۵٪ ثبت شده است. در این پژوهش مشخص شد همه عصاره های گیاهی دارای خاصیت ضدباکتری بر روی سویه مورد بررسی هستند و این فعالیت می تواند به سبب کشت، منشأ، فصل رشد و مواد مؤثره گیاهان، متفاوت باشد.

کلمات کلیدی: فعالیت ضدباکتری، عصاره گیاهی، سودوموناس آئروژینوزا، حداقل غلظت مهار

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۱

پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۱۹

انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۰۶/۲۶

موضوع:

مواد ضد میکروبی

IJMM 1392; 8(2): P 51-54

نویسنده مسئول:

دکتر مهدی ضرابی

گروه علوم زیستی، دانشکده

علوم و فنون نوین، دانشگاه

تهران، تهران،

پست الکترونیک:

mzarabi@ut.ac.ir

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

بطور طبیعی به تعداد زیادی از عوامل ضد میکروبی مقاوم است. این باکتری دارای مکانیسم های پیچیده مقاومت دارویی است که به عنوان یک مشکل بزرگ مطرح می باشند. این میکروارگانیسم همچنین یک باکتری فرصت طلب است و در بیمارانی که از لحاظ سیستم ایمنی دچار نقص می باشند باعث ایجاد عفونت های حاد می شود (۲). با توجه به اینکه حدود ۶۰٪ از داروهای ضد میکروبی که در بازار موجود یا در حال آزمایش اند، منشأ طبیعی دارند توجه گسترده ای به این مواد جلب شده است (۳). افزایش مقاومت دارویی در میکروارگانیسم های بیماری زای

بیماری های عفونی یکی از مهم ترین علل مرگ و میر در انسان ها بوده است. از اواسط قرن نوزدهم به بعد عوامل ضد میکروبی توسعه زیادی پیدا کرد و پادزیست های جدیدتر یکی پس از دیگری مورد شناسایی قرار گرفتند. در طی این سال ها توسعه عوامل ضد میکروبی برای دستیابی به مواد ضد میکروبی با طیف گسترده تر و فعالیت قوی تر ادامه پیدا کرد. با توسعه این عوامل، میکروارگانیسم ها نیز به این عوامل مقاوم شدند در نتیجه انسان ها همچنان در معرض ابتلا به عفونت های مقاوم اند (۱). سودوموناس آئروژینوزا از جمله میکروارگانیسم هایی است که

روش انتشار چاهک (ول دیفیوژن):

پس از فرایند عصاره‌گیری، بیشتر مواد فیتوشیمیایی گیاه در عصاره آبی نیز حضور می‌یابد. در این روش طبق پروتکل CLSI سوسپانسیون استاندارد از سویه سودوموناس آئروژینوزا بر سطح محیط مولر هینتون آگار (Merck) کشت داده می‌شود. میزان ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ها نیز بوسیله سمپلر درون چاهک‌های تعبیه شده بر سطح آگار ریخته می‌شود. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی جنتامایسین (10mcg/disc) و ایمی‌پنم (10mcg/disc) نیز بعنوان کنترل مثبت در این آزمون مورد استفاده قرار گرفتند. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه می‌شوند. (۵) در نهایت هاله عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت.

روش سریال رقت (براث دایلوژن):

طبق پروتکل CLSI رقت سریالی دو برابر (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰٪) از انواع عصاره‌ها در لوله‌های مولر هینتون براث تهیه گردید و به هر کدام از لوله‌ها 5×10^5 CFU/ml معادل نیم مک‌فارلند از سوسپانسیون میکروبی سودوموناس آئروژینوزا به ازای هر میلی‌لیتر براث افزوده گشت. در نهایت بعد از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کدورت‌ها قرائت و ثبت شد. آخرین رقت که کدورت میکروبی قابل مشاهده داشت به عنوان حداقل غلظت میکروبی ثبت شد (۶). میانگین هاله عدم رشد با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و حداقل اختلاف معنی‌دار $p < 0.01$ توسط نرم افزار spss 21 مورد مقایسه قرار گرفته است.

یافته‌ها و بحث:

غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره‌ها به منظور سنجیدن قطر هاله عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره آبی برگ درخت سنجد در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین میزان تأثیرگذاری را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا دارد و پس از آن به ترتیب عصاره ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر آویشن شیرازی، مرزن جوش و برگ درخت گردو قرار داشتند (نمودار ۱).

انسانی، تحقیق در مورد مواد ضد میکروبی جدید، از جمله منابع گیاهی را امری اجتناب ناپذیر می‌سازد (۴).

مطالعات مختلفی بر روی عصاره متانولی و اسانس آویشن شیرازی، برگ درخت سنجد، برگ درخت گردو و مرزنجوش انجام گرفته است؛ اما کمتر مطالعه‌ای در مورد خاصیت ضدباکتری عصاره این گیاهان انجام شده است. در این پژوهش خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ی آبی این گیاهان بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری عصاره‌های آبی گیاهی

برگ درخت گردو (*Juglans regia L*) و سنجد (*Hippophae rhamnoides*) از شهرستان تویسرکان استان همدان، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) از استان فارس و مرزنجوش (*Origanum vulgare*) از کوه‌های آذربایجان غربی جمع آوری گشت و پس از آن نام علمی این گیاهان مورد تایید قرار گرفت. عصاره آبی این گیاهان بوسیله دستگاه سوکسله (Electromantle UK ME1000) و با آب مقطر یکبار تقطیر تهیه شد. عصاره‌ها پس از تهیه در دمای ۴ درجه سلسیوس و دور از نور مورد نگهداری قرار گرفت. سپس در مرحله بعد از آن‌ها رقت‌های (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰) برای تست انتشار چاهک و رقت‌های سریالی دو برابر (۱/۲، ۱/۴ و ۱/۸) از عصاره‌ها در محیط مولر هینتون براث به منظور تست رقت‌سازی براث تهیه شد. سویه میکروبی: سویه میکروبی مورد بررسی در این تحقیق، سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 49189) بود که از بانک میکروبی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا. تهیه گردید

دیسک‌های آنتی بیوگرام:

دیسک‌های آنتی بیوتیک ایمی پنم و جنتامایسین به منظور مقایسه با عصاره‌های گیاهی از شرکت پادتن طب تهیه گردید.

بررسی خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌های آبی گیاهی

موضوع مطالعه کردند که MIC اسانس گیاه آویشن شیرازی برای مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۸ mg/ml بدست آوردند. اما درباره این موضوع بر روی عصاره این گیاه هیچ گزارشی یافت نشد (۹). Lisinia و همکارانش در سال ۲۰۱۳ تاثیر عصاره آبی مرزن جوش را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دادند که مشخص شد MIC این عصاره برای مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۵ mg/ml است. اما در مطالعه حاضر این مقدار برای عصاره آبی مرزن جوش ۲۵ mg/ml بدست آمد. Reder و همکارانش در سال ۲۰۱۲ تاثیر اسانس برگ درخت گردو را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دادند که مشخص شد MIC اسانس این گیاه برای برگ درخت گردو ۳۱,۲۵ mg/ml است (۱۰). لازم به ذکر است با توجه به منابع موجود برای مقدار MIC برگ درخت سنجد گزارشی یافت نشد.

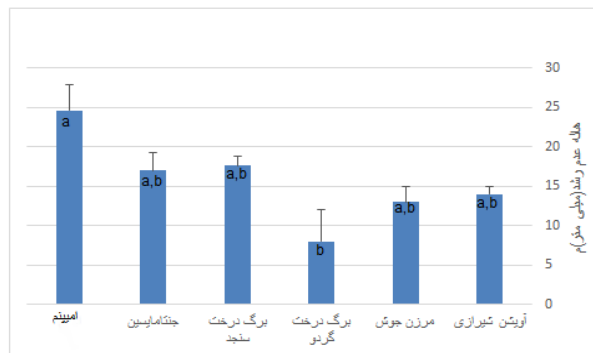
نتایج حاکی از این واقعیت است که عصاره‌های گیاهی دارای مواد ضد میکروبی مناسبی می باشد که می توان از آن‌ها به عنوان یک پایه دارویی یا یک داروی گیاهی مناسب برای مبارزه با میکروارگانیسم‌هایی از جمله سودوموناس آئروژینوزا استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کارکنان آزمایشگاه علوم زیستی و نانوبیوتکنولوژی دانشگاه تهران واحد علوم و فنون نوین تشکر به عمل می آید.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.



نمودار ۱: مقایسه اثر ضد باکتری عصاره انواع گیاهان و مقایسه با پادزیست‌ها

میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) بر روی سویه مورد نظر نیز برای آویشن شیرازی، برگ درخت گردو و مرزنجوش (mg/ml) ۲۵ و برای برگ درخت سنجد (mg/ml) ۱۲/۵ تعیین شد.

İtoğlu در سال ۲۰۰۳ تاثیر عصاره آبی برگ درخت گردو را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دادند که مشخص شد هاله عدم رشد این عصاره برای مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۱۳۳ mg/ml معادل ۱۰ میلی متر است. اما در این مطالعه میانگین هاله عدم رشد بدست آمده در غلظت (mg/ml) ۵۰ برای روش آبی با چاهک این هاله صفر میلی متر بود (۷). Michel و همکارانش در سال ۲۰۱۲ تاثیر عصاره آبی برگ درخت سنجد، را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دادند که مشخص شد هاله عدم رشد این گیاه برای برگ درخت سنجد، ۱۰۰ mg/ml، ۲۴ میلی متر است به نظر می رسد که این یافته به نتایج حاصل از تحقیق در این مطالعه نزدیک باشد (۸). Dehkordi و همکارانش بر روی این

References

1. Powers JH. Antimicrobial drug development—the past, the present, and the future. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004; 10(4): 23–31 .
2. Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science*. 2000; 288(5469): 1251–1253 .
3. Rates S. Plants as source of drugs. *Toxicon*. 2001; 39(5):603-613 .
4. Castilho PC, Savluchinske-Feio S, Weinhold TS, Gouveia SC. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control*. 2012; 23(2): 552-558.
5. Norrel SA, Messley KE. *Microbiology Laboratory Manual Principles and Applications*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, pp. 85–90. 1997.
6. Rather M, Dar B, Dar MY, Wani B, Wajahat S, Bhat BA et a. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedi..* 2012; 19(13): 1185– 1190.
7. İtoğlu. G.S, Altanlar. N. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. *Turkish J Pharm*. 2003; 32(3): 159-163.
8. Michel. T., Destandau. E., Floch. G.L., Lucchesi. M.E and Elfakir. C., Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn

- (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*. 2012; 131(3): 754–760.
9. Saei-Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi-Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(6):1562-7.
 10. Rather MA, Dar BA, Dar MY, Wani BA, Shah WA, Bhat BA, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedicine*. 2012;19(13):1185-90.