

تأثیر عصاره اتانولی ۷ گونه گیاه دارویی علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در شهرستان گرگان

الهه کیانی^{۱*}، معصومه مازندرانی^۲، عزت‌الله قائمی^۳

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

۳- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان

*آدرس مکاتبه: گرگان، بلوار شهید کلانتری، خیابان دانشجو، مجتمع دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گروه

میکروبیولوژی، صندوق پستی: ۷۱۷، کدپستی: ۳۹۹۷۵-۴۹۱۴۷، تلفن: ۳۳۵۱۰۰۳ (۰۱۷۱) داخلی ۳۰۳

پست الکترونیک: elahe_kiaei81@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۸/۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۵

چکیده

مقدمه: عفونت مجاری ادراری یکی از شایع‌ترین مشکلات بالینی در دنیا محسوب می‌شود. علی‌رغم درمان توسط آنتی‌بیوتیک‌های متنوع، همچنان شیوع عفونت و خطر مقاوم شدن باکتری‌ها در طی درمان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد. **هدف:** این تحقیق به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی ۷ گونه از گیاهان دارویی بومی استان گلستان علیه باکتری‌های مولد عفونت مجاری ادراری انجام شده است.

روش بررسی: گونه‌ها از زیستگاه‌های طبیعی خود واقع در استان گلستان جمع‌آوری و پس از خشک شدن، عصاره اتانولی آن‌ها به روش پرکولاسیون تهیه شد. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار در آگار و به کمک دیسک صورت گرفت. پس از سه بار تکرار هر آزمون، میانگین قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس با استفاده از روش **Broth microdilution** حداقل غلظت بازدارندگی از رشد باکتری‌ها، تعیین شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره زرشک با حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۹/۴ میلی‌متر علیه باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس بهترین اثر را نشان داد. حساس‌ترین باکتری‌ها شامل اسیتوباکتر کالکواسیتیکوس، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۲۰/۱، ۲۶، ۲۹/۴ و ۲۸/۵ میلی‌متر بودند. باکتری‌های سودوموناس اثر وینوزا، سیتروباکتر فروندی، کلبسیلا پنومونیه و پروتئوس میرابیلیس نسبت به تمام عصاره گیاهان مورد بررسی مقاومت نشان دادند. همچنین عصاره الکلی گیاهان در مقادیر ۱۰۰ mg/ml بهترین اثر ضدباکتریایی را داشت. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره گیاه زرشک علیه استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس ۰/۰۹ mg/ml و پائین‌تر از سایر انواع عصاره‌ها بود. باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به مصارف فراوان این گونه‌ها در طب سنتی منطقه در درمان علایم عفونت مجاری ادراری و همچنین اثر بهینه ضدباکتریال گونه‌های مورد مطالعه، بررسی مدل‌های حیوانی و تعیین اثرات بالینی آنها در طرح‌های آینده پیشنهاد می‌شود.

کل واژگان: اثر آنتی‌باکتریال، گیاهان دارویی، عفونت مجاری ادراری، شهرستان گرگان



مقدمه

عفونت مجاری ادراری از عفونت‌های شایع، به ویژه در زنان، افراد مسن، نوزادان و از مشکلات حاد سازمان‌های متولی بهداشت کشورهای مختلف محسوب می‌شوند. از نظر فراوانی رتبه دوم را پس از بیماری‌های تنفسی دارد [۱]. آمار جهانی نشانگر آن است که بیش از ۲۵۰ میلیون نفر در سال به این بیماری مبتلا می‌شوند [۲]. از جمله باکتری‌های شایع در این بیماری می‌توان به اشرشیاکلی، پروتئوس و لگاریس، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، انتروباکتر، سیتروباکتر، سودوموناس اثروزینوزا اشاره نمود [۳]. درمان عفونت‌های ادراری معمولاً با آنتی‌بیوتیک صورت می‌گیرد ولی گزارش مقاومت باکتری‌های پاتوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها هر روز در حال افزایش است.

براساس تحقیقات انجام گرفته در زمینه شناسایی عوامل بیماری‌زا و تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها مشخص شده است که میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین در بین باسیل‌های گرم منفی تیره انتروباکتریاسه به‌ویژه در جنس کلبسیلا با مقاومت ۱۰۰ درصد چشم‌گیر است. همچنین میزان مقاومت در بین سویه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس بین ۷۰ تا ۹۰ درصد و در مورد سایر استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی ۶۰ درصد می‌باشد [۱].

در مطالعه گالس^۱ میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین در بین سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب ۵۹/۸ و ۹۳/۷ درصد گزارش شد [۴]. همچنین مقاومت نسبت به سیپروفلوکسازین و آمینوگلیکوزیدهایی مانند جنتامایسین، توبرامایسین و آمیکاسین نیز افزایش یافته است [۲].

در مطالعه مختاریان و همکاران در مورد اشرشیاکلی‌های جدا شده از بیماران مبتلا به UTI نسبت به آموکسی‌سیلین ۱۰۰ درصد، آمپی‌سیلین ۹۹/۷ درصد مقاوم و نسبت به سیپروفلوکسازین ۸۵ درصد، سفتی زوکسیم ۶۰/۱ درصد حساس بودند [۵]. در تحقیقی دیگر مقاومت اشرشیاکلی را نسبت به کوتریماسازول ۶۳ درصد گزارش نمودند [۶]. حال

¹ Gales

آنکه در تحقیقات مشابه دیگر علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری نشان می‌دهد که میزان مقاومت نسبت به داروهای ونکومایسین، تتراسیکلین و آمپی‌سیلین به ترتیب ۸۸، ۴۷/۳ و ۸۹/۹ درصد می‌باشد [۷]. لذا تحقیق در جهت شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید با منشاء طبیعی، روز به روز در حال افزایش است. گیاهان عالی دارای متابولیت‌های ثانویه فراوانی می‌باشند که می‌توانند به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع دارویی با اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جدید شمرده می‌شوند [۸]. در طب سنتی ایران، استفاده از گیاهان دارویی در درمان سوختگی‌ها، ناراحتی‌های پوستی، بیماری‌های عفونی، سبتي سمي و التهاب متداول است [۹].

نظر به اینکه استان گلستان به لحاظ شرایط اقلیمی از تنوع گیاهی وسیع و منحصر به فرد مخصوصاً در مورد گونه‌های دارویی برخوردار است، تحقیقات در مورد بررسی خواص ضد میکروبی گونه‌ها، زمینه مناسبی را فراهم می‌نماید که از نتایج این بررسی‌ها جهت جایگزین نمودن داروهایی موثر، با منشاء طبیعی و کم خطر برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده شود و می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و بروز عوارض ناشی از آنها شود. از جمله آنها می‌توان به تحقیقات انجام شده در دانشگاه علوم پزشکی گلستان در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی ۲۰ گونه از گیاهان دارویی استان علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که بهترین اثر ضد استافیلوکوکی مربوط به عصاره اتانولی ۸ گونه از گیاهان دارویی استان از جمله زرشک و علف چای می‌باشد [۱۰].

همچنین با توجه به اینکه مردم بومی استان گلستان از دیرباز از گیاهان در کنترل و درمان بیماری‌ها به خصوص عفونت‌های کلیه و مجاری ادراری استفاده می‌نموده‌اند، لذا انجام این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر عصاره اتانولی گونه‌های دارویی بارهنگ، سروکوهی، زرشک، دم‌اسب، علف‌چای، گزنه و آقطی علیه شایع‌ترین باکتری‌های استاندارد و جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری ضروری می‌نماید.



مواد و روش‌ها

شناسایی و جمع‌آوری گیاهان

گونه‌های موردنظر در فاصله بهار تا آذر ماه ۱۳۸۶ از نواحی مختلف استان گلستان جمع‌آوری و در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی گرگان شناسایی شدند. اندام‌های موردنیاز در مجاورت هوا، تحت شرایط سایه و خشک، برای عصاره‌گیری آسیاب شدند (جدول شماره ۱).

آماده‌سازی عصاره اتانولی گیاهان

در این تحقیق از اتانول ۷۰ درجه و روش پرکولاسیون استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ گرم از پودر نمونه‌های گیاهی موردنظر را در داخل دکانتور ریخته، سپس مرحله مرحله به آن اتانول ۷۰ درجه افزودیم. برای افزودن اتانول ابتدا آن را گرم و سپس به داخل دکانتور انتقال داده شد. افزودن اتانول را تا جایی ادامه دادیم که تمامی حجم گیاه داخل دکانتور خیس شده و مقداری از اتانول هم در روی سطح نمونه داخل دکانتور باشد. برای عصاره‌گیری کامل بسته به نوع اندام (میوه، ساقه، ریشه، برگ و گل) مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت زمان لازم است. در این حالت پودر گیاه بهتر می‌تواند حلال را در خود جذب نماید تا حداکثر مواد موثره در اتانول حل شود. پس از عصاره‌گیری عمل جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری با کمک پمپ خلاء انجام شد [۱۱].

سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه ۵۵ سویه باکتری جدا شده از نمونه‌های ادرار بیماران بستری مبتلا به عفونت مجاری ادراری در بخش داخلی بیمارستان ۵ آذر گرگان در سال ۱۳۸۶ استفاده شدند (جدول شماره ۲). این باکتری‌ها پس از کشت ادرار بیماران بر روی محیط‌های کشت میکروبی، با کمک رنگ‌آمیزی گرم و انجام آزمون‌های بیوشیمیایی از قبیل TSI، SIM، MRVP، کوagulaz، سیترات و آزمایش تخمیر قندهای مختلف شناسایی و به بخش میکروپوشناسی جهت بررسی اثر ضدباکتریایی گیاهان دارویی مورد مطالعه، انتقال یافتند. در این تحقیق سویه‌های استاندارد، از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و جهت مطالعه استفاده شدند.

رقیق‌سازی عصاره گیاهان و تهیه دیسک‌های حاوی عصاره

هر یک از عصاره‌ها را با پروپیلن گلیکول رقیق کرده و علاوه بر عصاره خالص، غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ از عصاره تهیه شد، سپس جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک را در لوله‌های حاوی رقت‌های تعیین شده عصاره قرار دادیم. بعد از مدت ۳ تا ۵ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شدند [۱۱].

جدول شماره ۱- مشخصات گیاهان مورد بررسی علیه سویه‌های مولد عفونت مجاری ادراری

نام علمی گیاه	نام فارسی	تیره	اندام‌های مورد استفاده	* محل جمع‌آوری
<i>Urtica dioica</i>	گزنه	Urticaceae	برگ	زیارت
<i>Plantago major</i>	بارهنگ	Plantaginaceae	برگ، ساقه، گل، ریشه	زیارت
<i>Sambucus ebulus</i>	آقظی	Caprifoliaceae	برگ، میوه، ساقه	چهارباغ
<i>Juniperus communis</i>	سروکوهی	Cupressaceae	برگ و میوه	چهارباغ
<i>Equisetum arvensis</i>	دم اسب	Equisetaceae	برگ، ساقه	درازنو
<i>Berberis vulgaris</i>	زرشک	Berberidaceae	میوه و برگ	چهارباغ
<i>Hypericum perforatorm</i>	علف چای	Hypericaceae	سرشاخه گل‌دار	زیارت

* محدوده منطقه از ۱۵۰۰ تا ۲۷۰۰ متری



جدول شماره ۲- مشخصات باکتری‌های پاتوژن مورد مطالعه

نام باکتری	گرم	شناسنامه سوش‌های استاندارد	تعداد سویه‌های جدا شده از بیماران
استافیلوکوکوس اورئوس	+	PTCC1431	۳
اشرشیاکلی	-	PTCC1399	۱۸
سودوموناس آئروژینوزا	-	PTCC1310	۳
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	+	PTCC1435	۲
پروتئوس میرابیلیس	-	PTCC1076	۲
انتروکوکوس فکاليس	+	PTCC1394	۳
کلبسیلا پنومونیه	-	PTCC1290	۳
اسیتوباکتر کالکوآستیوکوس	-	PTCC1318	۶
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	+	PTCC1440	۵
سیتروباکتر فروندی	-	PTCC1499	۲
انتروباکتر ائروژنز	-	PTCC1221	۸

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها

۱۰ میلی‌متر بیشتر بود، تعیین شد. بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون 5×10^5 cfu/ml باکتری را به چاهک‌های الیزا حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره 100 mg/ml - 0.01 اضافه کردیم. تنها چاهک اول (کنترل مثبت) حاوی سوسپانسیون میکروبی و محیط مولر هیتون براث و چاهک دوم (کنترل منفی) حاوی سوسپانسیون میکروبی و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بود. بلافاصله OD را با استفاده از دستگاه الیزا در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده و سپس نمونه را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و مجدداً OD آن را در بازه‌های زمانی ۱۲ و ۲۴ ساعت قرائت کردیم که در نهایت حداقل غلظتی از عصاره که کاهش OD در آن مشاهده می‌شد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۴].

نتایج

از میان ۷ گونه گیاه مورد بررسی، عصاره اتانولی گیاه زرشک در همه مقادیر مورد بررسی عصاره (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و $12/5 \text{ mg/ml}$) اثر ضدباکتریایی بسیار خوبی علیه سویه‌های بالینی و استاندارد عامل عفونت مجاری ادراری از خود نشان داد، حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد آن $29/4$ میلی‌متر علیه استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس می‌باشد. تمام گونه‌های گیاهی مورد بررسی توانستند کاملاً از رشد باکتری‌های گرم مثبت (اسیتوباکتر کالکوآستیوکوس و استافیلوکوکوس اورئوس) جلوگیری نمایند. حساس‌ترین باکتری‌ها اسیتوباکتر

الف- روش انتشار در آگار^۱: ابتدا از تمام سویه‌های

باکتریایی سوسپانسیون میکروبی معادل 0.5 مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) تهیه شد و سپس با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. آنگاه دیسک‌های بلانک استریل، حاوی رقت‌های مختلف عصاره، با فاصله معین از یکدیگر از لبه پلیت بر روی سطح محیط کشت آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و نتایج اثر ضدباکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد. برای حصول اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار شد. میانگین قطر هاله عدم رشد در سه بار تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت شد [۱۲]. قطر هاله عدم رشد کمتر از ۸ میلی‌متر به عنوان مقاوم، ۸ تا ۹ میلی‌متر نسبتاً مقاوم، بیشتر از ۱۰ تا ۱۲ میلی‌متر نسبتاً حساس و بیشتر از ۱۲ میلی‌متر به عنوان حساس در نظر گرفته شد [۱۳]. همچنین از دیسک حاوی پروپیلن گلیکول به عنوان کنترل منفی و از دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

ب- روش Broth Microdilution: در این روش

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) از رشد عصاره الکلی گیاهانی که قطر هاله عدم رشد آنها در رقت 100 mg/ml از

¹ Disk Diffusion



کالکواستیکوس، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرماییدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس که بیشترین قطر هاله عدم رشد آنها به ترتیب ۲۰/۱ (باکتری‌های جدا شده از نمونه بیمار)، ۲۶ (علیه باکتری استاندارد)، ۲۹/۴ (علیه باکتری استاندارد) و ۲۸/۵ میلی‌متر (علیه باکتری استاندارد) بودند. باکتری‌های سودوموناس اثر وینوزا، سیتروباکتر فروندی، کلبسیلا پنومونیه و پروتئوس میرابیلیس نسبت به گیاهان مورد بررسی مقاومت بیشتری نشان دادند (جدول شماره ۳ و شکل شماره ۱). همچنین عصاره الکلی گیاهان در مقادیر ۱۰۰ mg/ml بهترین اثر ضدباکتریایی را نشان دادند. کمترین اثر ضد میکروبی مربوط به گیاه آقطی ارزیابی شد.

در اکثر موارد قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استاندارد بیش از باکتری‌های جدا شده از بیماران بود. اما در مورد

اثرگذاری گونه‌های زرشک، آقطی و گزنه استثنایی هم وجود داشت (جدول شماره ۳). عصاره اتانولی گونه‌های زرشک و علف چای نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها قطر هاله عدم رشد بیشتری ایجاد نمودند. همه عصاره گیاهان مورد بررسی به میزان بیشتری توانستند از رشد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی جلوگیری نمایند.

نتایج MIC نشان داد که عصاره اتانولی این گیاهان حتی در غلظت‌های بسیار پایین نیز اثر ممانعت از رشد باکتری‌ها را دارا است. به طوری که کمترین غلظت ممانعت‌کننده از رشد گیاه زرشک ۰/۰۹ mg/ml می‌باشد و عصاره اتانولی سایر گیاهان نیز تاثیر بسیار خوبی در غلظت‌های پایین داشتند (جدول شماره ۴).

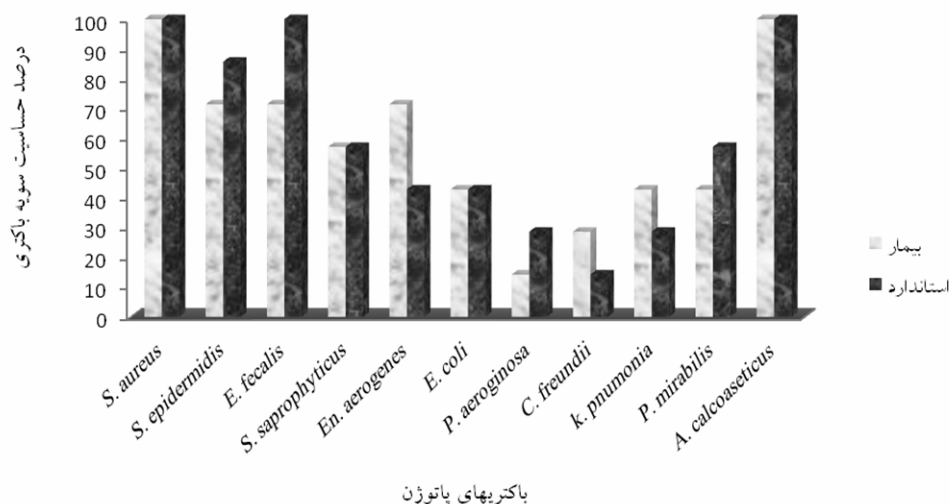
جدول شماره ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره گیاهان علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران در غلظت ۱۰۰ mg/ml بر حسب میلی‌متر

نام گیاه	دم اسب	سروکوهی	بارهنگ	گزنه	زرشک	علف چای	آقطی
میکروارگانیزم	استاندارد * * *	استاندارد *	استاندارد *	استاندارد *	استاندارد *	استاندارد *	استاندارد *
<i>S. aureus</i>	۱۵/۵	۱۴/۳	۱۱	۹/۸	۱۶/۹	۱۳	۱۵/۵
<i>S. epidermidis</i>	۱۰	۸/۲	۱۲/۴	۱۱/۸	۱۴/۸	۹/۱	۱۹
<i>E. fecalis</i>	۱۰	۱۰	۸	۸	۰	۰	۷
<i>S. saprophyticus</i>	۹	۷	۱۱/۶	۸	۱۱/۴	۹/۴	۱۵/۱
<i>En. aerogenes</i>	۸/۵	۸	۶/۵	۰	۸/۱	۰	۰
<i>E. coli</i>	۰	۰	۰	۰	۹/۵	۰	۰
<i>P. aeruginosa</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>C. freundii</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>k. pneumonia</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>P. mirabilis</i>	۸/۳	۸	۸	۷	۰	۰	۰
<i>A. calcoaceticus</i>	۱۴	۱۰/۵	۱۵/۵	۱۴/۸	۱۵/۲	۱۴/۲	۱۷

***: باکتری‌های استاندارد

*: باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری





شکل شماره ۱- توزیع درصد حساسیت سویه های باکتری های پاتوژن در برابر عصاره اتانولی گیاهان

جدول شماره ۴- مقدار MIC عصاره اتانولی گیاهان دارویی علیه باکتری های مولد UTI بر حسب mg/ml

نام گیاه	دم اسب	سروکوهی	بارهنگ	گزنه	زرشک	علف چای	آقطی
<i>S. aureus</i>	۶/۲۵	۲۵	۳/۱	۶/۲۵	۶/۲۵	۰/۳۹	۲۵
<i>S. epidermidis</i>	۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۳/۱	۰/۰۹	۲۵	۵۰
<i>E. fecalis</i>	۵۰	۱۰۰	-	-	۲۵	۳/۱	-
<i>S. saprophyticus</i>	۱۰۰	۲۵	۲۵	۱۲/۵	۰/۱	۵۰	۱۰۰
<i>En. aerogenes</i>	۱۰۰	-	۱۰۰	۱۰۰	۲۵	۲۵	۱۰۰
<i>E. coli</i>	-	-	۱۰۰	-	۱۲/۵	۵۰	۱۰۰
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	۲۵	۱۰۰	-
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	۵۰	۱۰۰	-
<i>k. pneumonia</i>	-	-	۱۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰۰	-
<i>P. mirabilis</i>	۱۰۰	۱۰۰	-	-	۱۰۰	۱۰۰	-
<i>A. calcoaceticus</i>	۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۱/۵	۰/۷	۱۲/۵	۵۰

(-): نمونه هایی که قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ mg/ml کمتر از ۱۰ میلی متر بود، MIC تعیین نشد.

بحث

موثر علیه باکتری های مولد UTI در کشورهای دیگر صورت گرفته است، نشان می دهد که گیاهان مورد بررسی اثر خوبی روی باکتری ها به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرماییدیس و اسیتوباکتر کالکواستیکوس دارند. سویه های سودوموناس اثرورزینوزا، کلبسیلا پنومونیه، انتروباکتر اثرورز و پروتئوس میرابیلیس و سیتروباکتر فروندی نسبت به عصاره حاصل از گیاهان مورد بررسی مقاومت نسبی نشان دادند. عصاره گیاه زرشک از رشد کلیه سویه های

با توجه به نتایج به دست آمده، مشخص شد که عصاره اتانولی گونه های زرشک، علف چای و دم اسب به ترتیب بهترین اثر را داشته و حتی در مواردی تأثیر ضدباکتریایی آنها از آنتی بیوتیک جنتامایسین نیز بیشتر بود. در همه گیاهان تأثیر عصاره ها با کم شدن مقدار آنها در دیسک کاهش می یابد. در واقع اثر ضدباکتریایی عصاره در مقادیر بالاتر به نحو بارزتری پدیدار می شود. در مقایسه با بررسی هایی که در مورد گیاهان



استاندارد و جدا شده از بیماران جلوگیری نمود و حداقل غلظت بازدارنده از رشد 0.09 mg/ml ارزیابی شد.

دولگر^۱ و همکارانش اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی گیاه دارویی از جمله سرشاخه‌های هوایی گزنه، برگ علف چای، برگ بارهنگ و ... را علیه باکتری‌های عامل عفونت‌های ادراری و گوارشی از جمله *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa* مورد بررسی و نشان دادند که عصاره‌های مورد آزمایش اثر ضد میکروبی قوی علیه استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند. در این تحقیق نیز عصاره‌های اتانولی تمام گیاهان اثر خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس داشتند، به طوری که حداکثر قطر هاله عدم رشد آنها ۲۶ میلی‌متر مربوط به گیاه علف‌چای بود [۱۵].

نتایج به دست آمده از تحقیقات انجام گرفته در مورد اثر ضدباکتریال گیاه زرشک در ایالت کلرادو آمریکا نشان داد که گونه‌های متعلق به تیره زرشک، اثر بازدارندگی خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس دارند به طوری که اثر ضدباکتریال آن از آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل نیز قوی‌تر گزارش شده است [۱۶]. در تحقیقات مشابه دیگر مشخص شد که عصاره گیاه گزنه دارای اثرات ضد میکروبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکس و سودوموناس اثرورینوزا می‌باشد [۱۷، ۱۸].

مجد درخصوص اثر آنتی‌بیوتیکی گیاه گزنه گزارش نمود که عصاره اتانولی گیاه گزنه علیه گونه‌های سودوموناس اثرورینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس اثر ضدباکتریال داشته است. عصاره آبی علیه اکثر باکتری‌های مورد مطالعه به جز سودوموناس اثرورینوزا تأثیر مثبت داشت [۱۹]. این تحقیقات با نتایج به دست آمده در مطالعه ما همسویی دارد.

در تحقیقی مشابه شاله^۲ و همکاران عصاره آبی، اتانولی و متانولی ۱۲ گونه گیاهی از جمله ریشه و برگ گزنه را تهیه و اثر ضدباکتریال آن‌ها را علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اثرورینوزا با روش انتشار در آگار بررسی و بیان کردند که شش گونه از گونه‌های فوق اثر

ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری‌های گرم منفی و مخصوصاً گرم مثبت نشان دادند. تعدادی از عصاره‌ها، نیز فعالیت بازدارندگی متوسطی داشتند. باکتری *E. coli* بیشترین مقاومت را نسبت به بسیاری از عصاره‌های مورد آزمایش نشان داد [۲۰]. در این تحقیق نیز اشرشیاکلی و سودوموناس اثرورینوزا کاملاً نسبت به عصاره گزنه مقاوم بودند.

نتایج به دست آمده از بررسی چینگ^۱ در ۲۰۰۲ نشان داد، عصاره اتانولی بارهنگ به همراه چند گیاه دیگر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم منفی از جمله سودوموناس اثرورینوزا، اشرشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس، سیتروباکتر، انتروباکتر و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس لوتئوس مؤثر واقع شده که بیشترین اثر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده است [۲۱]. حال آنکه در بررسی اثر ضدباکتریایی ۱۷۲ گونه گیاهی منطقه پُرتو ریکو^۲ در آلمان علیه ۱۷ سویه باکتری‌های گرم مثبت و منفی دریافتند که گیاه بارهنگ نتوانست از رشد هیچ‌یک از باکتری‌های مورد بررسی جلوگیری نماید و همه سویه‌های باکتریایی نسبت به آن مقاوم بودند [۲۲]. درحالی که در این تحقیق عصاره بارهنگ اثر ضدباکتریایی خوبی علیه گونه‌های مختلف استافیلوکوک از خود نشان داد.

مطابق گزارش کمپسیون پزشکی E در آلمان، مصرف ۱ تا ۳ گرم معادل ۱/۵ تا ۱/۴ قاشق چایخوری از پودر برگ‌های بارهنگ با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب (جوشانده یا دم‌کرده) در درمان UTI مؤثر می‌دانند [۲۳].

مطالعات آزمایشگاهی و کلینیکالی فوکسمن^۳ و همکاران در مورد گیاه سروکوهی، حاکی از آن است که ماده مؤثره موجود در اسانس گیاه به نام ترپن-۴-ال در درمان عفونت مجاری ادراری مؤثر واقع شده است [۲۴].

در مطالعه‌ای که توسط دال آگنول^۴ بر روی اثر ضدباکتریایی اسانس گل‌های *Hypericum perforatum* انجام دادند، گزارش داده شد که اسانس گل‌ها علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیا مؤثر

¹ Chiang
³ Foxman

² Puerto Rico
⁴ Dall'Agnol

¹ Dulger

² Shale



تهیه رقت‌های مختلف از عصاره‌ها (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ... mg/ml) را علیه باکتری‌های مورد آزمایش خود اثر دادیم و نتایج به دست آمده از آزمایش‌های ما نیز نشان داد که هرچه رقت عصاره‌ها بیشتر می‌شود از میزان حساسیت باکتری‌ها نسبت به عصاره‌ها کاسته می‌شود [۹].

به طور کلی در این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت بیش از گرم منفی‌ها حساسیت نشان دادند و در بین گرم مثبت‌ها استافیلوکوک‌ها حساس‌ترین باکتری‌ها به حساب می‌آیند. نتایج ما با تحقیقات مجد، مهربیان (۱۳۸۲) و ایرانبخش (۱۳۸۵) مطابقت دارد [۱۹، ۳۰]. که در تحقیقات مشابه این مسأله مربوط به تفاوت ساختمان غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی است که به علت خاصیت هیدروفیلی قوی به عنوان یک سد دفاعی عمل می‌کند [۲۱، ۳۱].

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش بیانگر اثر بهینه عصاره‌ی اتانولی گیاهان مورد مطالعه علیه میکروارگانیسم‌ها بوده که بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به گیاه زرشک و کمترین اثر مربوط به گیاه آقطی ارزیابی شد. با توجه به این نکته که گیاهان دارویی به دلیل ماهیت طبیعی با بدن سازگاری بهتری داشته و دارای عوارض جانبی کمتری هستند، لذا با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیک، نتایج این مطالعه حائز اهمیت می‌باشد و می‌توان در صورت امکان مواد موثره فعال با خواص ضد میکروبی موجود در عصاره‌ها را استخراج کرده و اثرات ضدباکتریال آن را در شرایط *In vivo* و بالینی مورد بررسی قرار داد.

می‌باشد [۲۵]. مرال^۱ و همکاران در ترکیه عصاره الکلی گیاه *H. perforatum* را علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی، انتروباکترائروژنز، سودوموناس اثرورژینوزا و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، انتروکوکوس فکالیز مورد بررسی قرار دادند. از میان باکتری‌های مذکور، استافیلوکوکوس اورئوس حساس‌ترین باکتری ارزیابی شد [۲۶] که با نتیجه مطالعه ما همسویی دارد.

گیاه دارویی دم اسب *Equisetum arvensis* به علت فراوانی ترکیبات معدنی از جمله سیلیس در ساقه‌های خشک شده خود نقش مهمی در توقف خونریزی، التیام زخم، رفع التهاب و درمان UTI دارد [۲۷]. عصاره اتانولی ساقه نازای گیاه دم اسب منطقه بشل شهرستان سوادکوه (استان مازندران) به خوبی توانست از رشد استافیلوکوکوس اپیدرماییدیس نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری نماید [۲۸]. در حالی که دم اسب جمع‌آوری شده از منطقه درازنو (استان گلستان) اثر مهاري قوي‌تری روی استافیلوکوکوس اورئوس داشت. قابل ذکر است که تفاوت اثر فعالیت ضدباکتریایی گیاهان در نقاط مختلف دنیا می‌تواند ناشی از عوامل موثر بر متابولیت‌های ثانویه از جمله میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه کشت، ارتفاع، دما، بارندگی و زمان برداشت باشد [۲۹].

تحقیقات نشان داده غلظت عصاره، بر اثر ضدباکتریایی آن موثر می‌باشد. با توجه به تحقیقات شهیدی، اثر ضد میکروبی ۴۵ گونه بومی ایران از جمله *Rumex acetosa* L. را علیه سه سویه از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار داد و دریافت که با رقیق شدن عصاره‌ها از اثر ضد میکروبی آنها کاسته می‌شود. ما نیز آزمایش‌های ایشان را ادامه داده و ضمن

¹ Meral

منابع

1. Nwanze PI, Nwaru LM, Oranusi S, Dimkpa U, Okwu MU and Babatunde BB. Urinary tract infection in Okada village: Prevalence and

antimicrobial susceptibility pattern. *Sci. Res. and Essay* 2007; 2 (4): 112 - 6.

2. Keah SH, Wee EC, Chng KS and Keah KC.



- Antimicrobial Susceptibility of Community - Acquired Uropathogens in General Practice. *Malaysian Family Physician* 2007; 2 (2): 234 - 8.
3. Tanagho EA and Aninch JW. Smith's general urology. 15th Philadelphia, Mc Grow Hill. 2000; 200 p.
 4. Gales AC, Jones RN, Gordon KA, Sadar HS and Wilke WW. Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infecting pathogens in hospitalized patients in Latin America. *Antimicrobial agents Chemotherapy* 2000; 45 (3): 295 - 303.
 5. Mokhtarian H, Ghahremani MV and Norzad H. Evaluation the rate of antibiotic resistance of *E. coli* isolated from Urinary Tract Infections. Ofogh-E-Danesh, *Journal of Gonabad University of Medical Sciences and Health Services* 2007; 39 (12): 5 - 9.
 6. Omid M. Evaluation of the bacterial causes of Urinary Tract Infections in 6 months. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sci.* 1983; 41: 41 - 43.
 7. Mohammadi M and Mohammadi M. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from Urinary Tract Infections. *Medical Science Journal of Islamic Azad University* 2006; 2 (16): 95 - 9.
 8. Oussalah M and Caillet S. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. *Food Control* 2007; 18: 414 - 20.
 9. Shahidi B. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. *J Ethnopharmacol.* 2004; 94: 301 - 5.
 10. Dadgar t, Asmar M, Mazandarani M, Bayat H, Moradi A, Bazuori M and Gaemi E. Antibacterial activity of certain Iranian medical plants against methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*. *Asian J. Plant Sci.* 2006; 5 (5): 861 - 5.
 11. Mashhadian NV and Rakhshandeh H. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pakistan J. Medical Sci.* 2005; 21 (1): 47 - 52.
 12. Androw JM. BSAC Standardized disc susceptibility testing method. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 7 (5): 48 - 57.
 13. Nostro A, Ger MP, Angelo VD and Cannatelli MAC. Extraction method and bioautography for evaluation plant antimicrobial activity. *Applied Microbiol.* 2001; 15: 379 - 85.
 14. Thornsberry C and Dougal L. Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin resistant *Staphylococci*. *J. Clinical Microbiol.* 1983; 18 (5): 1084 - 91.
 15. Dulger B and Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian J. plant Sci.* 2004; 3 (1): 104 - 7.
 16. Colorado State University (CSU) cooperative extension: Agriculture Experiment station researcher discovers herbal treatment for antibiotic resistant staph. 2003, pp: 3 - 7.
 17. Gulcin I, Kufrevioliu OI, Oktay M. Antioxidant, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90 (3): 205 - 15.
 18. Jaffari Z. Evaluation of adequate soil for germination of seeds, Anatomic characteristics and some antimicrobial properties *Urtica dioica*. M. Sc. Thesis. Islamic Azad University North of Tehran branch. 2004.
 19. Majd A, Mehrabian S and Jafari Z. The study of antimicrobial effects of *Urtica dioica* extract. *Medicinal and Aromatic Plants Res.* 2003; 19 (3): 287 - 93.
 20. Shale TL and Staden JV. Screening of medicinal plants used in Lestho for antibacterial and anti-inflammatory activity. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 67 (1): 79 - 86.
 21. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Ng TL and Lin CC. Antiviral activity of *P. major* extracts and related compounds in vitro. *Antiviral Res.* 2002; 55: 53 - 62.
 22. Melendez PA, Capriles VA. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomedicine* 2005; 13 (4): 272 - 6.



23. Hoffmann D. The New Holistic Herbal, 3rd ed. Shaftesbury. Dorset, UK: *Element*. 1990; 224 - 7.
24. Foxman B, Barlow R, Arcy H, Gillespie B and Sobel JD. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol*. 2000; 10: 509 - 15.
25. Dall'Agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nor C, Samento L, Lamb L, Hass M and Vonposser G. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *J. Phytomedicine* 2003; 10: 511 - 6.
26. Meral CM. Plant products as antimicrobial agents. *J. Clinical Microbiol. Rev.* 2002; 12 (4): 504 - 82.
27. Seaborn CD and Nielsen FH. Silicon: a nutritional beneficence for bones, brains and blood vessels? *Nutrition Today* 1993; 28: 13 - 8.
28. Arbabian S, Majd A and Ashoori E. The antimicrobial effects of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of some organs of *Equisetum maximum* L. Scientific & Research Biology *J. Islamic Azad Univ. Garmsar Branch* 2007; 4 (1): 65 - 70.
29. Bertino JS. Intranasal mupirocin for outbreaks of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *American J. Health-system Pharmacists* 1997; 54 (19): 2185 - 91.
30. Iranbakhsh A and Ebadi M. The inhibitory effects of plant methanolic extract of *Datura stramonium* L. and leaf explants due to calli against bacteria and fungi. *J. Sciences Islamic Azad Univ.* 2007; 16 (62/1): 91 - 104.
31. Ahmad I and Beg AZ. Antibacterial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 74: 113 - 23.

