

مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از دانه‌های اسپند و کاه بر روی سوش‌های باکتری‌های مختلف در محیط آزمایشگاهی In Vitro

ندا پروین^{۱*}، کوروش اشرفی^۲، نجمه شاهین‌فرد^۳، زهرا کیوانی هفشجانی^۴

- ۱- کارشناسی ارشد روان‌پرستاری، دانشکده پرستاری، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد
 ۲- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد
 ۳- کارشناس مامایی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد
 ۴- کارشناسی ارشد آموزش پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد
 *آدرس مکاتبه: شهرکرد، رحمتیه، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
 تلفن: ۳۳۳۰۷۰۹ (۰۳۸۱)
 پست الکترونیک: np285@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۹

چکیده

مقدمه: مقابله با پدیده مقاومت دارویی و استفاده از جایگزین‌هایی طبیعی اهمیت اساسی دارد. در این میان استفاده از دودهای طبی از جمله دود حاصل از سوزاندن اسپند و سرگین در درمان بسیاری از بیماری‌ها و از جمله بیماری‌های میکروبی در ایران و به خصوص در استان چهارمحال از قدیم‌الایام رواج داشته است.

هدف: با توجه به عدم انجام مطالعه علمی در خصوص اثرات ضد میکروبی دود سرگین مطالعه حاضر با هدف مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از دانه‌های اسپند و سرگین بر سوش‌های باکتری‌های مختلف انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه مداخله‌ای، سوش‌های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک اورئوس، انتروکوک فکالیس، اشرشیاکلی و کاندیدا آلبیکانس در محیط کشت‌های مناسب کشت داده شدند. دیسک‌های دوددهی شده با سرگین نر، سرگین ماده، کاه، اسپند و آنتی بیوتیک به طور جداگانه به روش استریل بر روی سطح پلیت‌های حاوی این سوش‌ها قرار داده و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد از نظر وجود یا عدم وجود هاله رشد بررسی شدند. داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS۱۵ و آزمون میانگین تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: استافیلوکوک اورئوس نسبت به دود کاه نر، ماده و اسپند، اشرشیاکلی به کاه نر، سودوموناس آئروژینوزا به کاه نر و ماده و کاندیدا آلبیکانس نسبت به سرگین ماده حساس بود. در گروه کنترل استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فکالیس نسبت به کلوزاسیلین و سودوموناس تنها نسبت به سیپروفلوکساسین و اریترومايسین حساس بود. با افزایش زمان دوددهی، اثرات ضد میکروبی دود افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات ضد میکروبی دود سرگین نر و ماده بر روی میکروب‌های مقاومی مانند استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا، لزوم انجام تحقیقات وسیع‌تر در مورد مواد موثره و خواص دود سرگین مطرح می‌شود.

گل‌واژگان: باکتری، دود، سرگین، ضد میکروبی



مقدمه

بیماری‌های عفونی در زمره شناخته‌ترین بیماری‌هایی هستند که همواره گریبان‌گیر انسان بوده و تلاش‌های زیادی در جهت شناخت عوامل ایجاد کننده، درمان و کنترل آنها صورت گرفته است. از جمله عوامل مهم ایجاد عفونت در انسان به ویژه عفونت‌های بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا هستند. تقریباً تمامی افراد در طول عمر خود به نوعی به عفونت با استافیلوکوکوس آئروس مبتلا می‌شوند که علایم آن از یک مسمومیت غذایی خفیف تا عفونت خفیف پوستی و عفونت‌های تهدیدکننده حیات متغیر است. سودوموناس آئروژینوزا نیز انتشار وسیعی داشته و در خاک، آب، گیاهان و حیوانات یافت می‌شود و مهم‌ترین عامل عفونت در افراد با نقص سیستم ایمنی است [۱].

این پاتوژن فرصت‌طلب عامل عفونت به ویژه در بیماران مبتلا به سیستمیک فیروز و سوختگی می‌باشد. همچنین یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. سودوموناس آئروژینوزا نسبت به بسیاری از عوامل ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است و علاوه بر مقاومت ذاتی این باکتری نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها در حین درمان به سرعت در برابر دارو مقاوم می‌شود.

این در حالی است که ظهور سویه‌های برخورددار از مقاومت دارویی چندگانه در بخش‌های مختلف بیمارستانی روبه افزایش است که این مورد یکی از مهم‌ترین مشکلات کنترل عفونت در بیمارستان‌ها می‌باشد [۲].

از طرفی آلودگی بیمارستان‌ها و مراکز درمانی به عوامل بیماری‌زای باکتریایی یکی از عمده‌ترین مسائلی است که می‌تواند منجر به مرگ بیماران بستری در این مراکز شود. همچنین عفونت‌های بیمارستانی می‌توانند علاوه بر تشدید ناخوشی و مرگ بیماران مستعد، با افزایش مدت زمان بستری و در نتیجه افزایش هزینه‌های درمان تاثیر زیادی بر اقتصاد درمان داشته باشند که در بین عوامل ایجادکننده، عفونت‌های بیمارستانی باکتری سودوموناس به دلیل اینکه قدرت سازگاری خوبی با محیط داشته و می‌تواند در هر مکان از بیمارستان حضور یابد از اهمیت بیشتری برخوردار است. همچنین این

ارگانیزم به علت افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی خصوصاً به صورت چند دارویی مشکلات بسیاری را برای درمان عفونت‌های ناشی از آنها ایجاد کرده است [۳].

از داروهای متنوعی برای درمان بیماری‌های عفونی از قبیل آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین‌ها، وانکومایسین و نظایر آن و همچنین گیاهان دارویی مثل: صبرزد، آویشن و سیر استفاده می‌شود. فرآیند مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی توانایی پزشکان را در درمان بعضی از بیماری‌های عفونی که اغلب مرگ‌بار هستند، محدود نموده است. مرگ و میر ناشی از عفونت‌های بیمارستانی سالانه تنها عامل چهل هزار مرگ در ایالات متحده است تقریباً ناشی از همین افزایش مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها است. لذا به نظر می‌رسد مقابله با پدیده مقاومت دارویی اهمیت اساسی دارد [۱].

از طرفی با توجه به اهمیت باکتری‌هایی از جمله سودوموناس آئروژینوزا در سوختگی و جراحی و مقاومت وسیع این باکتری، بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض ناشی از مصرف آنها، استفاده از جایگزین‌هایی طبیعی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۴].

بسیاری از داروهای قدیمی در حال حاضر به همان شکل قدیمی و از جمله به شکل دود استفاده می‌شوند. در بیش از ۵۰ کشور جهان استفاده از دودهای طبی (Medicinal Smoke) مرسوم بوده و حتی در بین عوام پذیرش بیشتری دارد. از جمله این دودهای طبی، دود حاصل از سوزاندن دانه اسپند و سرگین (Dung) می‌باشد. اعتقاد بر این است که این دودها دارای اثرات درمانی بیشتر و سریع‌تری می‌باشند [۵].

اسپند *Peganum harmala* گیاهی سنتی در کشور ایران می‌باشد که کاربردهای مختلفی در طب سنتی دارد. اسپند گیاهی علفی با برگ‌های منقسم، گل‌های درشت و متمایل به سبز می‌باشد که میوه آن کپسول کروی حاوی دانه‌های سیاه رنگ دارد و دانه‌های اسپند دارای آلکالوئیدهایی نظیر هارمالین و هارمالول است که هارمالین از نظر درمانی دارای اثرات سمی، قارچ‌کش و باکتری‌کش می‌باشد [۶].

دانه اسپنداز دیرباز به عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم مطرح بوده است. برای این دانه خاص هیپوترمیک و



در این مطالعه از سوش‌های ATCC با مشخصات زیر استفاده شد:

<i>Escherichia coli</i> :	ATCC	25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> :	ATCC	27853
<i>Staphylococcus aureus</i> :	ATCC	25923
<i>Enterococcus Faecalis</i> :	ATCC	29212
<i>Candida albicans</i> :	PTCC	5027

از کلنی‌های سودوموناس آئروژنیوزا، استافیلوکوک اورئوس، انتروکوک فکالیس و اشرشیاکلی یک سوسپانسیون معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه و سپس از آن با کمک سواب استریل در کنار شعله از سوسپانسیون تهیه شده هر باکتری بر روی محیط مولر هیتون آگار، بلاد آگار و EMB به صورت چمنی کشت داده شد. سپس دیسک‌های (بلانک) آنتی‌بیوگرام) دوددهی شده با سرگین ماده و یا اسپند به طور جداگانه با کمک پنس استریل بر روی سطح پلیت‌ها قرار داده شدند و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد از نظر وجود یا عدم وجود هاله رشد بررسی و گزارش شد.

به منظور دوددهی دیسک‌های (بلانک)، از محفظه‌های ویژه‌ای که بدین منظور طراحی شده بود استفاده شد و مرتباً مواد موردنظر به شکل جداگانه سوزانده و دود حاصل وارد این محفظه شد. عمل دوددهی حداکثر تا ۸ ساعت تکرار شد. لازم به ذکر است از سرگین‌های مربوط به یک حیوان ماده و یک حیوان نر مشخص که در محل خاصی نگهداری و تغذیه می‌شدند، استفاده شد. این سرگین‌ها پس از خشک شدن در محفظه خاص طراحی شده، سوزانده و دیسک‌های (بلانک) آنتی‌بیوگرام در معرض دود حاصل قرار داده شدند. هر ۳۰ دقیقه ۲۰ گرم اسپند و یک تکه از سرگین به وزن تقریبی ۱۰ گرم در محوطه‌های جداگانه سوزانده شد. به منظور تنظیم میزان دود در طی ساعت‌های مختلف، در ۴ محفظه حاوی دیسک (بلانک آنتی‌بیوگرام) این عمل انجام شد. این آزمایش‌ها برای افزایش دقت مطالعه در سه نوبت تکرار و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

در این تحقیق پس از کشت باکتری‌های موردنظر آزمایش‌های تعیین حساسیت یا مقاومت نسبت به دیسک‌های دوددهی شده با انواع مواد مورد بررسی (بر اساس وجود و یا

هالوسینوزن درنظر گرفته‌اند. به شکل سنتی به عنوان یک گیاه سقط‌آور در آسیا و آفریقا مصرف می‌شود. مطالعات متعدد فعالیت فارماکولوژیک متعددی برای اسپند در نظر گرفته که از این جمله اثرات ضد میکروبی، ضد تومور و مهارکننده فعالیت مونوآکسیداز آن می‌باشد. اخیراً ترکیبات و فعالیت ضد میکروبی دی‌کلرومتان حاصل از دانه‌های اسپند گزارش شده است. هارمالین به عنوان جزو فعال دود اسپند شناخته شده است. خواص ضد عفونی‌کنندگی هوای این دود و اثرات سیتوتوکسیک آن نسبتاً ناشناخته است [۶]. عصاره حاصل از کالوس اسپند نیز همچون دانه آن دارای خواص ضد میکروبی در برابر میکروب‌هایی نظیر استافیلوکوک اورئوس، اشرشیاکلی و کاندیدا آلبیکنس می‌باشد [۷].

ماهیت مدفوع حیوان یا سرگین *Dung* و ویژگی‌های آن بر اساس نوع حیوان و کیفیت و کمیت تغذیه‌اش متفاوت است. در برخی از مناطق، دود ناشی از سوزاندن سرگین را برای دور کردن پشه‌ها استفاده می‌کنند. به علاوه از مدفوع حیوان برای درمان برخی بیماری‌های انسانی استفاده می‌شود [۸].

دود حاصل از سوزاندن سرگین الاغ ماده از جمله دودهای با کاربرد طبی است که در فرهنگ استان چهارمحال و استان‌های همجوار به عنوان عامل ضد عفونی کننده و ضد میکروبی مورد توجه قرار دارد و به عنوان یک عامل ضد عفونی کننده و ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به این نکته و از آنجا که این دو ماده (سرگین و دانه اسپند) در دسترس بوده و نسبتاً ارزان و سهل الوصول می‌باشد و از آنجا که بررسی علمی و سیستماتیک پیرامون اثربخشی و خواص آنتی میکروبیال سرگین صورت نگرفته و مطالعه مقایسه‌ای نیز با اسپند در این خصوص دردسترس نمی‌باشد، مطالعه حاضر با هدف مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از سوزاندن دانه اسپند، سرگین نر، سرگین ماده و کاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر تحقیقی از نوع تجربی بود. گروه‌های دود اسپند، سرگین نر، سرگین ماده و گروه کاه (غذای حیوان) به عنوان مورد و گروه آنتی‌بیوگرام به عنوان گروه شاهد بود.

عدم وجود هاله رشد و قطر این هاله) انجام شد. بدین ترتیب ابزار مورد استفاده در این پژوهش مشاهده وجود و یا عدم وجود هاله عدم رشد بود که توسط همکار میکروب شناس طرح قطر هاله‌ها اندازه‌گیری و در فرم طراحی شده ثبت شد. اطلاعات جمع‌آوری شده در این مشاهدات با کمک نرم‌افزار SPSS ۱۵ و اندازه‌گیری میانگین قطر هاله‌ها و آزمون مان ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

نتایج مطالعه نشان داد که اثرات ضد میکروبی دود ناشی از سوزاندن اسپند، سرگین نر، سرگین ماده و کاه (در هر دو جنس حیوان خوراک مشابه) در از بین بردن انواع عوامل میکروبی و در ساعات مختلف دوددهی متفاوت می‌باشد. استافیلوکوک اورئوس نسبت به دود سرگین نر، ماده و اسپند (جدول شماره ۱)، اشریشیاکلی نسبت به سرگین نر (جدول شماره ۲)، سودوموناس آئروژینوزا سرگین نر و ماده (جدول شماره ۳) و کاندیدا آلبیکانس نسبت به سرگین ماده حساس بود.

در گروه کنترل استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فکالین نسبت به کلوزاسیلین حساس بوده و سودوموناس تنها نسبت به سیپروفلوکساسین و اریترومایسین حساس بود. انتروکوک فکالین نسبت به هیچ یک از انواع دیسک‌های دود داده شده حساس نبود. نتایج مطالعه نشان داد که با افزایش زمان دوددهی، قطر هاله عدم رشد در موارد حساس بزرگ‌تر شده که این تفاوت از نظر آماری در ساعات و دودهای مختلف معنی‌داری بود ($p < 0.05$).

نتایج مطالعه نشان داد که هیچ یک از انواع دیسک‌های دود داده شده موجب تشکیل هاله عدم رشد در محیط کشت حاوی انتروکوک فکالین نشدند. در این مطالعه از دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به عنوان گروه شاهد استفاده شد. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مورد نظر در جدول شماره ۴ و ۵ آورده شده است. نکته قابل توجه اینکه در خصوص محیط کشت حاوی کاندیدا آلبیکانس تنها دوددهی با سرگین ماده موجب تشکیل هاله عدم رشد پس از ۴ ساعت دود دهی شد.

جدول شماره ۱- الگوی حساسیت استافیلوکوک اورئوس نسبت به دیسک‌های دود دهی شده با مواد مختلف و در ساعات متفاوت

نوع ماده سوزانده شده	مدت دوددهی (ساعت)				
	۱ h	۲ h	۴ h	۶ h	۸ h
سرگین نر	R	R	R	S (۱۳)	S (۲۱)
سرگین ماده	R	R	R	S (۱۵)	S (۲۱)
اسپند	R	R	S (۴)	S (۵)	S (۱۴)
کاه	R	R	R	R	R

R: مقاوم. عدم وجود هاله رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده
S: حساس. وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده (بر حسب میلی‌متر)

جدول شماره ۲- الگوی حساسیت اشریشیاکلی نسبت به دیسک‌های دوددهی شده با مواد مختلف و در ساعات متفاوت

نوع ماده سوزانده شده	مدت دوددهی (ساعت)				
	۱ h	۲ h	۴ h	۶ h	۸ h
سرگین نر	R	R	S (۸)	S (۹)	S (۱۵)
سرگین ماده	R	R	R	R	R
اسپند	R	R	R	R	R
کاه	R	R	R	R	R

R: مقاوم. عدم وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده
S: حساس. وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده (بر حسب میلی‌متر)



جدول شماره ۳- الگوی حساسیت سودوموناس آئروژینوزا نسبت به دیسک‌های دوددهی شده با مواد مختلف و در ساعات متفاوت

نوع ماده سوزانده شده	مدت دوددهی (ساعت)	۱ h	۲ h	۴ h	۶ h	۸ h
سرگین نر		R	R	R	S (۸)	S (۱۵)
سرگین ماده		R	R	R	S (۶)	S (۱۰)
اسپند		R	R	R	R	R
کاه		R	R	R	R	R

R: مقاوم. عدم وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده
S: حساس. وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده (بر حسب میلی‌متر)

جدول شماره ۴- الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فکاليس

نوع آنتی‌بیوتیک	کلوزاسیلین	سیپروفلوکساسین	آمیکاسین	جتتامایسین	وانکومایسین
استافیلوکوک اورئوس	R	S (۳۴)	S (۲۷)	S (۲۰)	S (۱۹)
انتروکوک فکاليس	R	S (۲۴)	S (۱۶)	S (۱۹)	S (۱۸)

R: مقاوم. عدم وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده
S: حساس. وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده (بر حسب میلی‌متر)

همان‌گونه که در جدول مشاهده می‌شود هر دو سوش نسبت به کلوزاسیلین مقاوم می‌باشند.

جدول شماره ۵- الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا

نوع آنتی‌بیوتیک	اریترومایسین	سیپروفلوکساسین	ایمی پنم	نیتروفورانتوئین	نالیدیکسیک اسید	جتتامایسین
اشرشیاکلی	R	S (۳۹)	S (۲۶)	S (۳۰)	S (۲۸)	S (۲۴)
سودوموناس آئروژینوزا	S (۱۰)	S (۴۳)	R	R	R	R

R: مقاوم. عدم وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده
S: حساس. وجود هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های دوددهی شده (بر حسب میلی‌متر)

بحث

پس از دوددهی بلانک‌ها توسط سرگین نر، ماده و اسپند هاله عدم رشد در اطراف این دیسک‌ها در محیط کشت حاوی استافیلوکوک اورئوس تشکیل شد. این در حالی است که هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های (بلانک) دوددهی شده با خوراک دام (کاه) تشکیل نشد. این یافته با یافته‌های مطالعه خوش اخلاق در بررسی اثرات دود اسپند بر استافیلوکوک اورئوس همسو می‌باشد. در مطالعه خوش اخلاق نیز دود اسپند

نتایج مطالعه نشان داد که اثرات ضد میکروبی دود ناشی از سوزاندن اسپند، سرگین نر، سرگین ماده در از بین بردن انواع عوامل میکروبی و در ساعات مختلف دوددهی متفاوت می‌باشد و با افزایش زمان دوددهی در موارد حساس، قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تر شده و به عبارت دیگر اثرات ضد میکروبی دود افزایش می‌یابد.



عدم رشد در این مورد نیز تشکیل نشد. این یافته نشان دهنده مقاومت بالای این سوش نسبت به درمان آنتی بیوتیکی و دودهای مورد مطالعه می باشد.

نکته قابل توجه اینکه در خصوص محیط کشت حاوی کاندیدا آلبیکانس تنها دوددهی با سرگین ماده موجب تشکیل هاله عدم رشد پس از ۴ ساعت دوددهی شد.

آنچه مشخص است ترکیب شیمیایی دودهای حاصل از سوزاندن دو نوع سرگین، کاه و اسپند دارای مواد موثره متفاوت و خواص ضد میکروبی متفاوتی می باشند ولی نباید از این نکته غافل شد که قطر هاله عدم رشد در انواع مختلف نمونه های مورد مطالعه تحت تأثیر عوامل دیگری از جمله نفوذپذیری ماده ضد میکروبی در محیط آگار و اندازه مولکولی آن دارد [۱۰].

مدفوع حیوانی شامل مقادیر زیادی از مواد ارگانیک و ازت و مقادیر زیادی از مواد گیاهی خورده شده توسط حیوان می باشد [۱۱]. توجه به این نکته ضروری است که غلظت مواد سمی و اساسی در مدفوع تحت تأثیر مواد مصرف شده و هضم مواد غذایی می باشد. در حقیقت مدفوع می تواند منبع غنی از مواد آنتی بیوتیکی باشد و خواص معجزه آسایی داشته باشد. خواص معجزه آسای موفوع بر اساس تجربیات مشاهده شده حمایت می شود. از طرفی حیوانات میکروفلورهای متفاوتی دارند و مواد موجود در مدفوع، می توانند آنتی بیوتیک های متفاوتی تولید کنند که بر روی ارگانیسم های متفاوتی موثر می باشند. طب مصر قدیم از دود موفوع به عنوان یک ماده ی قابل اشتعال عالی یاد کرده است. این ویژگی و قابلیت سوختن به خاطر چربی و محتوی فیبر آن بوده است [۱۲].

معمولاً ترکیب دودی که از سوختن آرام خاک اره های چوب های سخت تولید می شود در حدود ۶۰ - ۴۰ درصد سلولز، ۳۰ - ۲۰ درصد همی سلولز و ۳۰ - ۲۰ درصد لیگنین دارد. اجزای اصلی دود شامل اسید فرمیک، اسید استیک، اسید بوتیریک، اسید کاپریلیک، اسید وانیلیک، اسید سیرنیزیک، دی متوکسی فنول، گلاویکسال، فورفورال، متانول، اتانول، اکتانال، استالدهید، دی استیل استون و ۳ و ۴ بنزوبرین هستند و گفته می شود که دود بیش از ۲۰۰ جزء دارد. بسیاری از ترکیبات دود مانند فرمالدئید، استالید، متانول و بعضی از

بر استافیلوکوک اورئوس موثر بود. او به این نتیجه رسید که از بین ترکیبات آلکالوئیدی اسپند فقط هارمالین به صورت تغییر نیافته در دود وجود دارد و اثرات این دود احتمالاً به این ماده مرتبط می باشد. افزایش مدت دوددهی نیز در گروه های سرگین نر، ماده و اسپند موجب افزایش قطر هاله عدم رشد در اطراف بلانک شد. این یافته نشان می دهد که علی رغم مقاومت دارویی نسبت به استافیلوکوک اورئوس، دود اسپند و سرگین می تواند در از بین بردن این میکروارگانیسم مهم بیماری زا موثر باشد. این وضعیت در مورد اشریشیاکلی تفاوت داشت، بدین صورت که دوددهی بلانک ها با اسپند و کاه و سرگین ماده تأثیری در از بین بردن این سوش در محیط کشت نداشته است ولی سرگین نر موثر بود. علت این امر احتمالاً به دلیل ترکیبات خاص موجود در دود سرگین نر می باشد که علیه این سوش موثرند. در مطالعه خوش اخلاق دود اسپند اثری بر اشریشیاکلی نداشت که با یافته های مطالعه حاضر همسو می باشد [۹]. نجفی یاسوری نیز در مطالعه خود به این نتیجه رسید که دود اسپند تنها بر باکتری های گرم مثبت موثر بوده و بر باکتری های گرم منفی تنها در دوزهای بالا (۸ ساعت دوددهی) موثر می باشد که این یافته با یافته های مطالعه حاضر و به ویژه تأثیر زمان دوددهی در از بین بردن میکروارگانیسم های بیماری زا همسو می باشد [۷].

از طرفی در محیط کشت حاوی سودوموناس آئروژینوزا بیشترین قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های (بلانک) دوددهی شده با سرگین نر تشکیل شده و در اطراف دیسک های (بلانک) دوددهی شده با سرگین ماده نیز هاله عدم رشد تشکیل شده بود. این یافته نشان می دهد که ترکیبات موجود در سرگین دارای اثرات ضد سودوموناسی بوده و برخلاف باور مردم این خاصیت تنها در سرگین الاغ ماده وجود نداشته و احتمال دخالت ترکیبات هورمونی در سرگین ماده و اثرات ضد میکروبی احتمالی آن رد می شود.

نتایج مطالعه نشان داد که هیچ یک از انواع دیسک های دود داده شده موجب تشکیل هاله عدم رشد در محیط کشت حاوی انتروکوک فکالین نشدند. این در حالی بود که دیسک های آنتی بیوگرام نیز در دو سوش استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فکالین نسبت به کلوزاسیلین مقاوم بوده و هاله



از جمله مواد موجود در سرگین لیگنین می باشد که هیدرولیز آن موجب تشکیل برخی ترکیبات با ویژگی مهارکنندگی رشد میکروارگانیسم ها می شود. بر اساس منشأ و اثرات مهاری سه گروه عمده اسیدهای ضعیف، ترکیبات فوران و ترکیبات فنلی در اثر این هیدرولیز تشکیل می شوند که احتمالاً اثرات ضد میکروبی دود ناشی از سوختن سرگین به یکی از این سه گروه مواد مرتبط می باشد [۱۲].

Suñen نیز در مطالعه خود به این نتیجه رسید که اثرات ضد میکروبی دود حاصل از سوزاندن چوب به دوز و غلظت فنل های موجود در دود ارتباط داشته و این دود اثرات مهاری بر رشد استافیلوکوک اورئوس، لیستریا مونوسیژنوز، یرسینا انتروکولیتیکا داشته که این یافته نیز با یافته های تحقیق حاضر همسو می باشد [۱۴].

محقق زاده ۲۰۰۶ نیز در مقاله خود که درباره دودهای با مصارف طبی می باشد به این نکته اشاره دارد که اطلاعات اندکی درخصوص ترکیب این دودهای طبی وجود دارد [۵]. Simoneit معتقد است ترکیب اصلی دود حاصل از سوزاندن گیاهان رسته کاج و مواد حیوانی مشتقات مونوساکاریدی، متوکسی فنل ها، دی ترپنوئیدها، فیتواسترول ها، استرول ها و مشتقات کیتین (Chitin) می باشد [۱۵]. از طرفی حرارت بالا موجب بروز برخی تغییرات شیمیایی مانند اکسیداسیون و تولید ذرات ریز می شود. فعالیت ضد میکروبی فاز مایع دود معمولاً به دلیل وجود ترکیبات فنلی، کربنیل ها و اسیدهای ارگانیک می باشد. علت اثرات ضد میکروبی دود، ترکیبات فنلی قطبی در فاز مایع دود می باشد که این ترکیبات فنلی محلولیت زیادی در آب داشته که امکان تماس و تعامل بیشتر با ارگانیسم های هدف و اثرات کشندگی آنها را بیشتر می کند. از طرفی وجود اسید استیک در دود در فاز مایع نیز می تواند مسؤول اثرات ضدباکتری آن می باشد. در مطالعه Holley و همکارانش نیز دود Char sol C-6 بر روی استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیاکلی اثر مهاری داشت که این ویژگی در صنایع غذایی و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می گرفت [۱۶]. یافته های این پژوهش تا حدودی با مطالعه حاضر همسو می باشد. از طرفی ممکن است در

ترکیبات آروماتیک مانند فنل ها، گایاکل، کروزول دارای خاصیت باکتریسیدال و یا باکتریواستاتیک می باشند. قسمت دارای فعالیت باکتریسیدی دود، فرمالدئید است. تاثیر هر یک از ترکیبات فوق به تنهایی مشخص می باشد ولی آزمایش ها ثابت کرده اند که در اثر دود دادن، تاثیر مجموعه ترکیبات از هر کدام به تنهایی بیشتر است. از طرفی بسیاری از ترکیبات موجود در دود و اثرات ضد میکروبی آنها هنوز تشخیص داده نشده است [۱۳]. این ویژگی ها مربوط به دود ناشی از سوزاندن چوب می باشد در حالی که هیچ مطالعه ای در خصوص مواد موجود در دود سرگین تاکنون صورت نگرفته و امکان توجه مکانیسم و ترکیبات ضد میکروبی این دود در حال حاضر وجود ندارد. البته می توان این اثرات را به ترکیب غذایی و گیاهان مصرف شده توسط حیوان نسبت داد ولی مطالعه حاضر نشان داد که در بسیاری از موارد دود حاصل از سوزاندن خوراک حیوان فاقد اثرات ضد میکروبی در حد و اندازه دود خود سرگین می باشد که این مورد احتمالاً وجود ترکیبات دیگری را در این سرگین مطرح می کند که ممکن است ناشی از فعل و انفعالات داخل سیستم های گوارش حیوان و حتی پروبیوتیک ها و آنتی بیوتیک های موجود در آن باشد.

از طرف دیگر شهودی اثرات دود اسپند بر سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، اشیریشیا کلی، استافیلوکوک اورئوس، آسپرژیلوس نیگرا را بررسی کرد که این دود بر روی تمام این مواد موثر بود [۶]. دود اسپند حاوی ترکیبات گوناگونی مثل مشتقات آروماتیک و فنلی، مشتقات ایندولی، ترکیبات الکلی و کتونی، آلکان های نرمال و مشتقات اسیدهای چرب می باشد. در مطالعه خوش اخلاق از میان آلکالوئیدهای دانه اسفند، تنها هارمین به صورت تغییر نیافته در دود شناسایی و اثرات ضد میکروبی دود اسفند بر روی میکروارگانیسم بررسی شد که این ترکیبات بر روی استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس موثر ولی بر روی اشیریشیاکلی و سالمونلاتیفی اثری نداشتند [۹]. تفاوت موجود در خصوص اثرات دود اسپند نیز ممکن است به دلیل ماهیت میکروب های مورد بررسی و نفوذپذیری مواد ضد میکروبی دود اسپند در این میکروب های بیماری زا باشد.



سودوموناس آئروژینوزا که نسبت به کمتر دارویی حساس می‌باشند، ارزش احتمالی دارویی این دو ترکیب مشخص می‌گردد. از طرفی با توجه به عدم انجام مطالعه‌ای درخصوص ترکیب دود حاصل از سوزاندن این دو ماده (سرگین نر و ماده) پیشنهاد می‌شود. در مطالعه دیگری این ترکیبات بررسی و گامی رو به جلو در جهت یافتن مکانیسم اثرات ضد میکروبی این دودها برداشته شود. بدین ترتیب امکان انجام مطالعات بالینی انسانی و در صورت موفقیت تولید فراورده‌های دارویی از این دود و مواد موثره آن فراهم خواهد شد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی این دانشگاه انجام شده است. پژوهشگران بر خود می‌دانند که مراتب سپاس خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و کلیه عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند و به ویژه همکاران محترم آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی شهرکرد و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اعلام نمایند.

دوده‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر نیز ترکیبات فنلی و قطبی وجود داشته که اثرات ضد میکروبی آنها را توجیه نماید. به نظر می‌رسد فرآیند تخمیر و هضم مواد غذایی در سیستم گوارش حیوان مورد بررسی ممکن است موجب ایجاد برخی مواد آنتی‌بیوتیکی در مدفوع حیوان شود که این مورد نیز از جمله مکانیسم‌های مطرح برای اثرات ضد میکروبی دود سرگین می‌باشد. حرارت‌دهی موجب تبدیل مواد موجود در یک گیاه و یا فرآورده به اجزای ریز و میکروسکوپی شده و امکان جذب بیشتر این مواد را فراهم می‌کند [5]. این مورد به مکانیسم نفوذ دود در سلول‌ها به نوعی اشاره دارد.

Asita و همکارانش در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که دود حاصل از سوزاندن انواع گیاهان، اثرات متفاوتی بر باکتری‌های پاتوژن دارد که علت این امر وجود تفاوت در ترکیب انواع دودها می‌باشد [17]. این مطالعه نیز تفاوت مشاهده شده در خواص ضد میکروبی انواع دودهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر را به نوعی توجیه می‌نماید.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اثرات ضد میکروبی دود سرگین نر و ماده بر روی میکروب‌های بسیار مقاومی مانند استافیلوکوک اورئوس و

منابع

1. Abbasi N, Azizi Jalilian F, Abdi M, Saifmanesh M. A Comparative Study of the Antimicrobial Effect of *Scrophularia striata* Boiss. Extract and Selective Antibiotics Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Medicilinal Plants* 2007; 6 (1): 10 - 8.
2. Hosseini Jazani N, Omrani MD, Yekta Z, Nejdrahim R, Afshar Yavari Sh, Zartoshti M. Plasmid Profile of *Pseudomonas aeruginosa* and its Relation with Antibiotic Resistance in Hospital Isolates. *J. Kerman University of Medical Sci.* 2008; 15 (1): 17 - 9.
3. Ahani-Azari A, Danesh A. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Taleghani hospital, Gorgan-Iran. *J. Gorgan University of Medical Sci.* 2007; 9 (3): 69 - 73.
4. Saffari M, Taghizadeh M, Pourbabae M. Study of the Effects of Different Kinds of Honeys on the Growth of Standard Strain of *Pseudomonas aeruginosa* (in vitro). *J. Rafsanjan University of Medical Sci.* 2007; 5 (3): 181 - 6.
5. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Shams-ardakani M, Ghasemi Y. Medicinal smokes. *J. Ethnopharmacol.* 2006; (108): 161 - 84.



6. Shahverdi A R, Ostad S N, Khodae S, Bitarafan L, Monsef-Esfahani H R, Jamalifar H, Nikavar B, Mohseni M. Antimicrobial and cytotoxicity potential of *Peganum harmala* smoke. *Pharmacognosy Magazine* 2008; (4) 15: 236 - 40.
7. Najafi Y, Fazel Jafari A. Antimicrobial effects of smoke product Espand seeds and use of that in industrial caw breeding salons. *Agricultural Knowledge J*. 2001; (4): 11.
8. Ardakani MA, Emadi MH. Managing livestock by-products in Iran. *LEISA Magazine* 2004; 20 (3): 13 - 9.
9. Koshakhlagh N. et al, Study of Espand seed and smoke volatile compounds. 1382; Tehran university of medical sciences, pharmacy department. PhD dissertation. 2003.
10. Rasooli I, Rezaei MB. Comparison of antimicrobial effects of Ampicillin and essential oils of *Zataria Multiflora*. *Hakim Medical J*. 2001; 4 (3): 219 - 25.
11. Moral R J. Moreno-Caselles M. D. Perez-Murcia, A. Perez-Espinosa, B. Rufete , C. Paredes Characterisation of the organic matter pool in manures. *Bioresource Technol*. 2005; 96 (2): 153 - 8.
12. Eva Palmqvist, Barbel Hahn-Hagerdal. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technol*. 2000; (74): 25 - 33.
13. Javadi A, Mirzaee H, Pashak P. Survey of traditional warm smoking effect on microbial pollution of meat products. autumn 1386; Specialty Veterinarian Sciences Journal of Tabriz Eslamic Azad University 2007; 1 (3): 171 - 6.
14. Suñen E. Minimum inhibitory concentration of smoke wood extracts against spoilage and pathogenic micro-organisms associated with foods. *Lett. Appl. Microbiol*. 1998 Jul; 27 (1): 45 - 8.
15. Simoneit Bernd R. T. Biomass burning — a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. *Applied Geochemistry* March 2002; 17 (3): 129 - 62.
16. Holley RA, Patel DI. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol*. August 2005; 22 (4): 273 - 92.
17. Asita O, Campbell I. A. Antimicrobial activity of smoke from different woods. *Letters in Applied Microbiol*. 1990; (10): 93 - 5.



Investigation of Antibacterial Effects of *Peganum harmala* seed and STRAW smokes In Vitro

Parvin N (M.Sc.)^{1*}, Ashrafi K (M.Sc.)², Shahinfard N (B.Sc.)³, Keivani Hafshejani Z (M.Sc.)⁴

1- Nursing Department, Medical Herb Research Center, Shahrekord University of Medicinal Science Shahrekord, Shahrekord, Iran

2- Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medicinal Science Shahrekord, Shahrekord, Iran

3- Medical Herb Research Center, Shahrekord University of Medicinal Science Shahrekord, Shahrekord, Iran

4- Shahrekord University of Medicinal Science Shahrekord, Shahrekord, Iran

*Corresponding author: Nursing Department, Medical Herb Research Center, Shahrekord University of Medicinal Science Shahrekord, Shahrekord, Iran

Tel: +98 – 381 – 3346692, Fax: +98 – 381 – 3330709

E-mail: np285@yahoo.com

Abstract

Background: Encounter with drug resistance and replacement natural treatment is essential. From olden of Iran and specially Chaharmahal and Bakhtiari Province medicinal smokes such as donkey dung & *Peganum harmala* seed used for treatment of many diseases like Infectious diseases. Regarded to lack of scientific research about antimicrobial effects of this smoke this study was done with aim of comparison of antimicrobial property of donkey dung and *Peganum harmala* seed smokes on different bacterial strains.

Methods: In this interventional study, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus Faecalis* and *Candida albicans* standard strain in suitable medium were cultured. Antibiotogram blank disks were fumigated separately with *Peganum harmala* seed smoke, male and female donkey dung and straw smoke then placed on microbial plate with sterile method. After 48 hours incubation in 37 °C, evaluated by measuring the zone of growth inhibition surrounding the disks. Data were analyzed with SPSS 15 and mean statistic exam.

Results: *Staphylococcus aureus* was sensitive to *Peganum harmala* seed, male donkey dung and female donkey dung smokes, *Escherichia coli* to male donkey dung smoke, *Pseudomonas aeruginosa* to male and female donkey dung smokes and *Candida albicans* to female donkey dung smoke. In control group *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus Faecalis* were resistant against cloxacillin and *Pseudomonas aeruginosa* was sensitive only to erythromycin and ciprofloxacin. Results of this study showed that by increasing the time of fumigation in sensitive cases, the antimicrobial effect increases.

Conclusion: According to antimicrobial effects of male and female donkey dung smokes on resistance pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, necessity of perform expanded research about composition and property of this smokes revealed.

Keywords: Antimicrobial, Bacteria, Dung