بررسی اثرات ضدباکتریایی گیاه *Scrophularia striata* Boiss. بر روی سویه‌های مقاوم *Pseudomonas aeruginosa*

حامد ایوبی[۱]، حسین جمالی‌فر[۲]، فاطمه محمدپور[۳]، سعید گودرزی[٤]، محمدرضا فاضلی[٥]، فریده عطار[٦]، عباس حاجی‌آخوندی[۷]، نرگس یاسا[۸*]

۱- دانشجوی دکترای عمومی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات تضمین کیفیت دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- دانشجوی دکترای عمومی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
٤- دستیار دوره تخصصی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
٥- استاد، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات تضمین کیفیت دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
٦- استاد،گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۷- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۸- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی
تلفن و نمابر: ٦٦٩٥٩١٠١ (۰۲۱)
پست الکترونیک: yasa@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۵ **تاریخ تصویب:** ۹۳/٤/۱٤

چکیده

مقدمه: گیاه ***Scrophularia striata*** **یا تشنه‌داری در زبان محلی، از خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) است که در استان ایلام برای رفع عفونت‌های ادراری و عفونت‌های بانوان مصرف می‌شود.**

هدف: **تأثیر عصاره و فراکشن‌های قسمت‌های هوایی گیاه بر روی ۵۰ سویه مقاوم باکتری *Pseudomonas aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت تا اثر مناسب‌ترین بخش عصاره و میزان اثر آن بر روی این باکتری که یکی از عوامل مؤثر در عفونت‌های ادراری است تعیین شود.**

روش بررسی: **عصاره خام و فراکشن‌های مختلف آن (کلروفرم، متانول و آب) تهیه شد. سویه‌های باکتری از ۳ مرکز درمانی جمع‌آوری شد و ۵۰ سوش مقاوم از محیط کشت حاوی آنتی‌بیوتیک جدا شد. اثر تمام فراکشن‌ها بر روی باکتری‌های مقاوم مورد بررسی قرار گرفت.**

نتایج: **حاصل بررسی نشان داد که فراکشن آبی با p= ۰/۰۰۰۱ و فراکشن متانولی با p= ۰/۰۰۱ از عصاره تام اثر ضدباکتریایی بیشتری نشان داده‌اند و فراکشن آبی نسبت به فراکشن متانولی با p= ۰/۰۰۱ اثر قوی‌تری نشان داده است. عصاره کلروفرمی بر روی باکتری سودوموناس هیچ‌گونه اثر ضد باکتریایی ندارد.**

نتیجه‌گیری: **مواد موجود در گیاه *S. striata* که اثر ضدباکتری بر روی سوش‌های مقاوم سودوموناس دارند قطبی بوده و بخش محلول در آب عصاره حاوی بیشترین مقدار مواد قطبی می‌باشد.**

گل‌واژگان: **اسکروفولاریا استریاتا، اثر ضدباکتری، تیره سودومونای آئروژینوزا، گل میمون، گیاه تشنه‌داری**

مقدمه

عفونت‌های ادراری یک مشکل بهداشتی جدی و دومین نوع معمول عفونت در بدن است که در هر سال میلیون‌ها نفر از مردم به آن مبتلا می‌شوند. کاتتریزاسیون ادراری شایع‌ترین عامل عفونت‌زا برای افراد است و مسئول ٤٠ درصد از عفونت‌های بیمارستانی و شایع‌ترین علت عفونت بیمارستانی است و دلیل بیش از ١ میلیون مورد عفونت در بیمارستان‌ها و خانه‌های سالمندان در سال بوده و اغلب عامل آن پاتوژن‌های ادراری بخصوص اشرشیاکلی می‌باشد در حالی که اپیدمیولوژی و مکانیسم‌های بیماری‌زایی باکتری *Escherichia coli* به صورت گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، در مورد پاتوژنز عفونت ادراری ناشی از ارگانیسم‌های دیگر مانند سودوموناس آئروژینوزا اطلاعات کمی وجود دارد [١]. باکتری سودوموناس آئروژینوزا به عنوان یک عامل بیماری‌زای فرصت طلب شناخته شده است زیرا به ندرت قادر به ایجاد عفونت اولیه در افراد طبیعی و سالم می‌باشد. اما، در کسانی که سیستم دفاعی قوی از نظر ایمنی نداشته باشند باکتری وارد بدن میزبان شده و بیماری‌های شدید و تهدیدکننده پدید می‌آورد. سودوموناس آیروژینوزا یک باکتری آزاد بوده و قادر است در محیط‌هایی که برای سایر باکتری‌ها نامساعد است، رشد و تولیدمثل نماید. در محیط‌های بیمارستانی در صورتی که روش‌های کنترل جدی گرفته نشود، این باکتری بیشتر دیده می‌شود و این انتشار ویژه، همراه با وجود بیماران با سیستم ایمنی ضعیف موجب افزایش روند عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری می‌شود. این باکتری می‌تواند هر بافت یا محلی از بدن مانند پوست، گوش، دستگاه ادراری، گوارشی و تنفسی را گرفتار سازد [٣، ٢]. درمان این قبیل بیماران نیز مشکل می‌باشد، در مطالعه‌ای که در سنگاپور توسط لیم (Lim) و همکارانش بر روی بیماران با نقص سیستم ایمنی و مبتلا به عفونت‌های پسودوموناس آئروژینوزای بسیار مقاوم به آنتی‌بیوتیک انجام شد مشخص گردید که حداقل تجویز توأم سه آنتی‌بیوتیک برای درمان این بیماران مورد نیاز می‌باشد [٤].

گیاه *Scrophularia striata* متعلق به خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) می‌باشد و بسیاری از گونه‌های متعلق به این جنس از زمان قدیم در طب سنتی کاربرد داشته‌اند. از جمله آنها می‌توان به درمان جرب (Scabies)، اگزما (Eczema)، پسوریازیس (Psoriasis) و التهاب (Inflammatory affections) اشاره نمود [٥]. بر اساس مقالات منتشر شده تعدادی از گونه‌های جنس اسکروفولاریا که مورد بررسی قرار گرفته‌اند بسیاری از ترکیبات ثانویه گیاهی از جمله فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و ایریدوئیدها را دارا می‌باشند [٦]. همچنین گیاه *S. oldhamii* به عنوان آنتی‌پیوره در درمان التهاب لثه‌ها به کار می‌رود [٧]. دو ایریدوئید جداسازی شده از گیاه *S. scrodomia* به نام هایاسکرودیوزید Scorodiosid و هارپاگوزید Harpagosid اثرات ضدویروسی در مقابل *Vesicular stomatitis* Virus و *Herpes simplex* Virus Type I نشان داده‌اند [٨]. در بررسی انجام شده توسط تاسدمیر (Tasdemir) و همکارانش، اثرات آنتی‌پروتوزوآی ٩ ترکیب ایریدوئیدی موجود در گیاه *S. lepidota* مورد بررسی قرار گرفته که برخی از آنها تأثیر متوسطی را نشان داده‌اند [٩]. زمانیان و همکارانش با بررسی اثر عصاره آبی دانه این گیاه بر روی استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند که دانه این گیاه اثر آنتی‌بیوتیکی خوبی را بدون اثرات جانبی برروی سلول‌های فیبروبلاست مورد آزمایش دارا می‌باشد [١٠]. بهرامی و همکارانش مشخص کردند که مصرف عصاره اتانولی برگ‌های این گیاه توأم با آنتی‌بیوتیک می‌تواند اثر بهتری در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی داشته باشد [١١]. عباسی و همکارانش در مطالعه‌ای نتیجه‌گیری کردند که عصاره آبی گیاه می‌تواند به عنوان فرآورده‌ای برای درمان عفونت‌های خارجی استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آیروژینوزا مؤثر باشد [١٢].

بومیان منطقه مهران در استان ایلام جوشانده قسمت‌های هوائی گیاه را برای شستشوی قسمت‌های عفونی دستگاه اوروژنیتال مصرف می‌نمایند. در این مطالعه به بررسی اثرات عصاره تام قسمت‌های هوایی گیاه و فراکشن‌هایی از عصاره تام بر روی ٥٠ سویه مقاوم باکتری سودوموناس آیروژینوزا که از بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی جمع‌آوری و طی فرآیندهایی جدا شده‌اند، پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه گیاه

قسمت‌های هوایی گیاه *S. striata* که در زبان محلی تشنه‌داری نامیده می‌شود در خردادماه سال ۱۳۹۰ از منطقه مهران در استان ایلام جمع‌آوری شد. نام علمی گیاه توسط خانم دکتر فریده عطار استاد دانشکده علوم دانشگاه تهران تعیین شد.

تهیه عصاره تام و فراکشنه کردن آن

نمونه‌های کاملاً خشک شده گیاه توسط دستگاه آسیاب برقی به پودر تبدیل و برای عصاره‌گیری آماده شد. برای تهیه عصاره متانولی ۱۵۰ گرم از پودر گیاه *S. striata* توسط حلال متانول ۸۰ درصد به روش خیساندن در دستگاه پرکوله عصاره‌گیری شد (L ۱×٤). این عصاره با روش تقطیر در خلاء و در حرارت ٤۰ درجه تغلیظ و در انتها در حرارت آزمایشگاه خشک شد (**عصاره تام**). عصاره تام به وسیله حلال کلروفرم تا بیرنگ شدن حلال شستشو شد، فراکشن کلروفرمی حاصل تغلیظ شد (**فراکشن کلروفرمی**). عصاره‌ای قهوه‌ای رنگ باقیمانده به وسیله متانول شسته شد و فراکشن متانولی به دست آمده در دستگاه روتاری تغلیظ شد (**فراکشن متانولی**) و باقیمانده حاصل که در آب به خوبی حل می‌شود (**فراکشن آبی**) نامیده شد.

جمع‌آوری نمونه میکروبی

در این بررسی از ۱۸٦ نمونه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، که از سه مرکز درمانی امام خمینی (ره)، سینا و طالقانی تهران از تیرماه ۱۳۹۱ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. این نمونه‌ها از بخش‌های داخلی، سوختگی، ICU، اطفال و جراحی گرفته شد. باکتری‌ها در آزمایشگاه با استفاده از آزمایش‌های میکروب‌شناسی از جمله رنگ‌آمیزی گرم، تست اکسیداز و کاتالاز، تست (Oxidative Sulfur)، TSI (Triple Sugar Iron)، OF (Fermentative Methyl Red & Vogues-)، SIM (indole motility MRVP (Proskauer، کشت در محیط ستریماید آگار و رشد در دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد و کشت در محیط کشت سودوموناس P و سودوموناس F جهت بررسی و تولید رنگ‌دانه‌های سبز، آبی و فلورسین‌دار، از نظر بیوشیمیایی شناسایی و جهت انجام تست‌های بعدی در محیط کشت مایع تلقیح و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۳].

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها با روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Kirby – Baur) طبق دستورالعمل CLSI صورت گرفت [۱۹]. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استفاده شده در این تحقیق شامل ایمیپنم (µg ۱۰)، سفتازیدیم (µg ۳۰)، پیپراسیلین (µg ۱۰۰)، کاربنی‌سیلین (µg ۱۰۰)، سفتیزوکسیم (µg ۳۰)، سفوتاکسیم (µg ۳۰)، آمیکاسین (µg ۳۰)، جنتامایسین (µg ۱۰)، توبرامایسین (µg ۱۰) و سیپروفلوکساسین (µg ۵) بودند. از بین سوش‌هایی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان دادند، ۵۰ نمونه به عنوان سوش‌های مورد مطالعه انتخاب شد.

تعیین اثرات ضد باکتری

مقداری از باکتری استاندارد یا نمونه باکتریایی توسط میله پلاتینی برداشته و در لوله آزمایش حاوی مقداری سرم فیزیولوژیک استریل وارد شد، با تکان دادن لوله محیطی کدر و محتوی باکتری مورد نظر حاصل شد. این محیط به مدت ٤ – ۲ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کدورتی مشابه لوله استاندارد نیم مک فارلند ایجاد شود. نظر به اینکه عصاره تام گیاه در حلال DMSO بهتر از سایر حلال‌ها حل می‌شد، DMSO به عنوان حلال مناسب برای بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه انتخاب شد.

پس از تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار و آغشته کردن آنها توسط باکتری مورد نظر، چاهک‌هایی به قطر ۸ میلی‌متر و با فاصله مناسب بر روی پلیت‌ها ایجاد شد. در چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تام و فراکشن‌های مورد آزمایش با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در دیگری ۱۰۰ میکرولیتر

DMSO به منظور شاهد منفی اضافه شد و محیط‌های کشت به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس هاله شفاف اطراف چاهک‌ها توسط خط‌کش در نور کافی اندازه‌گیری شد که میزان قطر هاله بیانگر قدرت ضدمیکروبی می‌باشد [١٤].

تعیین MIC

در هفت لوله آزمایش استریل ۱ میلی‌لیتر محیط کشت Muller Hinton broth ریخته شد. سپس عصاره یا فراکشن مورد نظر حل شده در DMSO به محیط کشت اضافه شد و به طور سریالی از لوله ۱ الی ۷ رقت تهیه شد به نحوی که غلظت عصاره در هر لوله دو برابر غلظت همان عصاره در لوله بعدی باشد، به طوری که لوله ۱ دارای بیشترین غلظت و لوله ۷ دارای کمترین غلظت است. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری که با شاهد مک فارلند مقایسه شده، به هر لوله اضافه شد. تراکم باکتری‌ها در هر لوله بر اساس $۱/۵ \times ۱۰^{٦}$ CFU/ml تنظیم شد و رقت استفاده شده از هر عصاره در لوله‌ها به ترتیب برابر ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/٦۲۵، ۰/۳۱۲۵ و ۰/۱٥٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر تنظیم شد. لوله‌های محتوی عصاره، فراکشن‌ها و باکتری در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت و پس از آن نتایج بررسی شد و پایین‌ترین غلظت اولین لوله‌ای که فاقد کدورت بود به عنوان MIC گزارش شد.

محاسبه

آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار اکسل و محاسبات آماری با برنامه Student *t*- test انجام شده است.

نتایج

نتایج اثرات ضدمیکروبی عصاره تام گیاه به روش چاهک در جدول شماره ۱، نتایج اثرات ضدمیکروبی فراکشن آبی گیاه در جدول شماره ۲، نتایج اثرات ضدمیکروبی فراکشن متانولی گیاه در جدول شماره ۳ و مقایسه میانگین اثرات عصاره و فراکشن‌ها در جدول شماره ٤ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- اثرات ضدمیکروبی عصاره تام گیاه *S. striata* بر روی ٥۰ سوش باکتری سودوموناس آئروژینوزای مقاوم

شماره	قطر[1]	حداقل[2] غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت
۱	۱۲/٥	٥۰۰	۱۱	۹/۰	٥۰۰	۲۱	۱۲/٥	٥۰۰	۳۱	۱۱/٥	٥۰۰	٤۱	۱٥/۰	٥۰۰
۲	۱۳/۰	٥۰۰	۱۲	۸/٥	۱۰۰۰	۲۲	۱۲/۰	٥۰۰	۳۲	۱۲/۰	٥۰۰	٤۲	۱۱/٥	٥۰۰
۳	۱٤/۰	٥۰۰	۱۳	۱۳/٥	٥۰۰	۲۳	۱۱/٥	٥۰۰	۳۳	۱۱/۰	٥۰۰	٤۳	۱٥/۰	٥۰۰
٤	۱۷/۰	۲٥۰	۱٤	۱۷/۰	۲٥۰	۲٤	۱٤/۰	٥۰۰	۳٤	۱۰/۰	٥۰۰	٤٤	۱٤/٥	٥۰۰
٥	۱٥/٥	۲٥۰	۱٥	۱٥/٥	۲٥۰	۲٥	۱٥/٥	۲٥۰	۳٥	۱۰/٥	٥۰۰	٤٥	۱٥/٥	۲٥۰
٦	۱۱/٥	٥۰۰	۱٦	۸/٥	۱۰۰۰	۲٦	۱٤/٥	٥۰۰	۳٦	۱۱/۰	٥۰۰	٤٦	۱۳/٥	٥۰۰
۷	۱۰/۰	٥۰۰	۱۷	۱٤/۰	٥۰۰	۲۷	۱۳/۰	٥۰۰	۳۷	۱۱/٥	٥۰۰	٤۷	۱٤/٥	٥۰۰
۸	۱۰/٥	٥۰۰	۱۸	۷/۰	۱۰۰۰	۲۸	۱۲/٥	٥۰۰	۳۸	۷/٥	۱۰۰۰	٤۸	۹/٥	٥۰۰
۹	۱۰/۰	٥۰۰	۱۹	۱۲/۰	٥۰۰	۲۹	۱۲/٥	٥۰۰	۳۹	۱۲/۰	٥۰۰	٤۹	۱۲/٥	٥۰۰
۱۰	۱۱/۰	٥۰۰	۲۰	۱۱/٥	٥۰۰	۳۰	۱۲/۰	٥۰۰	٤۰	۱۲/٥	٥۰۰	٥۰	۱۲/٥	٥۰۰

[1] قطر هاله عدم رشد با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر (میلی‌متر)

[2] حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد MIC (میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر)

جدول شماره ۲- اثرات ضدمیکروبی فراکشن آبی گیاه *S. striata* بر روی ۵۰ سوش باکتری سودوموناس آئروژینوزای مقاوم

شماره	قطر[1]	حداقل غلظت[2]	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت
۱	۱۸	۱۲۵	۱۱	۲۰/۵	۱۲۵	۲۱	۱۸	۱۲۵	۳۱	۱۴/۵	۱۲۵	۴۱	۱۷	۱۲۵
۲	۱۷/۵	۱۲۵	۱۲	۱۷	۱۲۵	۲۲	۱۸/۵	۱۲۵	۳۲	۱۴	۱۲۵	۴۲	۱۷/۵	۱۲۵
۳	۱۴	۲۵۰	۱۳	۲۰/۵	۶۲/۵	۲۳	۱۹/۵	۱۲۵	۳۳	۱۹	۱۲۵	۴۳	۱۶/۵	۱۲۵
۴	۱۹/۵	۱۲۵	۱۴	۲۰	۱۲۵	۲۴	۲۲	۶۲/۵	۳۴	۲۲/۵	۶۲/۵	۴۴	۱۵/۵	۲۵۰
۵	۲۱	۶۲/۵	۱۵	۲۱	۶۲/۵	۲۵	۲۱	۶۲/۵	۳۵	۲۱	۱۲۵	۴۵	۱۶	۱۲۵
۶	۲۰	۱۲۵	۱۶	۱۹	۱۲۵	۲۶	۱۷	۱۲۵	۳۶	۱۴	۲۵۰	۴۶	۱۶/۵	۱۲۵
۷	۱۸/۵	۱۲۵	۱۷	۲۰	۱۲۵	۲۷	۱۵/۵	۲۵۰	۳۷	۱۹/۵	۱۲۵	۴۷	۱۷	۱۲۵
۸	۱۸	۱۲۵	۱۸	۱۵	۲۵۰	۲۸	۱۶	۱۲۵	۳۸	۱۲/۵	۵۰۰	۴۸	۱۴	۲۵۰
۹	۱۸	۱۲۵	۱۹	۱۸	۱۲۵	۲۹	۱۵/۵	۱۲۵	۳۹	۱۷/۵	۱۲۵	۴۹	۱۷/۵	۱۲۵
۱۰	۱۷/۵	۱۲۵	۲۰	۱۷/۵	۱۲۵	۳۰	۱۶/۵	۱۲۵	۴۰	۱۶	۱۲۵	۵۰	۱۶	۱۲۵

[1] قطر هاله عدم رشد با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر (میلی‌متر)

[2] حداقل غلظت ممانعت کننده رشد MIC (میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر)

جدول شماره ۳- اثرات ضدمیکروبی فراکشن متانولی گیاه *S. striata* بر روی ۵۰ سوش باکتری سودوموناس آئروژینوزای مقاوم

شماره	قطر[1]	حداقل غلظت[2]	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت	شماره	قطر	حداقل غلظت
۱	۱۸	۱۲۵	۱۱	۲۰/۵	۱۲۵	۲۱	۱۸	۱۲۵	۳۱	۱۴/۵	۱۲۵	۴۱	۱۷	۱۲۵
۲	۱۷/۵	۱۲۵	۱۲	۱۷	۱۲۵	۲۲	۱۸/۵	۱۲۵	۳۲	۱۴	۱۲۵	۴۲	۱۷/۵	۱۲۵
۳	۱۴	۲۵۰	۱۳	۲۰/۵	۶۲/۵	۲۳	۱۹/۵	۱۲۵	۳۳	۱۹	۱۲۵	۴۳	۱۶/۵	۱۲۵
۴	۱۹/۵	۱۲۵	۱۴	۲۰	۱۲۵	۲۴	۲۲	۶۲/۵	۳۴	۲۲/۵	۶۲/۵	۴۴	۱۵/۵	۲۵۰
۵	۲۱	۶۲/۵	۱۵	۲۱	۶۲/۵	۲۵	۲۱	۶۲/۵	۳۵	۲۱	۱۲۵	۴۵	۱۶	۱۲۵
۶	۲۰	۱۲۵	۱۶	۱۹	۱۲۵	۲۶	۱۷	۱۲۵	۳۶	۱۴	۲۵۰	۴۶	۱۶/۵	۱۲۵
۷	۱۸/۵	۱۲۵	۱۷	۲۰	۱۲۵	۲۷	۱۵/۵	۲۵۰	۳۷	۱۹/۵	۱۲۵	۴۷	۱۷	۱۲۵
۸	۱۸	۱۲۵	۱۸	۱۵	۲۵۰	۲۸	۱۶	۱۲۵	۳۸	۱۲/۵	۵۰۰	۴۸	۱۴	۲۵۰
۹	۱۸	۱۲۵	۱۹	۱۸	۱۲۵	۲۹	۱۵/۵	۱۲۵	۳۹	۱۷/۵	۱۲۵	۴۹	۱۷/۵	۱۲۵
۱۰	۱۷/۵	۱۲۵	۲۰	۱۷/۵	۱۲۵	۳۰	۱۶/۵	۱۲۵	۴۰	۱۶	۱۲۵	۵۰	۱۶	۱۲۵

[1] قطر هاله عدم رشد با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر (میلی‌متر)

[2] حداقل غلظت ممانعت کننده رشد MIC (میکروگرم بر ۱۰۰ میکرولیتر)

جدول شماره ٤- میانگین قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) برای عصاره تام و فراکشن‌های مختلف گیاه *S. striata* بر روی ٥٠ سوش باکتری سودوموناس آئروژینوزای مقاوم

نوع فراکشن	هاله عدم رشد (میلی‌متر)	حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (میکروگرم بر ١٠٠ میکرولیتر)
عصاره خام	[a]١٢/٣ ± ١	[a]٥١٠ ± ٦٢/٧
فراکشن کلروفرمی	-	-
فراکشنمتانولی	١٥/٢٦ ± ١/١٧	٢٨٥ ± ٣٤/٧
فراکشن آبی	١٧/٦٨ ± ٠/٩٨	١٤٠ ± ١٩

[a]Mean±SD; - هاله عدم رشد مشاهده نشد

با توجه به جدول شماره ٤ مشاهده می‌شود که هاله عدم رشد درعصاره کلروفرمی مشاهده نمی‌شود. میزان هاله عدم رشد عصاره تام ٢/٣١ ± ١٧/٦٨، فراکشن متانولی ٢/٢٤ ± ١٥/٢٥ و فراکشن آبی گیاه برابر ٢/٢٥ ± ١٢/٣١ میلی‌متر، اندازه‌گیری شد که این نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات موجود در گیاه *S. striata* که دارای اثر ضد میکروبی بر روی سوش‌های مقاوم سودوموناس می‌باشند قطبی بوده و بنابراین در حلال‌های قطبی بهتر حل می‌شوند و همچنین حلالیت بهتری در آب، نسبت به متانول دارند. فراکشن آبی با p= ٠/٠٠٠١ و فراکشن متانولی با p= ٠/٠٠١ نسبت به عصاره تام اثر ضد باکتریایی بیشتری نشان دادند و فراکشن آبی نسبت به فراکشن متانولی با p= ٠/٠٠١ اثر قوی‌تری نشان داده است. از عصاره کلروفرمی هیچ‌گونه اثر ضد باکتریایی مشاهده نشده است.

بحث

جوشانده قسمت‌های هوایی گیاه *Scrophularia striata* در استان ایلام به طور مردمی و سنتی به عنوان درمان کننده عفونت‌های میکروبی و التیام‌دهنده زخم‌ها و همچنین برای رفع عفونت‌های ادراری و عفونت‌های بانوان استفاده می‌شود. مطالعات انجام شده اثر ضد میکروبی این گیاه را تأیید می‌نماید. برای مثال در مطالعه‌ای که در سال ١٣٨٤ انجام گرفته اثرات ضدمیکروبی فراکشن‌های اتیل استاتی، اتانولی، متانولی و آبی بخش‌های هوایی گیاه *S. striata* بر روی تعدادی باکتری و قارچ در مقایسه با چند آنتی‌بیوتیک به عنوان شاهد مطالعه شده است که عصاره آبی این گیاه نسبت به کنترل مثبت قطر هاله عدم رشد بیشتری را دارا می‌باشد و رابطه مثبتی بین میزان فنل تام و اثر ضد میکروبی گیاه وجود دارد [١٢].

در مطالعه آقای بهرامی اثر سینرژیستی عصاره اتانولی برگ‌های این گیاه با داکسی سایکلین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مشخص شده است [١١]. اثر آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره‌های کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی ریشه گیاه *S. striata* بر روی*Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Bacillus cereus* بررسی شده که از عصاره‌های کلروفرمی و اتیل استاتی ریشه گیاه اثر ضدمیکروبی قابل قبولی بر روی هیچ یک از باکتری‌ها مشاهده نشده است ولی عصاره متانولی ریشه گیاه توانست هاله عدم رشدی برابر با ٢١ میلی‌متر ایجاد نماید [١٥]. گیاه *S. oldhamii* به عنوان ضدپیوره در درمان التهاب‌ها کاربرد دارد [٧]. برخی از ترکیبات جدا و شناسایی شده از این جنس در بررسی‌های انجام گرفته اثرات جالب توجهی را نشان داده‌اند از جمله دو ایریدوئید جداسازی شده از گیاه *S. scrodomia* شامل Scorodiosid و Harpagosid اثرات ضدویروسی در مقابل *Vesicular stomatitis* Virus و *Herpes simplex* Virus Type I نشان داده‌اند [٨]. در مطالعاتی که توسط تاسدمیر و همکارانش انجام شد، ٩ ترکیب خالص شده از گیاه *S. lepidota* اثرات باز دارنده بسیار قوی بر روی *Leishmaniadonovani* نشان داده‌اند [٩].

در بررسی حاضر گونه *S. striata* از استان ایلام ناحیه مهران جمع‌آوری شد و با متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شده و عصاره تام با حلال‌های کلروفرم، متانول و آب فراکشنه شد. عصاره تام و فراکشن کلروفرمی، متانولی و آبی گیاه از نظر خصوصیات ضد میکروبی بر روی ۵۰ سویه مقاوم باکتری سودوموناس آئروژینوزا، مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج MIC نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره تام با فراکشن‌های آبی و متانولی تا حدودی به هم شباهت داشتند اما عصاره کلروفرمی بر روی سوش‌های مقاوم اثری نشان نداد. تشکیل نشدن هاله عدم رشد در فراکشن کلروفرمی گیاه *S. striata* نشان داد، ترکیباتی که اثر ضدمیکروبی بر روی سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا دارند، ترکیباتی قطبی هستند. با توجه به اینکه هر چه قطر هاله عدم رشد عصاره یا فراکشنی در محیط کشت بیشتر باشد، اثر ضد میکروبی قوی‌تری را نشان می‌دهد، افزایش قطر هاله عدم رشد برای فراکشن آبی نسبت به فراکشن متانولی، می‌تواند بیانگر ازدیاد اثر ضدمیکروبی فراکشن آبی نسبت به فراکشن متانولی گیاه باشد که با مقایسه نتایج MIC ثابت می‌شود که فراکشن آبی این گیاه نسبت به فراکشن متانولی اثر ضدمیکروبی قوی‌تری بر روی سویه‌های مقاوم باکتری سودوموناس آئروژینوزا دارد و دلیل آن، حلالیت بهتر ترکیبات حاوی اثرات ضدمیکروبی گیاه در حلال‌های قطبی‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این بررسی، ضمن تأیید اثرات ضد میکروبی فراکشن مؤثر در تحقیقات انجام شده قبلی نشان می‌دهد که این گیاه در درمان آلودگی‌های میکروبی حتی آلودگی با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها به فرم جوشانده می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد و ارزش آن را دارد که از لحاظ کشت انبوه در زمین‌های مناسب و تهیه فرم دارویی مطلوب مورد مطالعه بیشتری قرار گیرد.

منابع

1. Mittal R, Aggarwal S, Saroj Sharma S, Sanjay Chhibber S and Harjaib K. Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: A minireview. *Journal of Infection and Public. Health*. 2009; 2: 101 - 11.

2. Malekzadeh F. Microbiology. 3nd ed. University of Tehran Press. Iran (Persian). 2002, p: 161.

3. Adib P. Medical Micribiology.3nd ed. Bahman Chap Press. 1991, p: 124.

4. Lim TP, Lee W, Tan TY, Sasikala S, Teo J, Hsu LY, Tan TT, Syahidah N and Kwa AL. Effective Antibiotics in Combination against Extreme Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa with Decreased Susceptibility to Polymyxin B. *PLOS ONE* 2011; 6 (12): art. no. e28177

5. Heather M, Henderon MRH. The physicians of Myddfai; the Welsh Herbal Tradition. *Bot. J. Scotl*. 1994; 46: 623 - 7.

6. Santos Galíndez J, Díaz Lanza AM and Fernández Matellano L. Biologically active substances from the Genus *Scrophularia*. *Pharm. Biol*. 2002; 1: 45 - 9.

7. Won SW. Pharmacologically active component in Scrophularia root p-methoxycinnamic acid, identification of p- Methoxicinnamic acid and its antipyretic action. *Yakhah Hoeiji*. 1963; 7: 55 - 7.

8. Bermejo P, Abad MJ, Díaz AM, Fernández L, De Santos J, Sanchez S, Villaescusa L, Carrasco L and Irurzun A. Antiviral activity of seven iridoids, three, saikosaponins and one phenylpropanoid glycoside extracted from Bupleurumrigidum and Scrophulariascorodonia. *Planta Med*. 2002; 68 (2): 106 - 10.

9. Tasdemir D, Guner ND, Perozz R and Donmez AA. Anti-protozoal and plasmodial fab I inhibiting metabolites of Scrophularialepidota roots. *Phytochem*. 2005; 66: 355 - 62.

10. Zamanian-Azodi M, Ardeshirylajimi A, Ahmadi N, BagherRezaee M, AziziJalilian F and Khodarahmi R. Antibacterial effects of *Scrophularia striata* seed aqueous extract on *staphylococcus aureus*. *Journal of Paramedical Sciences* (*JPS*) 2013; 4: 58 - 63.

11. Bahrami AM and Ali V. Effects of *Scrophularia striata* Ethanolic Leaves Extracts on *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Pharmacol*. 2010; 6: 431 - 4.

12. Abbasi N, AziziJalilian F and Saifmanesh M. A comparative study of the antmicrobial effect of ScrophulariastriataBioss.extract and selective antibiotics against Staphylococcus aureus and Psudomonasaeroginosa. *Journal of Medicinal Plants* Special Issue 1. 2006; 6: 10 - 8.

13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement (M100-s15). NCCLS, Wayne, Pa. 2005.

14. Etemadi H, Maleknejad P and Mahmoodi M. Laboratory Methods in Medical Bacteriology. Chehr Press. 1985, pp: 167 - 73.

15. Safavi F, Meighani H, Ebrahimi P and Hafez Ghoran S. Antioxidant and antibacterial activity of *Scrophulariastriata*. *Research in Pharmaceutical Sciences* (*RPS*) 2012; 7: 852 - 8.