

مطالعه‌ی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های سبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata* Benth.) روی انواعی از استافیلوکوس‌های مولد جوش در انسان

عذرًا عطایی عظیمی^۱، بهنوش رشیدیان دزفولی^۲، بابک دلتواز هاشملویان^۳

- ۱- دانشیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
- ۲- دانشجوی ارشد، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی - عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
- ۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
- *آدرس مکاتبه: ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه زیست‌شناسی، صندوق پستی: ۳۹۱۸۷ - ۳۶۶
- تلفن: ۰۲۵۵ - ۲۲۴۱۵۵۲ (۰۲۵۵)، نمایر: ۲۲۴۰۱۱۱ (۰۲۵۵)
- پست الکترونیک: attaei@iau-saveh.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۹/۸/۱۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۵

چکیده

مقدمه: جوش پوستی از بیماری‌هایی است که باعث ناهنجاری پوست و افسردگی نوجوانان و جوانان می‌شود. عامل این بیماری انواعی از باکتری‌های استافیلوکوس است که داروی مؤثری برای درمان آن وجود ندارد. به نظر می‌آید بتوان از گیاهانی مثل سبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*) که دارای ترکیبات ضدباکتری هستند، برای درمان جوش‌های پوستی استفاده کرد.

هدف: هدف از این پژوهش جدا کردن عصاره‌های آنتی‌باکتریایی سبله‌ای ارغوانی، برای درمان جوش‌های پوستی بود. روش بررسی: در این پژوهش اثر انواع عصاره‌های آبی، الکلی، فنلی گیاه سبله‌ای ارغوانی روی باکتری‌های استافیلوکوك جوش مطالعه شد. برای انجام این پژوهش، عصاره‌های برگ، ساقه و گل سبله‌ای ارغوانی قبل از اتوکلاو و باکتری بعد از اتوکلاو به محیط کشت اضافه شد.

نتیجه: نتایج نشان داد که بعضی از غلظت‌های عصاره‌ی آبی گل و برگ سبله‌ای ارغوانی اثر ضدباکتریای قوی داشته و باکتری را کاملاً از محیط حذف می‌کنند.

بحث: نتیجه‌ی کلی نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های سبله‌ای ارغوانی قابل مقایسه با آمپسیلین و دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها و حتی در برخی غلظت‌ها از آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر می‌باشد.

گل واژگان: سبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*), استافیلوکوك، جوش پوستی، فعالیت ضدمیکروبی



مقدمه

جوش‌های صورت یا آکنه (جوش غرور) یک بیماری التهابی مزمن پوست می‌باشد که اکثرآ در دوره‌ی نوجوانی شروع و در جوانی فرد شایع می‌شود ولی گاهی در سرتاسر زندگی باقی می‌ماند. ظهور جوش در افراد مختلف متفاوت است.

دلیل ظهور جوش‌های پوستی، مسدود شدن ناگهانی غدد چربی ناحیه‌ی پوست به دلایل نامعلوم است. وقتی چربی درون غدد چربی نتواند به بیرون راه یابد، زیر پوست باقی و سبب تجمع باکتری‌هایی مثل استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌شود که به طور طبیعی در فلور پوست وجود دارند. یکی از عارضه‌های جوش صورت باقی ماندن لکه در محل ظهور جوش به علت فعل شدن سیستم دفاعی و التهاب پوست است.

با اینکه بروز جوش‌ها در صورت و بدن یک بیماری کشنده نیست ولی باعث بروز ناهنجاری در پوست صورت و بدن می‌شود که از زیبایی می‌کاهد. ظهور عارضه‌های پوستی (باقی‌ماندن جای زخم و جوش به صورت لک) باعث بروز عارضه‌های روحی در بسیاری از نوجوانان و جوانان می‌شود. در واقع عدم وجود راه درمان مؤثر و باقی ماندن ناهنجاری و عوارض جای جوش، سبب افسردگی و گوشنه‌نشینی جوانان می‌شود [۷ - ۱].

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (*Staphylococcus epidermidis*) دو باکتری گرم مثبت هستند. استافیلوکوکوس اورئوس گلوکز را تخمیر کرده و اسید لاکتیک تولید می‌کند. علاوه‌بر آن قادر به تخمیر مانیتول می‌باشد که این ویژگی آن را از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مشخص می‌کند. استافیلوکوکوس اورئوس کاتالاز و کوآگولاز مثبت، از فلور طبیعی انسان است که در مجاری عبوری تنفسی، پوست و موکوسی غشایی یافت می‌شود [۸]. این باکتری از عوامل اصلی جوش‌ها، آکنه‌ها، آلدگی و عفونت زخم‌ها بوده و همچنین باعث مسموم شدن غذاهای می‌شوند. استافیلوکوکوس اورئوس بیماری‌زا و مهاجم است. این موجود ترکیباتی سمی تولید می‌کند که باعث مرگ گلبول‌های سفید و تب می‌شود. به همین جهت آن را استافیلوکوک تب‌آور

(*S. pyogenes*) می‌نامند. استافیلوکوکوس اورئوس از باکتری‌هایی است که به سرعت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود. این باکتری به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین (Methicillin) مقاوم است به همین جهت به آن مرسا (MRSA) نیز گفته می‌شود.

- استافیلوکوکس اپیدرمیدیس (استافیلوکوک اپیدرمیدیس) کوآگولاز منفی بوده به شکل کلنی‌های سفید روی خون آگار گوسفندی (شبب بلاد آگار) ظاهر می‌شود [۹].

هر دو استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اورئوس از فلور طبیعی پوست انسان و از ریزموجودات تخریب کننده‌ی پوست هستند که انتشار محیطی گستره‌های هم دارند ولی واگیری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس کمتر از اورئوس است [۹].

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها سابقه‌ی طولانی دارد و هم اکنون در بسیاری از کشورهای پیش‌رفته به عنوان یک راه اصلی برای درمان به شمار می‌رود. امروزه تقریباً ۳۰ درصد فرآورده‌های دارویی منشای گیاهی دارند [۱۰، ۱۱]. خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره‌های برخی از گیاهان به اثبات رسیده است. عموماً این عصاره‌ها دارای ترکیبات ساپونینی، آلکالوئیدی، ترپنوتئیدی، فنلی، اسید چرب و پروتئین هستند و از برگ، ساقه، ریشه و دانه گیاهان مختلف جدا شده و خواص برخی از آنها به اثبات رسیده است [۱۲، ۱۳، ۱۴].

اثر ضدباکتریایی اسانس برگ کنگر و زعفران بر هر دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ثابت شده است [۱۵]. بیماری‌های عفونی از قدیم گریبان‌گیر انسان بوده و تلاش‌های زیادی جهت شناخت عوامل ایجاد‌کننده، درمان و کنترل آن صورت گرفته است. تقریباً همه افراد در طول عمر خود به شکلی به عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس مبتلا شده‌اند که این عفونت می‌تواند حداقل یک مسمومیت غذایی خفیف یا عفونت‌های پوستی مثل جوش‌های صورت باشد [۱۶].

جنس سنبله‌ای (استاخیس *Stachys*) از تیره‌ی نعناع دارای گونه‌های گیاهی زیادی در ایران است [۱۷]. گونه‌های این جنس غنی از ترکیباتی هستند که خاصیت ضدالتهاب، ضدحرک‌های عصبی، ضدباکتری و غیره دارند [۱۸]. یکی از



- **تشخیص اختصاصی با آزمایش کاتالاز:** در این آزمایش یک قطره آب اکسیژنهای ۳ درصد روی لام ریخته، سپس یک قطره از سوسپانسیون باکتری به آن اضافه و بالا فاصله با میکروسکوپ تشکیل حباب‌های اکسیژن مطالعه شد. تشکیل حباب نشان دهنده کاتالاز مثبت بود. در آزمایش کاتالاز هر دو نمونه باکتری (صورت و گردن) کاتالاز مثبت بودند.

- **تشخیص اختصاصی با آزمایش نووپیوسین:** هر یک از دو نمونه باکتری در محیط آگار کشت داده شد و سپس در وسط آن دیسک آنتی‌بیوتیک نووپیوسین گذاشته شد. قطره هاله‌ی عدم رشد برای هر دو باکتری بیش از ۱۷ میلی‌متر بود. پ- برای تهیی سوسپانسیون باکتری، در هر بار کشت، در یک لوله‌ی آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، با فیلدوپلاتین استریل چند بار باکتری را وارد آب مقطر استریل نمودیم تا تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر به حدود 10^6 عدد (یک میلیون) رسید. شمارش باکتری‌ها با لام ثوبار انجام گرفت.

ت- برای کشت، پاساژ دادن و افزایش تعداد باکتری از کشت ساده و پخش ساده‌ی باکتری (گستره) روی محیط جامد به وسیله‌ی سوآب استریل، استفاده شد. برای تهیی محیط کشت، $\frac{3}{4}$ گرم پودر مولر هیتون آگار با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و سپس به مدت 15 دقیقه در دمای 120 درجه سلسیوس و فشار 1 اتمسفر اتوکلاو شد.

عصاره‌ی گیاهی قبل از اتوکلاو کردن به محیط کشت اضافه و مخلوط محیط کشت و عصاره اتوکلاو شدند. پس از رسیدن دمای محیط کشت اتوکلاو شده به 50 درجه، 1 میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به آن اضافه، هم زده و در پتري دیش‌ها تقسیم شد. محیط کشت‌ها بعد از جامد شدن به انکوباتور 37 درجه منتقل شدند.

استخراج عصاره‌های گیاهی

گیاه سنبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*) را از نواحی خارج شهر ساوه چیده و پودر برگ، ساقه و گل خشک شده‌ی آن در سایه، برای استخراج عصاره‌ها استفاده شد.

الف- عصاره‌ی آبی: 100 گرم پودر خشک هر قسمت از گیاه با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و بعد از 1 ساعت در

گونه‌های سنبله‌ای در ایران، سنبله‌ای ارغوانی یا گوش بزغاله (*Stachys inflata*) است. در طب محلی ایران گیاه دارویی سنبله‌ای ارغوانی، برای درمان بیماری‌های عفونی، التهابی و روماتیسم استفاده می‌شده است [۱۰]. عصاره‌ی متابولی استخراج شده از بخش‌های هوایی آن روی موش‌های صحرایی خاصیت ضدتومر و التهاب داشته و به طور مشخص التهاب را در بافت صدمه یافته کاهش می‌دهد [۱۹، ۲۰].

پژوهش‌ها نشان داده است که انسان سنبله‌ای ارغوانی علاوه‌بر اثر ضدالالتهابی، اثر بازدارندگی خوبی روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس دارد که تفاوت آن در مقایسه با آنتی‌بیوتیک توبرامایسین ناچیز است ولی اثر چندانی بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ندارد [۲۱، ۲۲].

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از جوش، کشت و شناسایی باکتری‌ها

الف- باکتری‌ها مستقیماً از جوش‌های ماکیول صورت (گونه) و بدن (پشت و گردن) افراد بالای 18 سال و کمتر از 24 سال تهیی شد. سطح جوش افراد متقاضی با پنهانی آغشته به الکل 70 درصد تمیز، سپس با نوک سوزن لانست استریل، سر جوش را باز، با فشار محتويات آن را خارج و با سوآب استریل، محتويات جوش به روی محیط کشت مولر هیتون آگار در پتري دیش‌ها انتقال و به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه نگهداری شدند. بعد از 24 ساعت کلني‌های باکتری به محیط کشت جدید پاساژ و در انکوباتور 37 درجه نگهداری شدند.

ب- 24 ساعت بعد از این پاساژ یک نمونه از هر کشت برای شناسایی به آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر ساوه فرستاده شد. باکتری‌های با آزمایش‌های گرم، کاتالاز و نووپیوسین شناسایی شده، برای رشد به محیط جدید واکشت شدند [۳۰، ۳۱].

ت- تشخیص اولیه‌ی باکتری‌ها با رنگ‌آمیزی گرم: در این رنگ‌آمیزی لام گستره‌ی باکتری تهیی، با شعله‌روی لام ثبیت و سپس یک دقیقه با کریستال ویوله (1 درصد) رنگ و با آب مقطر شسته شد. بعد باکتری‌ها یک دقیقه با لوگل (1 درصد) رنگ، سپس شسته شده و با متابولی تثبیت شدند. لام خشک و در نهایت با سافرانین (1 درصد) به مدت 1 دقیقه رنگ‌آمیزی شد.



فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. بعد از اتوکلاو، وقتی دمای محیط کشت اتوکلاو شده به $50 - 60$ درجه رسید، به آن ۱ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری (برابر یک میلیون باکتری) اضافه، مخلوط همگن شده با هم زدن را درون پتري های کوچک ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور 37°C درجه قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت نتایج بررسی شد.

ب- روش دیسک گذاری و مقایسه‌ی اثر باکتریایی عصاره‌های این گیاه با آنتی بیوتیک آمپی سیلین: برای مقایسه‌ی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های این گیاه با آمپی سیلین از آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر ساوه کمک گرفته شد. در این آزمایشگاه با روش دیسک گذاری، اثر غلظت مشابه عصاره‌های گیاه سنبله‌ای ارگوانی با آمپی سیلین روی باکتری‌های جوش (با اندازه‌گیری قطر هاله) مقایسه شد.

در هر دو روش بررسی ضدباکتریایی عصاره‌های سنبله‌ای ارگوانی، همه آزمایش‌ها با سه تا پنج تکرار انجام و ارایه‌ی نتایج میانگینی از این تکرارها است.

نتایج تشخیص نوع باکتری

با انجام آزمایش‌های گرم، کاتالاز و نووپیوسین مشخص شد که هر دو نمونه باکتری جوش‌های پوست گونه (A) و پوست پشت و گردن (B) باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس است چون هر دو نمونه باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت و حساس به آنتی بیوتیک نووپیوسین بودند (شکل شماره ۱ و ۲).

نتایج اثر عصاره‌ها روی باکتری‌ها در محیط کشت (روش رقیقسازی در آگار)

۱- عصاره‌ی آبی روی باکتری A: جدول شماره ۱ یافته‌های مربوط به اثر عصاره‌های آبی بخش‌های هوایی سنبله‌ای ارگوانی روی باکتری جوش صورت را بر اساس درصد کاهش تعداد کلی‌های باکتری نشان می‌دهد.

بن‌ماری 60 درجه سلسیوس، چند دقیقه هم زدن، صاف و حجم عصاره اندازه‌گیری شد.

ب- عصاره‌ی الكلی: شبیه روش تهیه‌ی عصاره‌ی آبی بود، فقط در آن به جای آب مقطر از الكل اتیلیک 96 درصد استفاده شد.

پ- عصاره‌ی فنلی با هیدرولیز: عصاره‌ی الكلی استخراج و بعد از تبخیر الكل، ماده‌ی خشک در 100 میلی لیتر آب مقطر حل و به دو قسمت مساوی در دو ارلن (ارلن شماره‌ی ۱ با هیدرولیز سدیم $\text{pH} > 8$ نرمال، قلایایی $\text{pH} < 4$) و ارلن شماره‌ی ۲ با اسید کلریدریک 1 نرمال، اسیدی ($\text{pH} < 4$) تقسیم شد. برای هیدرولیز ترکیبات فنلی، هر دو ارلن به مدت 20 دقیقه در بن‌ماری جوش قرار و بعد از سرد شدن، محتویات هر دو ارلن را مخلوط و pH آن به 6 رسانده شد. سپس به آن به نسبت مساوی اتر اتیلیک اضافه، بعد از هم زدن، بخش اتری از بخش آبی جدا و بعد از تبخیر اتر، ماده‌ی خشک وزن شد.

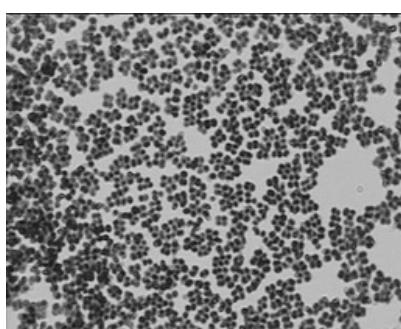
ت- عصاره‌ی فنلی محلول در آب: عصاره‌ی آبی را چند بار با اتر نفت با حجم برابر شستشو داده تا رنگریزه‌های کلروفیلی، کارتونئیدی و مواد محلول در چربی از عصاره‌ی آبی جدا و فنلهای محلول در آب در آن باقی بماند.

برای تعیین غلظت، عصاره‌ها با دستگاه تبخیر در خلاء خشک و وزن آن با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. غلظت عصاره بر حسب میلی گرم در لیتر در حجم کل عصاره استخراج شده، محاسبه شد.

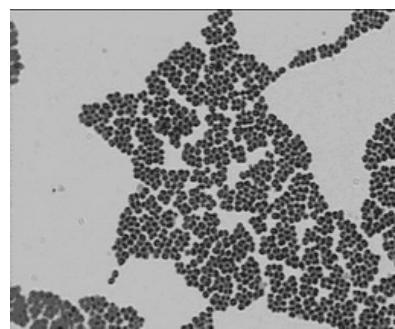
اثر دادن عصاره‌ها روی باکتری‌ها

اثر دادن عصاره‌ها با دو روش رقیقسازی در آگار و روش دیسک گذاری انجام شد.

الف- روش مستقیم: غلظت‌های مختلف از هر عصاره وارد محیط کشت باکتری شد. عصاره‌ی آبی در مقادیر $0 - 10$ میلی گرم در لیتر یا $0.1 - 0.01$ میلی گرم در میلی لیتر (به مقادیر $0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8$ و 10 میلی گرم در لیتر) به محیط کشت‌ها اضافه و برای میکروب‌زدایی، در دمای 120 درجه با



شکل شماره ۱- نمایش باکتری‌های جوش‌های پوستول پوست صورت (A) در رنگ‌آمیزی گرم



شکل شماره ۲- نمایش باکتری‌های جوش‌های پوستول پوست پشت و گردن (B) در رنگ‌آمیزی گرم

باکتری نسبت به شاهد (غلظت 10^0) درصد کاهش نشان دادند ولی بعد از آن شدت کاهش افزایش یافته و در غلظت 10^1 میلی‌گرم در لیتر نزدیک به 100^0 و در غلظت 10^2 میلی‌گرم در لیتر هیچ باکتری در محیط رشد نکرد و کاهش 100^0 درصد شد.

پ- عصاره‌ی آبی کاسبرگ

کاهش از غلظت 10^0 میلی‌گرم در لیتر شروع شد و در غلظت 10^1 میلی‌گرم در لیتر اصلاً هیچ باکتری رشد نکرد و باعث حذف 100^0 درصد کلنی‌ها شد. با این یافته‌ها می‌توان گفت که ماده‌ی ضدباکتری در هر دو اندام گلبرگ و کاسبرگ انباسته می‌شود ولی انباستگی آن در کاسبرگ‌ها بیشتر از گلبرگ‌ها است چون عصاره‌ی کاسبرگ‌ها در مقدار کمتری 10^1 میلی‌گرم در لیتر به جای 10^0 میلی‌گرم در لیتر گلبرگ) اثر بازدارندگی 100^0 درصد داشت.

الف- گل

غلظت 10^1 میلی‌گرم در لیتر غلظت مؤثر روی باکتری‌ها بوده و باعث حذف باکتری‌ها در حد $95 - 99^0$ درصد می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت تعداد کلنی‌های باکتری در محیط کم می‌شود و در غلظت 10^2 میلی‌گرم در لیتر به کمترین حد یعنی حدود صفر می‌رسد. با به دست آمدن این نتایج غلظت عصاره به 10^2 میلی‌گرم در لیتر رسانده شد که منجر به عدم رشد و نابودی همه‌ی باکتری‌ها و کاهش 100^0 درصد کلنی‌ها شد.

برای اینکه مشخص شود، ماده‌ی ضدباکتری در گلبرگ‌ها انباسته می‌شود یا در کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها از هم جدا و عصاره‌ی آبی آنها تهیه و روی باکتری‌ها اثر داده شد.

ب- عصاره‌ی آبی گلبرگ

با افزایش غلظت عصاره از 10^0 تا 10^1 میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت، در غلظت 10^1 میلی‌گرم در لیتر تعداد کلنی‌های



جدول شماره ۱- نمایش اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های آبی اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارگوانی بر باکتری A براساس درصد

باقیمانده‌ی کلنتی‌های باکتری در محیط کشت

												*mg/l
												اندام
۱۲	۱۰	۸	۶	۴	۲	۱	۰/۵	۰	کل گیاه	گلبرگ	کاسبرگ	
(%) ۰	(%) ۰/۷	(%) ۰/۴۴	(%) ۱	(%) ۲	(%) ۱/۶	(%) ۲۴	(%) ۴۵	(%) ۱۰۰	۰	۰	۰	
۰	۰	۰/۳	۱/۵	۲/۵	۲/۸	۳۰	۵۵	۱۰۰	۰	۰	۰	
۰	۰	۰	۰	۱	۲	۲/۷	۴۲	۱۰۰	۰	۰	۰	
۰	۰	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۵	۴۰	۵۲	۱۰۰	۰	۰	۰	
۰	۰	۰	۰/۰۱	۲۰	۲۲	۵۴	۸۰	۱۰۰	۰	۰	۰	

* مقدار عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر محیط کشت

روی هر دونوع باکتری A و B (حتی عصاره‌ی الکلی گلبرگ و کاسبرگ) بسیار ناچیز و غیرقابل توجه بود. در کل حدود ۹۵ درصد کلنی‌ها باقی و فقط ۵ تا ۲۰ درصد کلنی‌ها از بین رفتند. عصاره‌ی الکلی برگ سنبله‌ای ارگوانی با غلظت ۱۴ میلی‌گرم در لیتر بر روی باکتری نوع B باعث نابودی ۹۹ درصد کلنی‌ها و باقی ماندن فقط ۱ درصد شد.

۴- عصاره‌ی فلی هیدرولیزی

ابتدا عصاره‌ی فلی از نمونه‌هایی از عصاره‌هایی که اثر بازدارنده روی باکتری داشتند استخراج و مشخص شد که عصاره‌ی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر آن که از ۱۴ میلی‌گرم عصاره‌ی خشک الکلی برگ جدا شده بود و غلظت آن ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر بود روی هر دو نوع باکتری اثر مشابه داشته و توانایی از بین بردن ۹۵ درصد کلنی‌های باکتری را دارد. فقط ۵ درصد کلنی‌های باکتری در محیط کشت باقی بودند.

۵- عصاره‌ی فلی محلول در آب

این عصاره در شرایط بازی زرد رنگ و در شرایط اسیدی صورتی بود. این تفاوت رنگ در محیط اسیدی و بازی نشان‌دهنده‌ی حضور آنتوسیانین‌های فلی در این محلول است. این عصاره از همه قسمت‌های گیاه سنبله‌ای ارگوانی جدا و در همان غلظت وارد محیط کشت شد ولی فاقد اثر بازدارنده‌ی رشد روی هر دو نوع باکتری بود و باعث تشکیل کلنی‌های بزرگ‌تر باکتری در محیط کشت شد.

ت- عصاره‌ی برگ سنبله‌ای ارگوانی

مشاهدات نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ی آبی برگ، رشد باکتری‌ها کاهش یافته و در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر به نزدیک صفر می‌رسد. در غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر این اثر بازدارنده‌ی ۱۰۰ درصد رسیده و تعداد کلنی‌ها کاملاً صفر می‌شود.

ث- عصاره‌ی آبی ساقه

در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش شدید باکتری‌ها و در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر با کاهش بیش از ۹۹ درصد کلنی‌های باکتری تقریباً سبب حذف کامل باکتری‌ها (نزدیک به صفر) شد.

۲- عصاره‌های آبی روی باکتری نوع B

نتایج اثر عصاره‌های آبی گیاه سنبله‌ای ارگوانی روی باکتری نوع B بسیار شبیه به نتایج اثر این عصاره‌ها روی باکتری نوع A بود ولی تنها مورد تفاوت بالا بودن غلظت مؤثر در حدود ۲ میلی‌گرم نسبت به باکتری نوع A بود (جدول شماره ۲).

اثر عصاره‌ی ساقه‌ی سنبله‌ای ارگوانی روی باکتری B تا غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر ناچیز ولی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به شدت افزایش یافت و کلنی‌های باکتری ۹۸ درصد کاهش داشتند.

۳- عصاره‌های الکلی سنبله‌ای ارگوانی

عصاره‌ی الکلی سنبله‌ای ارگوانی با همان مقادیر عصاره‌ی آبی به محیط کشت اضافه شد ولی اثرات ضدبacterیالی آن



جدول شماره ۲- اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های آبی اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارغوانی بر باکتری B

براساس درصد باقیمانده‌ی کلنتی‌های باکتری در محیط کشت

									*mg/l
									اندام
۱۲	۱۰	۸	۶	۴	۲	۰			
(٪) ۰	(٪) ۱	(٪) ۲	۱/۸ (٪)	(٪) ۳۰	(٪) ۹۰	(٪) ۱۰۰	کل		
۰	۲	۳	۲/۸	۳۰	۶۰	۱۰۰	گلبرگ		
۰	۰	۱	۲	۲/۷	۵۲	۱۰۰	کاسبرگ		
۰	۱	۱	۲	۳۵	۶۵	۱۰۰	برگ		
۰	۲	۱۵	۸۰	۹۰	۹۵	۱۰۰	ساقه		

* مقدار عصاره بر حسب میلی گرم در لیتر محیط کشت

روی باکتری B مشابه است. عصاره‌ی الكلی برگ اثری مشابه آمپی‌سیلین داشت (جدول شماره ۳).

بحث

محیط کشت مولر هیتتون آگار برای هر دو استافیلولکوس اورثوس و اپیدرمیدیس مطابق گزارش برخی پژوهشگران [۲۳، ۲۴] مناسب بود اگر چه گزارش‌هایی نیز از استفاده‌ی محیط‌های بلاد آگار و نوترینت آگار برای کشت این باکتری‌ها وجود دارد [۲۵، ۲۶، ۲۷].

نوع باکتری مولد جوش مطابق گزارش آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر استافیلولکوس اپیدرمیدیس بود که با مشخصه سفید بودن کلنی و اجتماعات انگوری این باکتری مطابقت می‌کند [۱- ۷]. عصاره‌های آبی بخش‌های هوایی سنبله‌ای ارغوانی روی دو نوع خالص با کلنی‌های کوچک سفید رنگ از جوش‌های پوستول پوست صورت (A) و پوست پشت و گردن (B) اثر ضدمیکروبی داشتند که با اندک گزارش‌های در دسترس همسانی دارد [۲۱]. اثر عصاره‌ی ساقه کم ولی اثر عصاره‌های دیگر به ویژه کاسبرگ بالا بود. عصاره‌ی الكلی به جز عصاره‌ی برگ روی باکتری (B) تقریباً بی‌اثر بود. از عصاره‌های فنلی هیدرولیزی و محلول در آب فقط عصاره‌ی برگ اثر ضدمیکروبی روی باکتری گردن و پشت داشت.

- دیسک‌گذاری عصاره‌ها و مقایسه با آمپی‌سیلین

برای دیسک‌گذاری آمپی‌سیلین و هر عصاره، از ۹ دیسک میکروگرمی استفاده و نتایج بر اساس قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری بررسی شد (جدول شماره ۳).

دیسک‌گذاری آمپی‌سیلین روی محیط به تشکیل هاله‌هایی به قطر ۱۷/۲ میلی‌متر برای باکتری A و ۲۰ میلی‌متر برای باکتری B منجر شد.

عصاره‌های آبی برگ، کل گیاه و گلبرگ: در دیسک‌گذاری با روش دوم، قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک عصاره‌های آبی برگ، کل و گلبرگ سنبله‌ای ارغوانی برای هر دو نوع باکتری به ۱۷-۱۷/۲ میلی‌متر رسید.

عصاره‌ی آبی کاسبرگ: هاله‌ی عدم رشد باکتری در دیسک‌گذاری با عصاره‌ی آبی کاسبرگ برای باکتری A به قطر ۲۱/۱ میلی‌متر و برای باکتری B به ۱۹/۸۵ میلی‌متر رسید.

عصاره‌ی آبی ساقه روی هر دو باکتری بی‌اثر و هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف آن تشکیل نشد.

در بین عصاره‌های الكلی، فقط عصاره‌ی الكلی برگ اثر داشت و هاله‌هایی به قطر ۲۰/۲۴ میلی‌متر روی باکتری A و ۲۰/۰۱ روی باکتری B ایجاد کرد.

مقایسه‌ی آماری نشان داد که اثر عصاره‌های آبی کل گیاه، گلبرگ روی باکتری A با آمپی‌سیلین در یک سطح ولی روی باکتری B کمتر از آمپی‌سیلین است. عصاره‌ی آبی کاسبرگ روی جلوگیری از رشد باکتری A بیشتر از آمپی‌سیلین ولی



جدول شماره ۳- مقایسه آماری اثر آمپیسیلین و عصاره‌های اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارغوانی بر دو باکتری A و B با روش دیسک‌گذاری و براساس قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری بر حسب میلی‌متر

B	A	باکتری	ماده	
			آمپیسیلین	کل - آبی
۲۰ b	۱۷/۲ c			
۱۷/۰۳ c	۱۷ c			
۱۷/۱ c	۱۷/۲ c			
۱۹/۸۵ b	۲۱/۱ a			
۱۷/۱ c	۱۷/۲c			
۲۰/۰۱ b	۲۰/۲۴ b			

از نظر اثر عصاره‌ها روی دو باکتری جوش گونه و پشت و گردن تفاوت‌های جزئی مشاهده شد. با توجه به یافته‌های حاصل می‌توان گفت که عصاره‌های گیاه سنبله‌ای ارغوانی اثر باکتری‌کشی قوی دارند.

بروز جوش‌های صورت و بدن به طور همزمان با بلوغ جنسی و به علت بسته شدن غدد چربی پوست در ناحیه‌ی صورت و گردن، پوست و کمر است که همراه با التهاب و تورم و سرخی و عفونت ناشی از حضور باکتری‌های مختلف مثل استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس است. با توجه به آنچه گفته شد باید از داروئی برای پیشگیری و درمان این ناهنجاری پوست استفاده کرد که سمی و مضر نباشد، خاصیت ضدبакتریایی داشته باشد، ضدالتهاب و تورم باشد، باعث نرمی و کشش پذیری پوست و باعث جلوگیری از بسته شدن منافذ چربی شود و در نهایت روی هورمون‌های جنسی اثر داشته باشد. گیاه سنبله‌ای ارغوانی این خواص را دارد. در این پژوهش برای اولین بار در دنیا، اثر عصاره‌های این گیاه روی باکتری‌های جوش مطالعه شده است. از آنجایی که هم‌اکنون در دنیا از عصاره‌های گیاهی به عنوان داروهای ضدمیکروبی سالم و ایمن برای درمان عفونت‌ها، التهاب، دهان شویه و ضدعفونی‌کننده‌ی زخم‌ها استفاده می‌شود [۲۹] و با توجه اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های این گیاه روی رشد باکتری‌های مولد جوش که در این پژوهش به دست آمد، می‌توان از عصاره‌های آن‌ها پمادهای مؤثر ضدجوش، التهاب و ترمیم‌کننده تهیه و از

در این پژوهش برای اولین بار از روش اضافه کردن عصاره‌ی گیاه به محیط کشت استفاده شد که با نتایج حاصل می‌توان گفت که مواد ضدباقتری گیاه سنبله‌ای ارغوانی مقاوم به دما هستند.

در روش دیسک‌گذاری مشخص شد که بیشتر عصاره‌های به دست آمده روی باکتری‌های مورد مطالعه اثر بازدارنده دارند. در این روش اثر این عصاره‌ها با آمپیسیلین مقایسه شد و مشخص شد که اثر میکروب‌کشی عصاره‌های گیاه سنبله‌ای ارغوانی در حد و یا حتی بالاتر از آمپیسیلین است.

بررسی کلی نتایج نشان می‌دهد که اثر میکروب‌کشی عصاره‌های آبی کل گیاه، گلبرگ، برگ و کاسبرگ برای هر دو نوع باکتری در روش رقیق‌سازی (جدول شماره ۱ و ۲)، با روش دیسک‌گذاری (جدول شماره ۳) مطابقت دارد ولی عصاره‌ی آبی ساقه که در روش رقیق‌سازی اثری مشابه گلبرگ و برگ داشت، در روش دیسک‌گذاری بی‌اثر است. این نتیجه می‌تواند ناشی از افزایش مواد ضدباقتریایی ساقه با دما باشد. اگر چه اثر میکروب‌کشی در اکثر عصاره‌های الكلی در هر دو روش رقیق‌سازی و دیسک‌گذاری مشاهده نشد ولی عصاره‌ی الكلی برگ در روش دیسک‌گذاری اثری مشابه آمپیسیلین نشان داد. شاید این نتیجه نشان دهنده‌ی مواد ضدباقتری حساس به دما در برگ باشد که در روش رقیق‌سازی با انوکلاو تجزیه می‌شود.

با توجه به این شواهد، می‌توان احتمال داد که چندین گروه از مواد بازدارنده‌ی رشد باکتری، در اندام‌های مختلف این گیاه وجود دارد که حساسیت آنها به دما متفاوت است.



و جوانان و صرف هزینه‌های گراف بی اثر جلوگیری کرد.

بروز ضایعات جوش‌های پوستی، اثرات روانی آن بر نوجوانان

منابع

1. <http://daneshnameh.roshd.ir/marara>.
2. <http://www.tebyan.net/advertisement>.
3. <http://www.irandema.com/o.zargari.htm>.
4. <http://www.irdrug.com/index.html>.
5. http://www.acne.com/treatment/proactive,p_hp.
6. <http://www.skncarephysicians.com/acnenet>.
7. <http://www.aad.org/findaderm>.
8. <http://biomarker.cdc.go.kri8080/pathogen-view-en>.
9. <http://www.buddycom/bacteria/gpc/staphmr41g.jpg>.
10. Delnavaz Hashemloian B. and Azra Ataei Azimi, Properties of Medicinal and Edible plants, Islamic Azad university publishers, 2008, p: 175 - 6.
11. Sindambiwe JB, Calimme M, Cos p, Totte J and Pieters L. Medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacol.* 1999; 65: 71 - 7.
12. Ataei Azimi A, Delnavaz Hashemloian B and Mansor Ghanaie A. Antifungal effects of water, alcoholic and phenolic extracts of seeds and leaves of *Sorghum bicolor* on *Fusarium solani* and *F. poae*, *J. Medicinal Plants (anti-microbial plants)*, 2007; 6 (1): 26 - 32.
13. Ziai SA, Hamkar R, Nooroz-Babaei Z, Adibi L. Antiviral effect Assay of 25 species of various medicinal plants in Iran, *J. Med. Plants (anti-microbial plants)*, 2007; 6 (1): 1 - 9.
14. Meruelo D, Lavie G and Lavie D. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity as effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin, *Proc, Natl. Acad. Sci*, 1988; 85: 5230 - 6.
15. Amiri H. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Allium jesdianum* from Iran, *J. Med. Plants (anti-microbial plants)*, 2007; 6 (1): 39 - 44.
16. Hughes BA, Lawson L. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. garlic compounds, *Phytother Res.* 1991; 5: 154 - 8.
17. Ghahraman A. Cromophytes of Iran, Markaz Nashre Daneshgahi, 2003, 2: 290, 249, 169, 122, 116.
18. Rezazadeh S, Kebryaezadeh A and Pirali- Hamedani M. Anti – inflammatory and analgesic activity of methanolic extracts of *Stachys*, *DARU* 2005; 13: 4: 165 – 9.
19. Javidnia K, Mojtaba F and Mojahedi SA. Chemical constituent of essential oil of *Stachys Lavandulifolia* Vahi from Iran, *Iranian Journal of Pharmaceutical Res.* 2004; 3: 61 – 3.
20. Maleki N, Garjani A, Nazemih H and Nilforoushan potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extracts from aerial parta of *Stachys inflata* on rats, *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 213 – 8.
21. Morteza – Semnani K, Akbarzadeh M and Changizi S. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia* and *S. laxa* from FIran, *Flavour and Fragrance J.* 2006; 21 (2): 300 - 3.
22. Bauer AW, Kirby WM, Shreeves JC and Truuk M. Antibiotic susceptibility by standardized single method, *Am. J. Chin. Phathol.* 2000; 45: 493 - 6.



- 23.** Vlientink AJ and Van Hoof L. Screening of a hundred medicinal plants for antimicrobial properties, *J. Ethnopharmacol.* 1995; 46: 31 - 47.
- 24.** Abbasi N, Azizi Jalilian F, Adabi M. Saifmanesh M. A comparative study of antimicrobial of *Scrophularia strata*, *J. Med. Plants (anti-microbial plants)*, 2007; 6 (1): 10 - 8.
- 25.** Bonyadian M, Moshtaghi H. The effects of some herbs essential oil on *S. aureus* in feta cheese, *J. Med. Plants (anti-microbial plants)*, 2007; 6 (1): 19 - 25.
- 26.** Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12: 564 – 82.
- 27.** Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 2003; 10: 813 – 29.
- 28.** Palombo E. A. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity Against Oral Bacteria. *Evid Based Complement Alternat Med. Rev.* 2009; 2: 1 – 15.
- 29.** National Committee for Clinical Laboratory Standards Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Wayne, Pa. 2001, pp: 1 – 16.
- 30.** Otto M, "Staphylococcus epidermidis - the 'accidental' pathogen", *Nature Reviews Microbiol.* 2009; 7 (8): 555 - 67.



The Study of Antibacterial Activities of *Stachys inflata* Benth. Extracts on some *Staphylococcus* Species of Human Skin Eruption

Ataei Azimi A (Ph.D.)^{1*}, Rashidian Dezfooly B (B.Sc.)², Delnavaz Hashemloian B (Ph.D.)¹

1- Department of Biology, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran

2- Department of Young Researchers, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran

*Corresponding author: Department of Biology, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran, P.O.Box: 39187-366

Tel: +98 – 255 – 2241552 – 3, Fax: +98 – 255 – 2240111

E-mail: attaei@iau-saveh.ac.ir

Abstract

Background: Skin eruption is a disease that it is because of skin necrosis and adolescence and youth depression. The some species of *Staphylococcus* are agent of this disease. There isn't effective drug for curing of this disease. Many of medicinal plants (e.x. *Stachys inflata* Benth.) have anti- bacterial compounds and they can be used as a drug to cure skin eruption disease.

Objective: This research was done to evaluate the antibacterial effect of *Stachys inflata* extract.

Methods: In this study, anti-bacterial effect of water, alcoholic, phenolic extracts of *Stachys inflata* (Labiatae.) on Staphylococcal skin eruption was Investigated.

Effect of different concentrations extracts of *Stachys inflata* leaf, stem and flower was tested by to add in medium culture of *Staphylococcus* of skin eruption before autoclaving and bacteria was added in medium culture after autoclaving.

Results: The results showed that some concentration of water extracts of *Stachys inflata* flower and leaves have strong anti-microbial effects. They deleted complete *Staphylococcus* of skin eruption in growth medium.

Conclusion: Anti-bacterial activities of *Stachys inflata* was analogous with ampicilin, and than some was better.

Keywords: Anti-bacterial activities, *Stachys inflata*, *Staphylococcus*, Skin eruption

