

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

الله کیائی^{۱*}, مصصومه مازندرانی^۲, عزت‌الله قائمی^۳

- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان
 - استادیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان
 - دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشجو، مجتمع دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان
- *درس مکاتبه: گرگان، بلوار شهید کلانتری، خیابان دانشجو، مجتمع دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گروه میکروبیولوژی، صندوق پستی: ۷۱۷-۴۹۱۴۷-۳۹۹۷۵، کدپستی: ۰۱۷۱۳۳۵۱۰۰۳ (داخلی ۳۰۳) پست الکترونیک: elahhe_kiae81@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 متعدد، 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 حداقل میانگین قطر هاله عدم رشد $29/4$ میلی‌متر علیه باکتری استافیلکوکوس اپیدرمایدیس بهترین اثر را نشان داد. حساس‌ترین باکتری‌ها شامل اسیتوباکتر کالکواستیکوس، استافیلکوکوس اورئوس، استافیلکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلکوکوس ساپروفیتیکوس به ترتیب با قطر هاله عدم رشد $20/1$, $26/4$, $29/4$ و $28/5$ میلی‌متر بودند. باکتری‌های سودوموناس اثروژینوزا، سیتروباکتر فرونودی، کلبسیلا پنومونیه و پروٹوس میراپیلیس نسبت به تمام عصاره گیاهان مورد بررسی مقاومت نشان دادند. همچین عصاره الكلی گیاهان در مقادیر mg/ml 100 بهترین اثر ضدباکتریایی را داشت. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره گیاه زرشک علیه استافیلکوکوس اپیدرمایدیس $0/09 mg/ml$ 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 همچین اثر بهینه ضدباکتریال گونه‌های مورد مطالعه، بررسی مدل‌های حیوانی و تعیین اثرات بالینی آنها در طرح‌های آینده پیشنهاد می‌شود.

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

مقدمه

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 ضدمیکروبی 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، سپتیسمی 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 ضدمیکروبی گونه‌ها، زمینه مناسبی را فراهم می‌نماید که از نتایج این بررسی‌ها جهت جایگزین نمودن داروهایی موثر، با منشاء طبیعی و کم خطر برای کترول 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 الكلی ۲۰ گونه از گیاهان دارویی استان علیه سویه‌های استافیلوكوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که بهترین اثر ضداستافیلوكوکی 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 کترول 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، گرنه و آقطی علیه شایع‌ترین باکتری‌های استاندارد و جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری ضروری می‌نماید.

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 ولگاریس، کلبسیلاپنومونیه، استافیلوكوکوس اپیدرمایدیس، انتروباکتر، سیتروباکتر، سودوموناس ائروژینوزا 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 انتروباکتریا سه بهویژه در جنس کلبسیلا با مقاومت ۱۰۰ درصد چشم‌گیر است. همچنین میزان مقاومت در بین سویه‌های مختلف استافیلوكوکوس اورئوس بین ۷۰ تا ۹۰ درصد و در مورد سایر استافیلوكوک‌های 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 سپروفلوکسازین و آمینوگلیکوزیدهایی مانند جنتامايسین، توبرامايسین 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 سپروفلوکسازین ۸۵ درصد، سفتی زوکسیم $۶۰/۱$ درصد حساس بودند [۵]. در تحقیقی دیگر مقاومت اشرشیاکلی را نسبت به کوتريماکسازول ۶۳ درصد گزارش نمودند [۶]. حال

^۱ Gales

مواد و روش‌ها

شناسایی و جمع‌آوری گیاهان

گونه‌های مورد نظر در فاصله بهار تا آذر ماه ۱۳۸۶ از نواحی مختلف استان گلستان جمع‌آوری و در هر باریوم 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 اندام گیاهی 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 حداقل مواد موثره در اتانول حل شود. پس از عصاره‌گیری عمل جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری با کمک پمپ خلاء انجام شد [۱۱].

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 mg/ml، 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	زيارت
<i>Plantago major</i>	بارهنگ	Plantaginaceae	برگ، ساقه، گل، ریشه	زيارت
<i>Sambucus ebulus</i>	آقطی	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 perforatum</i>	علف چای	Hypericaceae	سرشاخه گل دار	زيارت

* محدوده منطقه از ۱۵۰۰ تا ۲۷۰۰ متری



جدول شماره ۲- مشخصات باکتری‌های پاتوژن مورد مطالعه

نام باکتری	گرم	شناختن سویه‌های استاندارد	تعداد سویه‌های جدا شده از بیماران
استافیلوکوکوس اورئوس	+	PTCC1431	۳
اشرشیاکلی	-	PTCC1399	۱۸
سودوموناس آئروژینوزا	-	PTCC1310	۳
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	+	PTCC1435	۲
پروتتوس میرابیلیس	-	PTCC1076	۲
انتروکوکوس فکالیس	+	PTCC1394	۳
کلبسیلا پنومونیه	-	PTCC1290	۳
اسیتوباکتر کالکوآستیکوس	-	PTCC1318	۶
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	+	PTCC1440	۵
سیتروباکتر فرونندي	-	PTCC1499	۲
انتروباکتر ائروژنر	-	PTCC1221	۸

۱۰ میلی‌متر بیشتر بود، تعیین شد. بدین ترتیب که $100 \text{ میکرولیتر از سوسپانسیون } \text{cfu/ml} \times 10^5$ باکتری را به چاهک‌های الایزا حاوی $100 \text{ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره mg/ml } 100 - 10/1$ اضافه کردیم. تنها چاهک اول (کنترل مثبت) حاوی سوسپانسیون میکروبی و محیط مولر هیتوخون براث و چاهک دوم (کنترل منفی) حاوی سوسپانسیون میکروبی و آنتی‌بیوتیک جنتامايسین بود. بالافاصله OD را با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج 630 نانومتر خوانده و سپس نمونه را در 37°C درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و مجدداً OD آن را در بازه‌های زمانی 12 و 24 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 $100, 50, 25$ میلی‌متر (mg/ml) اثر ضدباکتریایی بسیار خوبی علیه سویه‌های بالینی و استاندارد عامل عفونت مجاری ادراری از خود نشان داد، حداقل میانگین قطر هاله عدم رشد آن $29/4$ میلی‌متر علیه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشد. تمام گونه‌های گیاهی مورد بررسی توانستند کاملاً از رشد باکتری‌های گرم مثبت (اسیتوباکتر کالکوآستیکوس و استافیلوکوکوس اورئوس) جلوگیری نمایند. حساس‌ترین باکتری‌ها اسیتوباکتر

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها

الف- روش انتشار در آگار: ابتدا از تمام سویه‌های باکتریایی سوسپانسیون میکروبی معادل $10/5 \text{ مک فارلن} (1/5 \times 10^8 \text{ cfu/ml})$ تهیه شد و سپس با $100 \text{ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولرهیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. آنگاه دیسک‌های بلانک استریل، حاوی رقت‌های مختلف عصاره، با فاصله معین از یکدیگر از لبه پلیت بر روی سطح محیط کشت آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در 37°C درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و نتایج اثر ضدباکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد. برای حصول اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار شد. میانگین قطر هاله عدم رشد در سه بار تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت شد [۱۲]. قطر هاله عدم رشد کمتر از 8 میلی‌متر به عنوان مقاوم، 8 تا 9 میلی‌متر نسبتاً مقاوم، بیشتر از 10 تا 12 میلی‌متر نسبتاً حساس و بیشتر از 12 میلی‌متر به عنوان حساس در نظر گرفته شد [۱۳]. همچنین از دیسک حاوی پروپیلن گلیکول به عنوان کنترل منفی و از دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.$

ب- روش Broth Microdilution: در این روش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) از رشد عصاره الكلی گیاهانی که قطر هاله عدم رشد آنها در رقت 100 mg/ml از

^۱ Disk Diffusion



اثرگذاری گونه‌های زرشک، آقطی و گزنه استئناهایی هم وجود داشت (جدول شماره ۳). عصاره اتانولی گونه‌های زرشک و علف چای نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها قطره‌هاله 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 طوری‌که کمترین غلظت ممانعت‌کننده از رشد گیاه زرشک 0.09 mg/ml می‌باشد و عصاره اتانولی سایر گیاهان نیز تاثیر بسیار خوبی در غلظت‌های پایین داشتند (جدول شماره ۴).

کالکواستیکوس، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس که بیشترین قطره‌الله عدم رشد آنها به ترتیب $20/1$ (باکتری‌های جدا شده از نمونه بیمار)، 26 (علیه باکتری استاندارد)، $29/4$ (علیه باکتری استاندارد) و $28/5$ میلی‌متر (علیه باکتری استاندارد) بودند. باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا، سیتروباکتر فروندي، 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 100 mg/ml بهترین اثر ضدبакتریایی را نشان دادند. کمترین اثر ضدمیکروبی مربوط به گیاه آقطی ارزیابی شد.

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

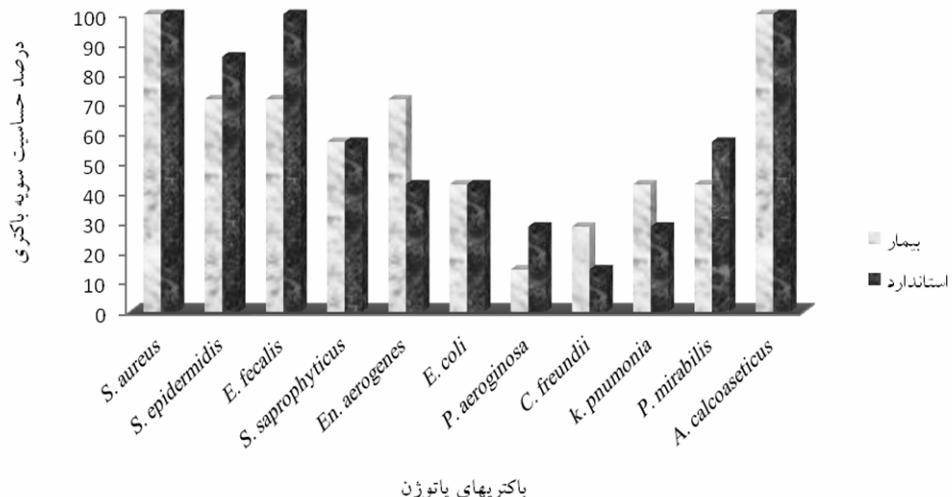
جدول شماره ۳- میانگین قطره‌الله عدم رشد عصاره گیاهان علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران در غلظت 100 mg/ml بر حسب میلی‌متر

نام گیاه	دم اسب	سرورکوهی	باره‌نگ	گزنه	زرشک	علف چای	آقطی	آستاندها									
								آستاندها									
								بیمار	آستاندها								
<i>S. aureus</i>	۱۵/۵	۱۴/۳	۱۱	۱۴/۰	۱۴/۱	۲۶	۱۴	۲۰	۱۳/۰	۱۵/۰	۱۳	۱۶/۹	۹/۸	۱۱	۱۴/۳	۱۵/۵	<i>S. aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	۱۰	۹	۱۲/۴	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۰	۲۹/۴	۱۰	۱۹	۹/۱	۱۴/۸	۱۱/۸	۱۲/۴	۸/۲	۱۰	۱۰	<i>S. epidermidis</i>
<i>E. faecalis</i>	۰	۰	۱۲/۴	۱۷/۸	۱۲/۱	۱۳	۶/۵	۷	۰	۰	۸	۸	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	<i>E. faecalis</i>
<i>S. saprophyticus</i>	۱۰	۸	۱۲	۱۴	۲۸/۰	۱۱	۱۵/۱	۹/۴	۱۱/۴	۸	۱۱/۶	۷	۹	۹	۹	۹	<i>S. saprophyticus</i>
<i>En. aerogenes</i>	۰	۱۱	۶/۵	۱۴/۰	۱۰	۱۰	۰	۰	۸/۱	۰	۶/۵	۸	۸/۰	۸/۰	۸	۸/۰	<i>En. aerogenes</i>
<i>E. coli</i>	۰	۱۱/۰	۱۱	۱۳	۱۴/۰	۰	۰	۰	۹/۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	<i>E. coli</i>
<i>P. aeruginosa</i>	۰	۷	۸	۱۱	۱۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	<i>P. aeruginosa</i>
<i>C. freundii</i>	۰	۸/۵	۰	۹	۱۰	۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	<i>C. freundii</i>
<i>k. pneumonia</i>	۰	۸	۶/۵	۸/۲	۱۳	۹/۵	۷	۰	۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	<i>k. pneumonia</i>
<i>P. mirabilis</i>	۰	۸	۸/۰	۱۱	۱۰	۷/۰	۰	۰	۰	۷	۸	۸	۸/۳	۸/۳	۸	۸/۳	<i>P. mirabilis</i>
<i>A. calcoaseticus</i>	۱۲/۳	۱۳	۱۳	۱۷/۱	۱۹	۱۸/۱	۲۰/۱	۱۷	۱۴/۲	۱۵/۲	۱۴/۸	۱۵/۵	۱۰/۵	۱۰/۵	۱۴	۱۴	<i>A. calcoaseticus</i>

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

***: باکتری‌های استاندارد





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	سروكوهی	بارهنگ	گزنه	علف چای	زرشک	آقطی
میکروارگانیسم							
<i>S. aureus</i>	7/25	25	3/1	7/25	6/25	0/39	25
<i>S. epidermidis</i>	25	25	12/5	3/1	0/09	2/1	50
<i>E. faecalis</i>	50	50	-	-	25	25	-
<i>S. saprophyticus</i>	100	100	25	12/5	0/1	50	100
<i>En. aerogenes</i>	100	100	100	100	25	25	100
<i>E. coli</i>	-	-	100	12/5	50	50	100
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	100	100	-
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	100	100	-
<i>k. pneumonia</i>	-	-	-	-	100	100	-
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	100	100	-
<i>A. calcoaceticus</i>	25	12/5	12/5	1/5	0/7	12/5	50

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

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 اپیدرمایدیس و اسینتو باکتر کالکوستیکوس دارند. سویه های سودوموناس ائروژینوزا، کلیسیلا پنومونیه، انتروباکتر ائروژنر و پروتئوس میرابیلیس و سیتروباکتر فروندي نسبت به عصاره حاصل از گیاهان مورد بررسی مقاومت نسبی نشان دادند. عصاره گیاه زرشک از رشد کلیه سویه های

بحث

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 تاثیر ضدباکتریایی آنها از آنتی بیوتیک جنتاماکسین نیز بیشتر بود. در همه گیاهان تاثیر عصاره ها با کم شدن مقدار آنها در دیسک کاهش می یابد. در واقع اثر ضدباکتریایی عصاره در مقادیر بالاتر به نحو بارزتری پذیدار می شود. در مقایسه با بررسی هایی که در مورد گیاهان

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

نتایج به دست آمده از بررسی چاینگ^۱ در ۲۰۰۲ نشان داد، عصاره اتانولی بارهنگ به همراه چند گیاه دیگر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم منفی از جمله سودوموناس اثروژینوزا، اشرشیاکلی، پروتونوس میرابیلیس، سیتروباکتر، انتروباکتر و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس لوتوس مؤثر واقع شده که بیشترین اثر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده است [۲۱]. حال آنکه در بررسی اثر ضدباکتریایی ۱۷۲ گونه گیاهی منطقه پیرتو 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]. درحالی‌که در این تحقیق عصاره بارهنگ اثر ضدباکتریایی خوبی علیه گونه‌های مختلف استافیلوکوک از خود نشان داد.

مطابق گزارش کمیسیون 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 موثر می‌داند [۲۳].

مطالعات آزمایشگاهی و کلینیکالی فُوكسمَن^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 مجرای 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 موثر

استاندارد و جدا شده از بیماران جلوگیری نمود و حداقل غلظت بازدارنده از رشد $0/09\text{ mg/ml}$ ارزیابی شد.

دولگر^۱ و همکارانش اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی ۱۶ گیاه دارویی از جمله سرشاخه‌های هوایی گزنه، برگ علف چای، برگ بارهنگ و ... را علیه باکتری‌های عامل عفونت‌های *Salmonella typhi*، *S. aureus*، *E. coli*، *Proteus mirabilis*، *P. aeruginosa* و نشان دادند که عصاره‌های مورد آزمایش اثر ضدمیکروبی قوی علیه استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند. در این تحقیق نیز عصاره‌های اتانولی تمام گیاهان اثر خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس داشتند، به طوری‌که حداقل قطر هاله عدم رشد آنها ۲۶ میلی‌متر مربوط به گیاه علف چای 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 بازدارنده‌گی خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس دارند به طوری‌که اثر ضدباکتریال آن از آنتی‌بیوتیک کلرامفینیکل نیز قوی‌تر گزارش شده است [۱۶]. در تحقیقات مشابه دیگر مشخص شد که عصاره گیاه گزنه دارای اثرات ضدمیکروبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکنس و سودوموناس اثروژینوزا می‌باشد [۱۷، ۱۸].

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

در تحقیقی مشابه شاله^۵ 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 اثروژینوزا با روش انتشار در آگار بررسی و بیان کردند که شش گونه از گونه‌های فوق اثر

¹ Chiang
³ Foxman

² Puerto Rico
⁴ Dall'Agnol

¹ Dulger

² Shale



تهیه رقت‌های مختلف از عصاره‌ها (mg/ml) ۱۲/۵...۲۵، ۵۰، ۱۰۰ آنها 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 مجده، مهرابیان (۱۳۸۲) و ایرانی‌خش (۱۳۸۵) مطابقت دارد [۱۹،۳۰]. که در تحقیقات مشابه این مسئله 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 ضدمیکروبی موجود در عصاره‌ها را استخراج کرده و اثرات ضدبакتریال آن را در شرایط *In vivo* و بالینی مورد بررسی قرار داد.

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

می‌باشد [۲۵]. مرا [۱] و همکاران در ترکیه عصاره الکلی گیاه *H. perforatum* را علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی، انتروباکتریاژروژنر، سودوموناس اثروژینوزا و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، انتروکوکوس فکالیس 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 اپیدرمایدیس نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری نماید [۲۸]. در حالی که دم اسب جمع‌آوری شده از منطقه درازنو (استان گلستان) اثر مهاری قوی‌تری روی استافیلوکوکوس اورئوس داشت. قابل ذکر است که تفاوت اثر فعالیت ضدبакتریایی 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 ضدبакتریایی آن موثر می‌باشد. با توجه به تحقیقات شهیدی، اثر ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی آنها کاسته می‌شود. ما نیز آزمایش‌های ایشان را ادامه داده و ضمن

¹ Meral

منابع

- 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 specterum of 22 antimicrobial agents tested againsturinary tract infecting pathogens in hospitalized patients in Latin America. *Antimicrobial agents Chemotherapy* 2000; 45 (3): 295 - 303.
 5. Mokhtarian H, Ghahremani MVand 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. Omidi M. Evaluation of the bacterial causes of Urinary Tract Infections in 6 mounths. *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. *Medcal 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. Exteraction method and bioautography for evalution 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 Staphylococa. *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 (cus) cooperative extention: Agriculture Experiment station researcher discovers herbal treatment for antibiotic resistant staph. 2003, pp: 3 - 7.
 17. Gulcin I, Kufreviolu OI, Oktay M. Antioxidant, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90 (3): 205 - 15.
 18. Jaffari Z. Evalution 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 Jafary Z. The study of antimicrobial effects of *Urtica dioicas* 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 Vonposer 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. Internasal 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 plant against multi-drug resistant human pathogens. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 74: 113 - 23.

