



بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی و آبی گیاه بن سرخ (*Allium Jesdianum*) بر روی تعدادی از باکتری های بیماری زا با مقاومت دارویی گسترده

علی غلامی^۱، محمد رضا عربستانی^{۲*}، مهرداد احمدی^۳

۱. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، مرکز پژوهش دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲. استادیار میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۳. کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

چکیده

مقدمه: با توجه به افزایش روز افزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها و وجود ترکیبات ضد باکتریایی در گیاهان، در این مطالعه تاثیر عصاره ی متانولی و آبی گیاه بن سرخ بر روی تعدادی از باکتری های بیماری زا بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه ی مداخله ای، عصاره های متانولی و آبی از گیاه بن سرخ تهیه گردید. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره های حاصل با دو روش برات میکروداپلوشن و انتشار در چاهک بر روی باکتری ها ی مورد نظر در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین انجام گرفت. به منظور آنالیز آماری از آزمون T دو نمونه مستقل استفاده شد.

یافته ها: عصاره ی متانولی بر روی تمامی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی استفاده شده در این مطالعه به جز انتروکوکوس فکالیس تاثیر داشت ($P < 0/05$). بیشترین قطر هاله ی عدم رشد در استرپتوکوکوس پیوژنز و سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد که تا ۱۲ میلی متر هم رسید و MIC برای این دو باکتری معادل ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. عصاره ی آبی این گیاه بر روی همه ی باکتری های مورد آزمایش بجز انتروکوکوس فکالیس تاثیر داشت ($P < 0/05$). عصاره ی آبی نسبت به عصاره ی متانولی تاثیر بهتری را نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده و افزایش روز افزون مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک های شیمیایی پیشنهاد می شود با مطالعات بیشتر بر روی این گیاه بتوان از ترکیبات ضد باکتریایی این گیاه در درمان باکتری ها استفاده نمود.

مشخصات مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۰۴

واژگان کلیدی

گیاه بن سرخ
خاصیت ضد میکروبی
مقاومت دارویی
عصاره متانولی
عصاره آبی

نویسنده مسئول

محمد رضا عربستانی، استادیار میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تلفن: ۰۸۱-۳۸۳۸۰۷۷

ایمیل: Mohammad.arabestani@gmail.com

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است

مقدمه

یکی از مشکلات کنونی درمان عفونت های باکتریایی افزایش مقاومت آنها به آنتی بیوتیک ها می باشد. باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک باعث مرگ و میر قابل توجهی درمقایسه با باکتری غیرمقاوم می شوند [۱-۴]. از بین باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک که ایجاد عفونت های بیمارستانی

(Nosocomial Infections) می کنند می توان به گونه های انتروباکتریاسه، سودوموناس، اسینتوباکتر و از بین باکتری های گرم مثبت می توان به گونه های استافیلوکوک، استرپتوکوک و انتروکوک اشاره کرد [۵، ۶]. با افزایش روز افزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، تلاش در پی جایگزین کردن



شد فقط به جای متانول و DMSO از آب مقطر استفاده گردید، پس از آن عصاره ها سانتریفیوژ (۲۵۰۰ دور بر دقیقه تا ۱۰ دقیقه) و فیلتر (۰/۴۵ میکرومتر) شد. با توجه به وزن خشک عصاره و حجم حلال، غلظت استوک ها (عصاره های متانولی و آبی به ترتیب ۱۳۰ و ۲۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر) به دست آمد که برای انجام آزمایش حساسیت ضد میکروبی از آن رقت سریالی تهیه شد [۱۲-۱۴].

باکتری های مورد مطالعه: در این مطالعه اثر عصاره ی متانولی و آبی گیاه بن سرخ را در ۸ گونه ی باکتریایی استاندارد ATCC (American Type Culture Collection) و ۸ گونه ی باکتری جدا شده از عفونت بیمارستانی با مقاومت دارویی گسترده بررسی گردید [۱۵]. از هر کدام از این باکتری ها یک سویه ی استاندارد و یک سویه ی بیمارستانی با مقاومت دارویی گسترده انتخاب گردید. باکتری های مقاوم از واحد میکروب شناسی بیمارستان های شهر همدان گردآوری شد. که مقاومت آنها نسبت به آنتی بیوتیک ها مجددا در واحد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان بر اساس دستورالعملی که در قسمت ذیل ذکر شده است، بررسی گردیدند. اکثر سویه های ATCC نیز از واحد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان و چند مورد آن نیز از بیمارستان شهید بهشتی و بیمارستان فرشچیان گردآوری شدند. این باکتریها در جدول ۱ ذکر شده اند.

روش تعیین حساسیت به آنتی بیوتیک و عصاره ها: ابتدا سویه های با مقاومت دارویی گسترده و سویه های استاندارد بر اساس دستورالعمل های استاندارد آزمایشگاهی و کلینیکی CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) برای انجام آنتی بیوگرام از لحاظ مقاومت به آنتی بیوتیک ها بررسی شدند؛ به این صورت که بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (شرکت سیگما آلدريج آمریکا) باکتری های مورد نظر بر اساس غلظت نیم مک فارلند توسط سوآپ کشت داده شدند و دیسک های آنتی بیوتیک (پادتن طب، ایران) با توجه به دستورالعمل و غلظت مقرر شده در استاندارد بین المللی که در فرانس شماره ۱۵ برای بررسی مقاومت دارویی باکتریها ذکر شده است، بر روی آن قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در

درمانهای جدید در سراسر جهان در حال انجام است [۷]. در این مورد از جمله موارد امید بخش، استفاده از گیاهان دارویی می باشد که با بدن انسان سازگاری بالایی دارند.

گیاه بن سرخ (*Allium Jesdianum*) یک گیاه گلدار است که به طور وحشی می روید و متعلق به خانواده Lilaceae می باشد و بومی ایران است. این گیاه در ارتفاعات ۱۸۰۰-۲۶۰۰ متری رشد می کند. یک گیاه پیازدار است که به ارتفاع حدود ۵۰ سانتی متری رشد می کند، به طور سنتی از این گیاه برای درمان دردهای شکمی، روماتیسم، استفراغ، سنگ کلیه و سرماخوردگی استفاده می شود [۸-۱۰]. در تنها مطالعه ای که در ایران بر روی تجزیه اسانس روغنی این گیاه انجام گرفته است مشخص شد که ترکیبات سولفیدی و ترپنوئیدی بخش اصلی اسانس این گیاه را تشکیل می دهد [۱۱]. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گرفته شده از اندام های هوایی گیاه بن سرخ بر باکتری های بیماری زا با مقاومت دارویی گسترده و همچنین بررسی اختلاف حساسیت بین سویه های مقاوم و استاندارد باکتری ها در مقابل عصاره های این گیاه می باشد.

روش کار

باکتری های مورد مطالعه: این پژوهش یک مطالعه ی مداخله تجربی بود که در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴ انجام گردید. اندام های هوایی گیاه بن سرخ از ارتفاعات سفید کوه خرم آباد واقع در استان لرستان ایران جمع آوری شد و بعد از تعیین گونه ی آن توسط بخش زیست شناسی دانشگاه لرستان، در سایه خشک و سپس پودر شد، هر دو عصاره به روش خیساندن به دست آمد به این صورت که برای تهیه عصاره ی متانولی ۱۰۰ میلی گرم از پودر را با ۴۰۰ میلی لیتر از متانول ۸۰ درصد مخلوط نمودیم، بعد از ۴ روز در دمای اتاق و همزدن در بعضی از مواقع، با کاغذ واتمن شماره یک صاف گردید و برای تبخیر متانول در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد سپس عصاره ی خشک را با DMSO (Dimethyl Sulfoxid) (۱۰ درصد) به مقدار یک گرم عصاره با ۴ میلی لیتر از حلال حل نمودیم. برای تهیه عصاره آبی نیز به همین صورت عمل



جدول ۱. باکتریهای مورد استفاده در این مطالعه

شماره سویه ی باکتری ATCC	نوع مقاومت	باکتری
سودوموناس آئروژینوزا ATCC ۲۷۸۵۳	*XDR	سودوموناس آئروژینوزا
اشرشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۲	XDR	اشرشیا کلی
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳	XDR	استافیلوکوکوس اورئوس
انتروکوکوس فکالیس ATCC ۲۹۲۱۲	XDR	انتروکوکوس فکالیس
استرپتوکوکوس موتانس ATCC ۲۵۱۷۵	XDR	استرپتوکوکوس موتانس
اسینتوباکتر بومانی ATCC ۱۹۶۰۶	XDR	اسینتوباکتر بومانی
انتروباکتر کلوآکا ATCC ۱۳۰۴۷	XDR	انتروباکتر کلوآکا
استرپتوکوکوس پیوژنز ATCC ۱۹۶۱۵	*MDR	استرپتوکوکوس پیوژنز

*XDR: مقاومت دارویی گسترده. *MDR: مقاومت دارویی چندگانه.

شدند. به این صورت که در روش انتشار در چاهک، از محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد و با حفر چاهک روی محیط کشت توسط پیت استریل (با پیپت شماره ۵ و عمق ۴ میلی متر)، از سوسپانسیون باکتری ها با غلظت معادل نیم مک فارلند در سطح محیط کشت با سوآپ گسترش داده شد و ۳۰ میکرولیتر از عصاره ها در غلظتی که در روش MIC باعث مهار رشد میکروب های مورد نظر گردیده بود (در جدول شماره ۲ غلظت های MIC که برابر غلظت استفاده شده در چاهک می باشد، آمده است) در چاهک ها ریخته شد. سپس نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. برای تعیین میزان بازدارندگی عصاره ها قطر هاله بازدارندگی رشد اندازه گیری شد. از DMSO به عنوان کنترل منفی (بدون عصاره برای اینکه مشخص شود آیا تاثیر ضد میکروبی در عصاره ی متانولی مربوط به DMSO است یا مربوط به عصاره مورد آزمایش)، و از آنتی بیوتیک جنتامایسین برای مقایسه قدرت مهار کنندگی آن با عصاره ها استفاده گردید [۱۶]. در روش برات میکرو دایلوژن برای تعیین MIC، از پلیت ۹۶ خانه استریل استفاده شد و با ایجاد رقت متوالی

دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند، سپس قطر هاله ی عدم رشد اندازه گیری شد. لازم به ذکر است که همه ی آنتی بیوتیک ها از خانواده های متفاوت مورد استفاده قرار گرفت و انتخاب آنتی بیوتیک مورد نظر و طبقه بندی مقاومت باکتری ها به مقاومت دارویی گسترده و مقاومت چند دارویی بر اساس استاندارد بین المللی تعیین شده در رفرنس شماره ۱۵ انجام گرفت که چون الگوی تعیین سطح مقاومت برای هر باکتری متفاوت است جداول مربوط به آنها در اینجا ذکر نشد (برای اطلاعات بیشتر به اصل مقاله مراجعه شود). در بین این آنتی بیوتیک ها جنتامایسین نیز وجود داشت که در اکثر مطالعات به عنوان معیاری برای مقایسه ی قدرت ضد میکروبی عصاره های گیاهی استفاده می شود. در این مطالعه نیز از آنتی بیوتیک جنتامایسین (با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به عنوان معیاری برای مقایسه ی قدرت ضد میکروبی عصاره های گیاهی استفاده گردید. عصاره ها به دو روش برات میکرو دایلوژن (برای به دست آوردن حداقل غلظت مهاری [Minimal Inhibition Concentration] MIC) و انتشار در چاهک (Well Diffusion Method) بر روی باکتری ها آزمایش



در **جدول ۲** آمده است، به علت اینکه تاثیر عصاره ها بر روی تمامی باکتری ها در غلظت بالای ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر (۱mg/ml) بود، در این جدول نتایج به صورت میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شده است. عصاره ی متانولی بر روی همه ی باکتری های گرم مثبت و منفی به جز انتروکوکوس فکالیس تاثیر داشت. بیشترین قطر هاله ی عدم رشد در استرپتوکوکوس پیوژنز استاندارد و مقاوم و سودوموناس آئروژینوزا استاندارد وجود داشت که تا ۱۲ میلی متر هم رسید و MIC برای سویه های این دو باکتری معادل ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. عصاره ی آبی این گیاه بر روی همه ی باکتری های مورد آزمایش تاثیر داشت اما فقط در انتروکوکوس فکالیس ATCC و XDR با وجود مهار رشد در MIC معادل ۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر، در روش حفر چاهک هاله ی عدم رشد مشاهده نشد.

بهترین غلظت عصاره ی آبی در MIC معادل ۷ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی استرپتوکوکوس پیوژنز و اسینتوباکتر بومانی با قطر هاله عدم رشد ۱۲ میلی متر مشاهده شد. جنتامایسین فقط بر روی سویه های استاندارد در MIC معادل ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر تاثیر ضد باکتریایی نشان داد اما بر روی هیچ کدام از باکتری های مقاوم تاثیر نداشت، همچنین در سویه ی ATCC انتروکوکوس فکالیس در MIC معادل ۱ میلی گرم بر میلی لیتر اثر مهاری نشان داد.

نکته جالب توجه در بررسی اختلاف حساسیت سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک و سویه های استاندارد نسبت به این عصاره ها، این بود که در طی استفاده از روش آماری آزمون t دو نمونه مستقل، نتایج آزمون T، اختلاف کمی در سویه های مقاوم باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اسینتوباکتر بومانی را نشان داد اما اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) مشاهده نشد، و سویه های استاندارد و مقاوم به آنتی بیوتیک در تمامی باکتری ها به جز سودوموناس آئروژینوزا نسبت به این عصاره ها حساسیت یکسانی را نشان دادند اما سویه ی جدا شده از عفونت بیمارستانی و مقاوم سودوموناس آئروژینوزا در معرض عصاره متانولی نسبت به سویه ی استاندارد مقاومت بیشتری با اختلاف آماری معنی داری ($P < 0/05$) را از خود نشان داد.

از عصاره ها به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون برات و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت ۱۰۵ CFU/ml در هر چاهک، و سپس انکوبه کردن آن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ساعت انجام گرفت. از محیط و باکتری بدون عصاره به عنوان کنترل مثبت در یک چاهک برای هر باکتری و از محیط و عصاره بدون باکتری به عنوان کنترل منفی در یک چاهک برای هر باکتری و از آنتی بیوتیک جنتامایسین برای مقایسه قدرت مهار کنندگی آن با عصاره ها استفاده شد [۱۷-۱۹]. لازم به ذکر است که ۰/۵۲۰ گرم از عصاره متانولی و ۰/۹۲۰ گرم از عصاره ی آبی استخراج شده با حلال مربوطه حل گردید و غلظت اولیه استوک عصاره متانولی و آبی به ترتیب ۱۳۰ و ۲۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد و از آن ۷ رقت متوالی یک دوم تهیه شد؛ به این صورت که برای MIC در میکروپلیت و برای اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در لوله یک میلی لیتری، ابتدا در ۷ چاهک متوالی ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون برات ریخته شد و به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از استوک اولیه اضافه شد، سپس از چاهک اول بعد از مخلوط کردن کامل با سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک بعدی منتقل شد و مابقی نیز بدین ترتیب ادامه یافت، سپس از استوک به عنوان اولین رقت و از این ۷ چاهک به عنوان رقت های بعدی در آزمایش تعیین حساسیت ضد باکتریایی استفاده شد. همچنین برای اختلاف حساسیت سویه های استاندارد و مقاوم باکتری ها نسبت به عصاره ها از آزمون T دو نمونه مستقل استفاده شد. البته بررسی تاثیر ضد باکتریایی عصاره ها به روش آماری نیاز ندارد و فقط به صورت مشاهده ای می باشد، اما برای اینکه مشخص شود که سویه های باکتری با مقاومت دارویی گسترده در مقایسه با سویه های استاندارد نسبت به عصاره ها حساسیت مشابه ی دارند یا مقاوم تر شده اند از روش آماری آزمون T دو نمونه مستقل در این مطالعه استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج این پژوهش فعالیت ضد باکتریایی عصاره ی متانولی و آبی گیاه بن سرخ بر روی باکتری های ذکر شده



جدول ۲. فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی گیاه بن سرخ بر روی باکتری های مورد مطالعه

باکتری ها	عصاره متانولی		عصاره آبی		جنتامایسین	
	WD ^a	MIC ^b (mg/ml)	WD	MIC(mg/ml)	WD	MIC(mg/ml)
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC	۹	۳۲	۹	۱۴	۱۸	۰/۵
استافیلوکوکوس اورئوس XDR	۸	۳۲	۹	۱۴	-*	-
استرپتوکوکوس پایونز ATCC	۱۲	۱۶	۱۲	۷	۲۳	۰/۵
استرپتوکوکوس پایونز MDR	۱۲	۱۶	۱۲	۷	-	-
استرپتوکوکوس مونتاس ATCC	۸	۳۲	۹	۱۴	۱۹	۰/۵
استرپتوکوکوس مونتاس XDR	۸	۳۲	۹	۱۴	-	-
سودوموناس آئروژینوزا ATCC	۱۲	۱۶	۸	۱۴	۱۹	۰/۵
سودوموناس آئروژینوزا XDR	۸	۳۲	۸	۱۴	-	-
اسینتوباکتر بومانی ATCC	۸	۳۲	۱۲	۷	۱۸	۰/۵
اسینتوباکتر بومانی XDR	۸	۳۲	۱۳	۷	-	-
اشرشیا کلی ATCC	۹	۳۲	۱۰	۱۴	۱۶	۰/۵
اشرشیا کلی XDR	۹	۳۲	۱۰	۱۴	-	-
انتروباکتر کلوآکا ATCC	۸	۳۲	۹	۱۴	۲۰	۰/۵
انتروباکتر کلوآکا XDR	۸	۳۲	۹	۱۴	-	-
انتروکوکوس فکالیس ATCC	-	-	-	۵۶	۷	۱

* (-) نشان دهنده ی عدم فعالیت ضد میکروبی

WDa (Well Diffusion): روش انتشار در چاهک، قطر هاله مهارى (به میلی متر) در اطراف چاهک های عصاره در غلظت

مهارى برابر با روش میکرودايلوشن

MIC^b: حداقل غلظت مهارى (به میلی گرم بر میلی لیتر)



بحث

استاندارد بوده ولی مطالعه حاضر بر روی باکتری های مقاوم به دارو که از کلینیک نیز جدا شده اند، انجام گرفته که اختلاف نتایج می تواند به دلیل نوع گونه های باکتریایی و نیز اختلاف در نوع ترکیبات موجود در گیاهان مورد آزمایش باشد [۲۳]. در مطالعه دیگر توسط تایوب و همکاران، اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی گل، برگ و ساقه گیاه سیاه گینه (*Daphne Oleofolia Lam*) علیه باکتری های اشیشیا کلی، باسیلوس و سودوموناس بررسی کردند و بر اساس نتایج این گروه عصاره گل بیشترین حساسیت و مقاومت به ترتیب روی باکتری های باسیلوس و اشیشیا کلی داشت، در تحقیق حاضر نیز عصاره اتانولی و آبی گیاه گل سرخ بر روی باکتری های مختلف ذکر شده در **جدول ۲** اثر بازدارندگی بسیار خوبی نشان داد اما میزان بازدارندگی عصاره آبی گیاه بر روی رشد باکتریها دارای بازدارندگی بیشتر بود، این اختلاف می تواند به دلیل تفاوت در نوع ترکیبات موثره مختلف در دو جنس گیاه باشد [۲۴]. یک مطالعه بر روی اسانس روغنی این گیاه بن سرخ توسط امیری و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ایران انجام گرفته است که تعداد زیادی از ترکیبات مختلف از آن جدا شده اما فقط اثر ضد باکتریایی عصاره های آن بررسی شده است که تنها بر روی باکتری های استاندارد ATCC مطالعه شده اند و دارای اثر ضد میکروبی بوده است که با مطالعه ی ما مشابه است [۱۱]. از نقاط قوت این مطالعه می توان به سه مورد اشاره کرد، اول اینکه در این تحقیق اثر عصاره ها علاوه بر باکتری های ATCC که در اکثر مطالعات استفاده می شوند، بر روی باکتری های جدا شده از بیماران بیمارستان و با مقاومت دارویی گسترده نیز سنجیده شده است. دوم، مقایسه ی حساسیت باکتری های مقاوم و استاندارد به این عصاره است به نحوی می توان گفت مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک ها موجب مقاومت به ترکیبات ضدباکتریایی این گیاه نمی گردد (به جز در مورد سودوموناس آئروژینوزا که برای اثبات آن به مطالعات مولکولی نیاز است). این عدم مقاومت متقاطع در بین آنتی بیوتیک ها و عوامل ضد میکروبی گیاهان، ممکن است در مورد گیاهان دارویی دیگر نیز صدق کند که در جستجو در دیگر مطالعات این نوع مقایسه انجام نگرفته است تا اثبات این ادعا یا نظر

در دهه های اخیر اولویت تحقیقات برای ساخت داروهای جدید و کارگر افت پیدا کرده است و این درحالی است که جهان با مقاومت های دارویی عوامل بیماری زا روبرو است. یکی دیگر از نگرانی ها در این زمینه هزینه اقتصادی درمان عفونت های مقاوم به دارو (به علت گرانتز بودن داروهای جدید موثر و طولانی بودن زمان درمان عفونت های باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک نسبت به عفونت با باکتری های حساس است که اهمیت یافتن راهی جدید برای درمان را دوجندان می کند [۲۰-۲۲]. عصاره ی آبی گیاه بن سرخ نسبت به عصاره ی متانولی تاثیر بهتری را نشان داد زیرا در MIC پایین تری سبب مهار رشد باکتری ها می شود و در مقایسه با اثر آنتی بیوتیک جنتامایسین چون عصاره ها بر روی سویه های XDR نیز تاثیر داشتند، از این رو عصاره های این گیاه اثر ضد باکتریایی خوبی را نشان داد. داشتن حساسیت یکسان بین سویه های مقاوم و استاندارد نسبت به این عصاره ها در همه ی باکتری ها (بجز در سودوموناس آئروژینوزا) نمایانگر این موضوع است که مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های شیمیایی با این عصاره واکنش متقاطع ندارد و این یک نقطه ی امید برای استفاده از ترکیبات ضدباکتریایی این گیاه در درمان عفونت ها، به خصوص عفونت با باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک است. همچنین می بایست اشاره شود که MIC گزارش شده برای این گیاه مربوط به MIC عصاره می باشد و در صورت جدا کردن ماده ی موثره ی این گیاه که یک یا چند ترکیب از تمام ترکیبات موجود در عصاره است، مطمئنا MIC گزارش شده برای این گیاه خیلی کمتر خواهد بود؛ زیرا عصاره حاوی ترکیبات فراوانی است که فقط تعداد کمی از آنها اثر ضد باکتریایی دارند. مطالعه دیگر توسط جاوید نیا و همکاران، فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه، ساقه و برگ گیاه خوشک (*Daphne Mucronata*) علیه باکتری های باسیلوس سوبتیلیس، اشیشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس گزارش کردند، طبق نتایج این گروه، عصاره ریشه در مقایسه با عصاره های دیگر دارای اثر قوی تری روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس بوده است، نتایج این مطالعه بر روی باکتری های



ها موجب مقاومت به اثر ضد باکتریایی این گیاه نگردیده است، پیشنهاد می شود که با مطالعات بیشتر بر روی ترکیبات اصلی و موثر این گیاه از ترکیبات ضد باکتریایی این گیاه در درمان عفونت با باکتری ها استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از پرسنل آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان بخاطر فراهم نمودن شرایط انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را می نمایند.

تضاد منافع

این مطالعه برای نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی نداشته است.

بررسی شود؛ سوم، اندازه گیری حساسیت ضد میکروبی عصاره ها با دو روش انتشار چاهک و MIC، که در اکثر مطالعات تنها یک روش را انجام می دهند. اما از نقاط ضعف این مطالعه این است که مواد موجود در عصاره ی این گیاه دارویی به صورت جداگانه استخراج و تاثیر ضدباکتریایی آن بررسی نشد تا مشخص شود که خاصیت ضدباکتریایی این گیاه مربوط به چه ماده ای است، که این خود نیازمند مطالعات بیشتری می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و افزایش روزافزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های شیمیایی، و با توجه به اینکه مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های شیمیایی به جز در باکتری سودوموناس آئروژینوزا در دیگر باکتری

References

- Hanberger H, Walther S, Leone M, Barie PS, Rello J, Lipman J, et al. Increased mortality associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the Intensive Care Unit: results from the EPIC II study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011;38(4):331-335.
- Sunenshine RH, Wright M-O, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerging Infectious Diseases*. 2007;13(1):97-103.
- Jassal M, Bishai WR. Extensively drug-resistant tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2009;9(1):19-30.
- Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;36(1):53-59.
- Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *The American Journal of Medicine*. 2006;119(6):20-28.
- Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *American Journal of Infection Control*. 2006;119(6):62-70.
- Mazel D, Davies J. Antibiotic resistance in microbes. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1999;56(9):742-754.
- Akhani H, Ghorbanli M. A contribution to the halophytic vegetation and flora of Iran. *Towards the rational use of high salinity tolerant plants: Springer Netherlands:Kluwer Academic Publishers;1993*.
- Zarrei M, Wilkin P, Ingrouille MJ, Chase MW. *Gagea robusta* (Liliaceae), a new species from Flora Iranica area. *Kew Bulletin*. 2010;65(2):327-336.
- Shafizadeh F. *Medicinal Plants of Lorestan Province*. Tehran: Hayian Publisher;2002.
- Amiri H. *Chemical composition and antibacterial*



- activity of the essential oil of *Allium Jesdianum* boiss and buhse from Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 2007;6(1):39-44.
12. Alo M, Anyim C, Igwe J, Elom M, Uchenna D. Antibacterial activity of water, ethanol and methanol extracts of *Ocimum gratissimum*, *Vernonia amygdalina* and *Aframomum melegueta*. *Journal of Plant Molecular Biology and Biotechnology*. 2012;20(4):124-139.
13. Nazemi A, Hashemi M, Khataminejad M, Pourshamsian K. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Heracleum Persicum*. *Medical Science Journal of Islamic Azad University-Tehran Medical Branch*. 2005;15(2):91-94. (Persian)
14. Marita R, Ogol C, Oguge N, Okemo P. Methanol extract of Three medicinal plants from samburu in northern kenya show significant antimycobacterial, antibacterial and antifungal properties. *Research Journal of Medical Plants*. 2011;5(1):54-64.
15. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(3):268-281.
16. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff) boerl fruit. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(6):3422-3431.
17. Griffin SG, Markham JL, Leach DN. An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 2000;12(2):249-255.
18. Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR. Antibacterial studies on extracts of three species of *Glaucium*. from Iran. *Pharmaceutical Biology*. 2005;43(3):234-236. (Persian)
19. Rišić MD, Duletić-Lausević S, Knezević-Vukcević J, Marin PD, Simić D, Vukojević J, et al. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L.(Lamiaceae). *Phytotherapy Research*. 2000;14(4):267-271.
20. Overbye KM, Barrett JF. Antibiotics: where did we go wrong. *Drug Discovery Today*. 2005;10(1):45-52.
21. McGowan Jr JE. Economic impact of antimicrobial resistance. *Emerging Infectious Diseases*. 2001;7(2):286.
22. Holmberg SD, Solomon SL, Blake PA. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Review of Infectious Diseases*. 1987;9(6):1065-1078.
23. Javidnia K, Miri R, Najafi, RB, Jahromi NK. A preliminary study on the biological activity of *daphne muronata royle*. *Daru Journal of Pharmaceutical Science*. 2003;11(1):28-31. (Persian)
24. Tayoub G, Alnaser A.A, Shamma M. Microbial inhibitor of the *daphne oleifolia lam*.ethanolic extract. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2012;2(1):161-166.



Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics

Ali Gholami¹, Mohammad Reza Arabestani^{2*}, Mehrdad Ahmadi³

1. MSc in Microbiology, Faculty of Medicine, Student Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Brucellosis Research Center, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

3. BSc in Microbiology, Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Article Info

Received: 7 Mar. 2016

Accepted: 24 May 2016

Keywords

Allium Jesdianum
Antibacterial activity
Drug resistance
Methanol extract
Aqueous extract

Corresponding Author

Mohammad Reza Arabestani, Assistant Professor, Department of Microbiology, Brucellosis Research Center, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Tel: +98813838077

Email: Mohammad.arabestani@gmail.com

Citation

Gholami A, Arabestani M, Ahmadi M. [Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics]. Pajouhan Scientific Journal. 2016;14(4):18-26

Abstract

Introduction: Considering growing increase of antibacterial resistance to antibiotics and existing of anti-bacterial compounds in plants, in this study the antibacterial effect of aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant on some species of pathogenic bacteria was evaluated.

Methods: In this experimental study, the aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant were prepared from *Allium Jesdianum* plant. The antimicrobial effects of the extracts were evaluated by two methods: broth microdilution and agar-well diffusion on the bacteria in comparison with Gentamicin. The data were analysed by two independent samples T-test (SPSS-16).

Results: The methanol extracts had a significant antibacterial effect on all examined Gram-positive and gram negative bacteria, except for *Enterococcus faecalis* ($P < 0.05$). The largest inhibitory diameter (12 mm) of growth was seen in *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* strains and MIC for these two strains was obtained at 16 mg/L. The aqueous extract of the leaves of this plant had an effect on all examined bacteria except *Enterococcus faecalis* isolates except for *Enterococcus faecalis* ($P < 0.05$). Also, the aqueous extract influenced better than other methanol extracts ($P < 0.05$).

Conclusion: According to the results of this study and increasing resistance of bacteria to chemical antibiotics, it is recommended that more studies on this plant as an antibacterial compound are needed for treating bacterial infections.