

نقش عصاره آبی سیر در کاهش دفع مدفوعی سالمونلا تیفی موریوم در خرگوشهای آلوده به باکتری

محمد رضا جلالی ندوشن^{۱*}، حسین جعفری^۲، پرویز اولیاء^۳، نادر فلاح^۴ و علی دواتی^۴

۱- عضو هیئت علمی گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، پست الکترونیک: Jalali@shahed.ac.ir

۲- عضو هیئت علمی گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۳- عضو هیئت علمی گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۴- عضو هیئت علمی گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

*نویسنده مسئول مقاله

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۶

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۸۶

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۶

چکیده

سالمونلوز یکی از شایع ترین بیماریهای عفونی در کشورهای در حال توسعه است که برای درمان آن از آنتی بیوتیکها استفاده می گردد. استفاده از آنتی بیوتیک می تواند منجر به عوارض خطرناک ناشی از دارو و مقاومت دارویی گردد. از این رو، از مدتها قبل برای درمان بسیاری از بیماریهای عفونی از گیاهان دارویی استفاده شده که یکی از این گیاهان سیر است که دارای اثرات متنوعی از جمله، اثرات ضد باکتریایی می باشد. در مورد اثر سیر به صورت *in vivo* بر روی سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) مطالعه نشده است و در این مطالعه نقش آن در کاهش دفع مدفوعی باکتری مورد مطالعه قرار می گیرد. ۶۰ خرگوش نر از نژاد Dutch polish در سه گروه شامل گروههای آلوده بدون درمان، آلوده با درمان دوز پایین و آلوده با درمان دوز بالای عصاره سیر مورد مطالعه قرار گرفتند. تمام حیوانات با 10^{11} CFU باکتری سالمونلا تیفی موریوم به صورت خوراکی آلوده شده و ۴۸ ساعت پس از آلودگی عصاره آبی سیر با دوز 20 mg/kg و 40 mg/kg ، سه بار در روز به گروههای تحت درمان به صورت خوراکی تجویز و کشت مدفوع بدون درمان انجام شد. شمارش کلونی باکتری اختلاف معنی داری را در روزهای مختلف نشان داد و همچنین اختلاف معنی داری در شمارش کلونی بین گروههای تحت درمان و گروه بدون درمان دیده شد ($p < 0.001$)، اما اختلاف معنی داری بین دو گروه تحت درمان وجود نداشت. در مجموع، به نظر می رسد عصاره آبی سیر دارای اثرات ضد باکتریال روی سالمونلا تیفی موریوم است.

واژه های کلیدی: سیر، سالمونلا تیفی موریوم، خرگوش، ضد میکروبی.

مقدمه

آنها در بسیاری از موارد از آنتی بیوتیک استفاده می گردد. استفاده از آنتی بیوتیکها برای درمان بیماری می تواند دو مشکل بسیار مهم را ایجاد نماید: اول اینکه باعث عوارض جبران ناپذیری می گردد، مثل کلرامفنیکل که می تواند منجر به

آلودگی دستگاه گوارش با باکتریهای گرم منفی از جمله، سالمونلا در تمام دنیا به خصوص در کشورهای در حال توسعه و از جمله در کشور ما شایع می باشد که برای درمان

سالمونلا تیفی موریوم ایجاد شده به صورت تجربی در خرگوش بررسی نماید.

مواد و روشها

این مطالعه به صورت Preclinical Trial و از نوع تجربی Experimental جهت بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی سیر به صورت *in vivo* در خرگوشهای آلوده با سالمونلا تیفی موریوم انجام گردید. نحوه انجام مطالعه به این صورت بود که تعداد ۶۰ رأس خرگوش نر از نژاد Dutch polish به صورت تصادفی در سه گروه ۲۰ تایی قرار گرفتند. گروه اول، خرگوشهایی بودند که تنها به وسیله باکتری آلوده شده بودند و گروه دوم و سوم، به ترتیب با دوز کم ۲۰ mg/kg سه بار در روز و دوز زیاد ۴۰ mg/kg سه بار در روز تحت درمان با عصاره آبی سیر قرار گرفتند.

سوش آلوده کننده باکتری از نوع سالمونلا تیفی موریوم بود که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید و برای اثبات ماهیت باکتری از تستهای سرولوژی و بیوشیمیایی استفاده گردید. هر حیوان با تعداد 10^{11} CFU باکتری آلوده گردید که مقدار باکتری با استفاده از استاندارد مک فارلند تهیه گردید و پس از تهیه این مقدار باکتری، حیوانات به وسیله سرنگ به صورت خوراکی آلوده شدند. ۲۴ ساعت قبل از آلودگی جهت کاهش PH معده برای ایجاد آلودگی موفق در یک لیتر از آب حیوانات ۲۰۰ mg سایمیدین و ۱/۰۶ گرم بی کربنات حل گردید.

پس از اینکه حیوانات یک هفته در محیط آزمایشگاه بودند و با شرایط محیط تطابق پیدا کردند و معاینات بالینی و کشت مدفوع سلامتی آنها را نشان داد، هر حیوان به صورت خوراکی با 10^{11} CFU باکتری سالمونلا تیفی موریوم آلوده شد و روز بعد با معاینه حیوان و کشت مدفوع آلودگی اثبات

ایجاد آنتی آپلاستیک می شود (Katzung, 2001) و دیگر آنکه باعث مقاومت دارویی گردد. بنا بر همین دلایل، استفاده از درمانهای جدید با عوارض کمتر ضروری به نظر می رسد که از جمله این داروها، داروهای گیاهی می باشند. یکی از گیاهان دارویی که اثرات ضد میکروبی وسیعی داشته و از قدیم الایام مورد توجه بوده، سیر است. سیر دارای اثرات دارویی مختلفی است که مهمترین آنها خواص ضد میکروبی و اثر بر روی سیستم قلبی-عروقی و سیستم ایمنی می باشد (Harris et al., 2001). در کتابهای طب اسلامی مثل طب الرسول (ص) و طب الصادق (ع) اطلاعاتی در مورد سیر وجود دارد (شریفی و جعفری، ۱۳۷۲). همچنین در جنگ جهانی دوم از سیر برای پیشگیری از قانقاریا استفاده شده است (Chowdhurt et al., 1991). در مورد اثرات ضد میکروبی مطالعاتی در زمینه اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد پروتوزوئری و ضد ویروسی این گیاه انجام شده است (Sasaki et al., 1999; Harris et al., 2000; Ancri, 1999) که در بیشتر موارد اثرات قابل توجهی را نشان داده است. مهمترین مکانیزمی که برای اثرات ضد میکروبی یاد شده است مهار سنتز RNA است (Feldberg et al., 1988). در مورد اثر این گیاه بر روی عفونت سالمونلایی مطالعات نسبتاً محدودی انجام شده که بیشتر به صورت *in vitro* بوده که اثرات قابل توجهی را نشان داده است (Arora, 1999)، ولی تاکنون مطالعه گسترده ای به صورت *in vivo* انجام نشده است. از آنجا که عفونت سالمونلا تیفی موریوم شایع بوده و جزء عفونتهای شایع کشورهای در حال توسعه می باشد، همچنین بیماری ناشی از آن و داروهای مورد استفاده می تواند عوارض قابل توجهی داشته باشد، این مطالعه طراحی گردید تا به صورت یک کارآزمایی preclinical اثرات این داروی گیاهی را بر روی عفونت

پایان مطالعه نیز به صفر نرسیده است (شکل ۱). از نظر تعداد کلونی اختلاف معنی داری بین دو دوز وجود ندارد که می تواند بیانگر اثرات باکتریسیدال عصاره سیر حتی در دوز پایین باشد.

تست آماری آنالیز واریانس در حالت Repeated measure نشان داد که اختلاف تعداد کلونی در روزهای مختلف معنی داری می باشد ($p < 0.001$). همچنین تست تکمیلی Duncan جهت بررسی بیشتر گروهها مورد استفاده قرار گرفت که بیانگر اختلاف بین گروه ۱ با هر کدام از گروههای ۲ و ۳ می باشد ($p < 0.001$). ولی اختلاف بین گروه ۲ و ۳ یعنی گروههای تحت درمان با دوز پایین و بالا معنی دار نمی باشد.

بحث

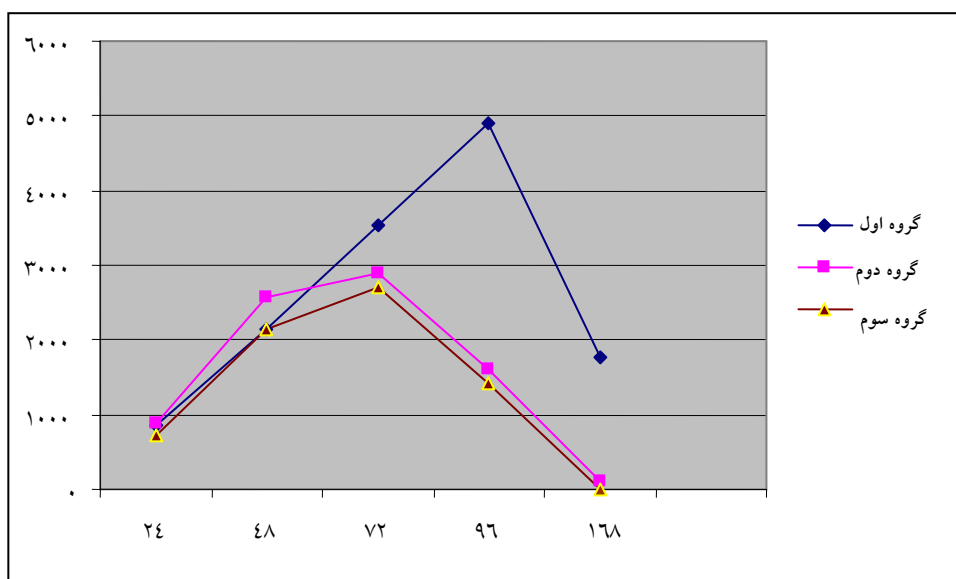
مطالعاتی که بر روی باکتریهای ایجادکننده عفونت روده ای به صورت *in vivo* یا *in vitro* انجام شده، تأیید کننده نتایجی است که در این مطالعه بدست آمده است. مطالعه ای که توسط Kumar و Berwal (۱۹۹۸) انجام شده اثرات مهارتی عصاره سیر را در آزمایشگاه بر روی سالمونلا تیفی موریوم به اثبات رسانده است. در مطالعه دیگری که توسط Arora و Kaur (۱۹۹۹) انجام شد اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف بر روی میکروبهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفت، ولی تنها اثرات باکتریسیدال سیر و میخک بر روی سالمونلا تیفی موریوم به اثبات رسید. همچنین در مطالعه ای که توسط Chowdhurt و همکاران (۱۹۹۱) انجام شده، ۴۸ ساعت پس از درمان خرگوشهای آلوده به شیگلا، باکتری در مدفوع حیوانات آلوده رشد نکرده و بهبود یافتند ولی ۸۰٪ حیوانات گروه کنترل مردند. همچنین در آزمایشگاه نیز اثرات باکتریسیدال عصاره سیر در مقابل شیگلا و *E. coli* به اثبات رسید.

گردید. گروههای دوم و سوم که تحت درمان بودند از ۴۸ ساعت پس از آلودگی تحت درمان عصاره آبی سیر به صورت خوراکی با دوزهای مشخص قرار گرفتند. ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از درمان، کشت مدفوع انجام گرفت. در گروه اول که تحت درمان نبودند نیز کشت مدفوع در روزهای مشابه انجام شد. برای استاندارد شدن کشت مدفوع ۱ گرم از مدفوع هر حیوان با ترازو وزن و پس از حل در ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی رقتهای مختلفی از آن تهیه و بر روی محیط کشت XLD کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت تعداد کلنیهای باکتری با محاسبه میانگین در رقتهایی که قابل شمارش بود شمارش و میانگین آن محاسبه گردید، سپس اطلاعات بدست آمده از شمارش کلونی باکتری به وسیله نرم افزار آماری SPSS و آزمون Anova مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

قبل از آلودگی، تعداد کلنی باکتری در مدفوع تمام حیوانات صفر بود. ۲۴ ساعت بعد از آلودگی، باکتری در مدفوع تمام حیوانات قابل ردیابی بود که بیانگر آلودگی موفق حیوانات می باشد.

یکی از یافته های مهم در بررسی اثر درمانی هر داروی ضد میکروبی از جمله سیر بررسی تعداد کلونی باکتری در کانون عفونت است که در این مطالعه بررسی تعداد کلونی باکتری در هر گرم مدفوع به علت عفونت روده ای انجام شده است. در گروههای تحت درمان با دوز بالا و پایین عصاره سیر، ۲۴ ساعت پس از درمان تعداد کلونیهای افزایش یافته، ولی از ۷۲ ساعت بعد از درمان، تعداد کلونیهای کاهش یافته است که اختلاف معنی دار با گروه بدون درمان دارد که بر خلاف گروههای تحت درمان تعداد کلونیهای تا زمان معادل ۹۶ ساعت پس از درمان افزایش داشته است و در نهایت در



شکل ۱- مقایسه تعداد کلونیها با گذشت زمان، در سه گروه تحت مطالعه

- Chowdhurt, A.K., Ashan, M., Islam, S.N. and Ahmed, Z.U., 1991. Efficacy of aqueous garlic & allicin in experimental shigellosis in rabbits. *Indian Journal of Medical Research*, 93(3): 33-36.
- Feldberg, R.S., Chang, S.C., Kotik, A.N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundstrom, D.C. and Tompson, N.H., 1988. *In vitro* mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(12): 1763-1768.
- Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S. and Lloyd, D., 2001. Antimicrobial of *Allium sativum* (garlic). *Applied. Microbiology and Biotechnology*, 57(3): 282-286.
- Katzung, B.G., 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed., MacGraw, Hill, 775 p.
- Harris, Y.C., Plummer, S., Turner, M.P. and Liogy, D., 2000. The Microaerophilic flagellate *Giardia intestinalis*; *Allium sativum* (garlic) is an effective anti-giardial. *Microbiology*, 146: 3119-3127.
- Kumar, M. and Berwal, J.S., 1998. Sensitivity of food Pathogenes to garlic (*Allium Sativum*). *Journal of Applied Microbiology*, 84(21): 213-215.
- Sasaki, J., Kita, T., Ishta, K. and Uchisawa H., 1999. Antibacterial activity of garlic powder against *Escherchia coli*. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*, 45(3): 785-790.

به‌رغم اثبات خواص سیر به‌عنوان یک گیاه دارویی و ضد سالمونلایی، لازم است جهت استفاده از آن در طب بالینی، انجام کارآزمایی بالینی و مطالعات دقیقتر جهت بررسی دوز دارو و همچنین بررسی سمیت آن توصیه شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از تلاشهای آقایان صادق منصوری، سیدمحمد وکیل و خانم مریم شرایلی که در انجام این تحقیق همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

- شریفی، م. و جعفری، ح.، ۱۳۷۲. مواد فعال سیر و پیاز و اثرات بیولوژیک آنها. دارو و درمان، ۱۲(۴): ۵۰-۴۸.
- Ankri, S. and Mirelaman, D., 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 21(1): 125-129.
- Arora, D.S. and Kaur, J., 1999. Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial agents*, 12(2): 257-262.

In vivo antibacterial effects of garlic aqueous extract on *Salmonella typhimurium* infected rabbits

M.R. Jalali¹, H. Jafari², P. Owlia³, N. Fallah⁴ and A. Davati⁴

1- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran,
E-mail: Jalali@shahed.ac.ir

2. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Qazvin University, Qazvin, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Social Medicine and Health, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

Abstract

Salmonellosis is one of the most common infections in developing countries. Antibiotics used for management, may led not only to drug-resistance, but also to some serious complications. Since antiquity medicinal plants have been used for treatment of diseases, Garlic is one of these agents with multiple effects i.e. antibacterial effects. Sixty rabbits of Dutch-polish race were randomly divided in three equal groups; contaminated with no treatment as the control group, contaminated with treatment by low and high-doses of garlic aqueous extract in the other groups. All rabbits were infected with 10^{11} CFU of *S. typhimurium* fourty-eight hours after contamination, garlic aqueous extract was used in treated-groups at 20mg/kg and 40mg/kg three times a day. Stool culture is performed at first before contamination and after 24, 48, 72, 96 and 168 hours of treatment. Bacterial colony count stool showed significant statistics in different days. A significant difference was also seen in colony count of treated groups with non-treated group ($p < 0.001$). But there was no definite difference in stool colony count of treated groups (low dose & high dose). So garlic aqueous extract has antibacterial effects on *S.typhimurium*. Further studies are recommended for clinical usage of this agent.

Key words: Garlic, *Salmonella typhimurium*, rabbit, antibacterial.