

بررسی اثربخشی شش گونه گیاه دارویی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین

تینا دادگر^۱، عزت‌الله قائمی^۲، مهدی آسمار^۳، معصومه مازندرانی^۴ و مسعود بازوری^۵

۱- کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، پست الکترونیک: dadgar_tena@yahoo.com

۲- دانشیار میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان

۳- استاد انگل‌شناسی پزشکی، انستیتو پاستور ایران

۴- استادیار سیستماتیک گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

۵- کارشناس میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل مهم عفونت‌های کسب شده از بیمارستانها و اجتماع می‌باشد. عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین به طور عمده با منشأ بیمارستانی هستند که در بسیاری از کشورهای جهان در حال افزایش است. به همین دلیل محققان نیز تلاش‌های زیادی جهت یافتن ترکیبهای جدید به عنوان جایگزین مناسب این آنتی‌بیوتیک‌ها انجام داده‌اند. در این تحقیق اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و جوشانده گیاهان مختلف به روش انتشار در آگار و به کمک دیسک انجام شد. هر آزمون سه بار تکرار گردید و میانگین قطر هاله عدم رشد بر روی محیط مولر هیتون آگار اندازه‌گیری و ثبت شد و سپس خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌ها با هم مقایسه شد. از بین ۶ گونه گیاه مورد بررسی، عصاره آبی اکالیپتوس، انار و درمنه و جوشانده گیاهان اکالیپتوس، انار، درمنه، گز و گل‌راعی بهترین اثر ضد باکتریایی را در روش دیسک دیفیوژن داشتند و عصاره آبی و جوشانده گیاه زرشک، هیچ اثر ضد باکتریایی نداشت. در مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و جوشانده گیاهان، جوشانده آنها اثر ضد باکتریایی مطلوب‌تری علیه سویه‌های مورد بررسی داشته و در برخی از گیاهان مانند انار تأثیر بهتر عصاره در مقایسه با آنتی‌بیوتیک و انکومایسین علیه سویه‌های MRSA و MSSA مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، عصاره آبی، جوشانده، استافیلوکوکوس اورئوس.

مقدمه

این میان‌گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس یکی از معضلاتی است که پزشکان با آن سر و کار دارند. استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی است که شیوع آن نیز رو به ازدیاد است. این

یکی از مشکلات بزرگی که طب جدید با وجود امتیازهای ظاهری نسبت به طب سنتی با خود به ارمغان آورده، مصرف روزافزون داروهای شیمیایی است که متأسفانه روز به روز شکل حادثری به خود می‌گیرد و در

مطالعاتی نیز در زمینه میزان افراد ناقل با MRSA صورت گرفته است که بر اساس آن شیوع MRSA در ناقلین در ژاپن ۱۶-۳۶ درصد و در عربستان ۱۸/۳ درصد در میان کارکنان مراکز بهداشتی می‌باشد (Saderi et al., 2004).

تحقیقات انجام شده در ایران نیز نشان می‌دهد، ۹/۹ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران، مقاوم به متی‌سیلین می‌باشد و شیوع MRSA در کارکنان مراکز بهداشتی ۱۱/۸ درصد گزارش گردیده است (Mansouri & Khaleghi, 1997).

با توجه به موارد فوق و افزایش روزافزون مقاومت *S. aureus* نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر اریترومایسین، تراسایکلین و پیدایش سویه‌های با مقاومت نسبی یا مقاوم به وانکومایسین در برخی کشورها در سالهای اخیر سبب شد که تلاش مستمری برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی صورت گیرد. یکی از این منابع داروهای گیاهی هستند که در طب غنی و سنتی ایران به صورت تجربی از آنها استفاده شده و فوائد موثقی از آنها نیز به اثبات رسیده است (زرگری، ۱۳۷۵).

امروزه باید متناسب با پیشرفت علم و تکنولوژی از گیاهان دارویی بهره گرفت. به طور مثال بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان می‌تواند راه را برای به دست آوردن آنتی‌بیوتیک‌های گیاهی و جدید هموار سازد (Murphy, 1999).

در این زمینه بررسی‌هایی در میزان اثربخشی گیاهان علیه باکتریها از جمله باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سویه‌های MRSA در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است.

تحقیقات انجام شده در نیجریه بر روی ۶ گونه گیاهی از گیاهان دارویی این منطقه نشان می‌دهد که ۴ گونه از این

باکتری سبب ایجاد طیف وسیعی از بیمارها از جمله اندوکاردیت، استئومیلیت، پنومونی، سندرم شوک سمی، کورک و دمل می‌شود (Shopsin & Barry, 2001). در بسیاری از موارد منشأ عفونت کارکنانی هستند که در بینی خود ناقل این باکتری می‌باشند. تخمین زده می‌شود که حدود ۲۵-۳۰ درصد افراد در جوامع مختلف در بینی خود ناقل استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشند (kluymans et al., 1997).

به علت گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و پیدایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در این باکتری روز به روز تعداد آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری کاهش می‌یابد. به طوری که در حال حاضر اغلب سویه‌های این باکتری نسبت به پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها مقاوم شده‌اند و به فاصله کوتاهی بعد از عرضه متی‌سیلین که یکی از پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز است، سویه‌های مقاوم به آن ایجاد شدند و اولین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در سال ۱۹۶۰ جدا شد و در حال حاضر نیز رو به افزایش است (Brabger et al., 2003).

گزارش (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) در سال ۲۰۰۰ نشان می‌دهد که شیوع (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) MRSA در ۲۷ کشور اروپایی از یک درصد در اروپای شمالی تا ۴۰ درصد در اروپای غربی و جنوبی متغیر است. همچنین تحقیقات انجام شده در ایالات متحده نیز بیانگر آن است که از میان بیش از ۱۰۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس ۴۳/۷-۴۱ درصد ایزوله‌ها مقاوم به متی‌سیلین می‌باشند (Timersma et al., 2004).

تنوع در مورد گیاهان دارویی به روشنی مشهود است و همچنین مردم در این استان از دیرباز از گیاهان به صورت مختلف جوشانده، دم کرده، تئور و ... برای کنترل و درمان بیماری‌ها به خصوص عفونت‌های ناشی از میکروارگانیزمها استفاده می‌نموده‌اند، این مطالعه نیز به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و جوشانده ۶ گونه از گیاهان دارویی استان گلستان علیه سویه‌های *S. aureus* حساس و مقاوم به متی‌سیلین صورت گرفت.

مواد و روشها

۱- شناسایی و جمع‌آوری گیاهان

بعد از شناسایی گیاهان مورد نظر و جمع‌آوری آنها از نواحی مختلف استان، اسامی گیاهان در هر بار یوم دانشگاه آزاد اسلامی مورد تأیید قرار گرفتند، سپس اندامهای مورد نیاز در شرایط مناسب (تاریک و خشک) نگهداری و به طور کامل خشک و برای عصاره‌گیری آسیاب شدند. ویژگیها، مصارف بالینی، قسمت‌های مورد استفاده گیاهان و محل جمع‌آوری آنها در جدول ۱ آمده است.

گیاهان دارویی که به طور معمول توسط پزشکان در درمان عفونت‌های پوست و عفونت‌های دستگاه تنفس استفاده می‌شد بر علیه سویه‌های MRSA مؤثرند (Akinyemi *et al.*, 2005).

همچنین مطالعه آزمایشگاهی گروه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز نشان داد، اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی برگ لاواندولا استوکاس علیه *S. aureus* و برخی از باکتری‌های گرم منفی بسیار مؤثر است (خسروی و ملکان، ۱۳۸۳).

بنابراین تحقیق گروه فوق نشان می‌دهد که علاوه بر عصاره الکلی (متانولی، اتانولی) گیاهان می‌توان عصاره آبی آنها را نیز در بررسی اثر ضد باکتریایی گیاهان استفاده نمود.

همچنین تحقیقی در سال ۲۰۰۴ در بررسی روغن سیاه‌دانه، عصاره متانولی، کلروفومی و آبی آن در ایران در دانشگاه مشهد انجام شد که بیانگر اثرات بازدارندگی خوب آن علیه *S. aureus* بود، اما عصاره آبی آن نتیجه مطلوبی نداشت (Mshhadian & Rakhshandeh, 2005).

از آنجا که استان گلستان به لحاظ تنوع اقلیمی از تنوع زیستی وسیع و منحصر به فردی برخوردار است و این

جدول ۱- مشخصات شش گونه گیاه مورد بررسی علیه سویه‌های MRSA و MSSA

نام علمی گیاه	نام فارسی	خانواده گیاه	بخش مورد استفاده	محل جمع‌آوری
<i>Eucalyptys global</i>	اکالیپتوس	<i>Myrtaceae</i>	برگ	آق‌قلا
<i>Hypericum perforatom</i>	گل راعی، گل تره	<i>Hypericaceae</i>	کل گیاه	النگدره
<i>Berberis vulgaris</i>	زرشک	<i>Berberidaceae</i>	ریشه	ارتفاع چهارباغ
<i>Atrémisia sieberi</i>	درمنه	<i>Asteraceae</i>	کل گیاه	ارتفاعات چهارباغ
<i>Punica granatum</i>	انار	<i>Punicaceae</i>	پوست	روستای یساقی
<i>Tamarix aphylla</i>	گز	<i>Tamariaceae</i>	گل	آق‌قلا

۲- آماده‌سازی عصاره آبی گیاهان

در تهیه عصاره آبی، از آب مقطر استریل استفاده شد. جهت تهیه عصاره آبی ابتدا ۳۰ گرم از پودر گیاه خشک را وزن کرده و مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل، که به دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، به ارلن محتوی پودر اضافه گردید. سپس دهانه ارلن بسته شده و داخل بن‌ماری ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از ۲۴ ساعت مخلوط داخل ارلن را فشرده و عصاره بدست آمده توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف گردید (Mashhadian & Rakhshandeh, 2005).

۳- آماده‌سازی جوشانده گیاهان

در این روش برای تهیه جوشانده حدود ۳۰ گرم پودر گیاه، داخل بشر قرار گرفت و حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده و پس از سرد شدن از پارچه تمیزی گذرانده و سپس توسط کاغذ صافی صاف و عصاره آن جدا شد (Mashhadian & Rakhshandeh, 2005).

۴- رقیق‌سازی عصاره گیاهان و تهیه دیسک‌های حاوی عصاره

بعد از این که عصاره‌گیری انجام شد و عصاره آبی و جوشانده گیاهان مورد بررسی تهیه شد، عصاره را با رقیق‌کننده مناسب (آب) رقیق کرده و علاوه بر عصاره خالص، رقت‌های $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ 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 داده و بعد از مدت ۱۰-۵ دقیقه که عصاره کاملاً جذب شد دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد قرارداده تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شود.

۵- سویه‌های باکتری

باکتری مورد استفاده، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین می‌باشند که این سویه‌ها از نمونه‌های بالینی و از بیماران در شهر گرگان جدا شدند. این باکتری‌ها با استفاده از روش استاندارد شناسایی و به بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی گرگان انتقال یافتند. سپس برای تعیین حساسیت باکتری به متی‌سیلین از روش دیسک-دیفیوژن استفاده شد (Robers *et al.*, 2002). بدین ترتیب که ۲۰۰ میکرولیتر از کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شده از هر سویه باکتری به محیط کشت مولر هیتتون حاوی ۴ درصد نمک طعام تلقیح گردید. پس از انجام کشت یکنواخت دیسک اگزاسیلین بر روی آن قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت اتوگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و با مقدار استاندارد مقایسه شد (Baron & Finegold, 1990) که نتایج بدست آمده از آن شامل ۸ سویه *S. aureus* مقاوم به متی‌سیلین، ۴ سویه *S. aureus* حساس به متی‌سیلین و همچنین از سویه‌های استاندارد ATCC ۲۵۹۲۳ (حساس به متی‌سیلین) و PTcc۱۴۳۱ (مقاوم به متی‌سیلین) نیز جهت مطالعه استفاده گردید.

۶- بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌ها

روش دیسک دیفیوژن

برای تعیین حساسیت سویه‌های باکتری نسبت به عصاره آبی و جوشانده گیاهان از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا از تمام سویه‌های

بررسی قرار گرفت که نتایج بدست آمده از این بررسی به شرح زیر بود:

از بین ۶ گونه گیاه مورد بررسی رقت‌های خالص، $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ و $\frac{1}{16}$ عصاره آبی گیاهان انار، اکالیپتوس و درمنه اثر ضد باکتریایی خوبی علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین داشتند و حداکثر قطر هاله عدم رشد آنها $16/8\text{mm}$ و مربوط به عصاره آبی خالص انار بود که این میزان بیش از قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک وانکومايسين که به عنوان کنترل قرار داده شده بود، است (جدول ۲).

عصاره آبی پوست گیاه انار از رشد تمامی ۱۴ سویه مورد بررسی جلوگیری کرده و درصد فعالیت گیاه انار علیه سویه‌های MRSA و MSSA، ۱۰۰٪ بود (جدول ۴ و شکل ۳). در حالی که اکالیپتوس و درمنه از رشد ۶۴ و ۴۲ درصد سویه‌ها جلوگیری کرده و در مورد عصاره آبی سایر گیاهان اثر مهاری مناسبی مشاهده نشد و همه سویه‌ها در گروه‌های مقاوم و نسبتاً مقاوم قرار گرفتند.

نتایج ناشی از این بررسی نشان داد که جوشانده گیاهان انار، اکالیپتوس، درمنه، گل گز و گل راعی اثر مطلوبی علیه سویه‌های مورد بررسی داشتند و حداکثر قطر هاله عدم رشد آنها نیز $16/6\text{mm}$ و مربوط به گیاه انار بوده (جدول ۳) که بیش از قطر هاله عدم رشد وانکومايسين است.

جوشانده تهیه شده از پوست انار مانع از رشد تمامی ۱۴ سویه باکتری مورد بررسی، گردید (۱۰۰ درصد). در حالی که جوشانده اکالیپتوس از رشد ۹۲ درصد و جوشانده درمنه از رشد ۶۴ درصد و جوشانده گل راعی از رشد ۵۰ درصد سویه‌ها و جوشانده گل گز از رشد ۸۵ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی

باکتریایی سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند ($1/5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$) تهیه شد و سپس با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. آنگاه دیسک‌های بلانک استریل (ساخت پادتن) که حاوی رقت‌های مختلف عصاره می‌باشند با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت بر روی سطح محیط آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و سپس با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها نتایج مورد بررسی قرار گرفت (Andrew, 2001).

همچنین از دیسک حاوی ۳۰ میکروگرم وانکومايسين به عنوان کنترل استفاده شد و برای حصول اطمینان این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار گردید و میانگین قطر هاله عدم رشد در سه بار به عنوان قطر نهایی ثبت شد.

۷- آزمون‌های آماری

جهت مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و جوشانده گیاهان علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین از آزمون F و آزمون‌های آماری دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ در محیط نرم‌افزاری SPSS استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه اثر ضد باکتریایی مقادیر مختلف عصاره آبی و جوشانده ۶ گونه از گیاهان دارویی استان گلستان که شامل اکالیپتوس، زرشک، انار، درمنه، گل راعی و گل می‌باشد، علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین به روش دیسک-دیفیوژن مورد

سویه‌های باکتریایی مورد بررسی، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ در محیط نرم‌افزاری SPSS استفاده شد که نتایج آن به شرح زیر می‌باشد:

عصاره آبی

نتایج بدست آمده از آزمون دانکن در مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی ۳ گونه گیاهی مؤثر علیه ۱۴ سویه باکتریایی به طور مثال در رقت خالص آنها نشان داد که: مؤثرترین گیاه که اختلاف بیشتری با سایر گیاهان دارد، انار می‌باشد که این در مورد رقت های $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ نیز صادق است و در رقت‌های خالص اثر ضد باکتریایی درمنه و اکالیپتوس تقریباً برابر بوده است (شکل ۱).

بررسی اثر ضد باکتریایی سه گونه گیاه دارویی انار، اکالیپتوس و درمنه علیه ۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین نیز خود بیانگر اثر بسیار خوب عصاره آبی انار علیه سویه‌های باکتری است که اختلاف معنی‌داری با سایرین دارد.

بنابراین گیاهی که بتوان عصاره آبی آن را علیه ۱۴ سویه باکتریایی به خوبی استفاده نمود انار می‌باشد که می‌تواند اثر ضد باکتریایی خوبی علیه همه سویه‌ها در هر رقتی داشته باشد.

جلوگیری کردند. (جدول ۵ و شکل ۴) اما در مورد گیاه زرشک عصاره آبی و جوشانده آن اثر ضد باکتریایی مطلوبی نداشت.

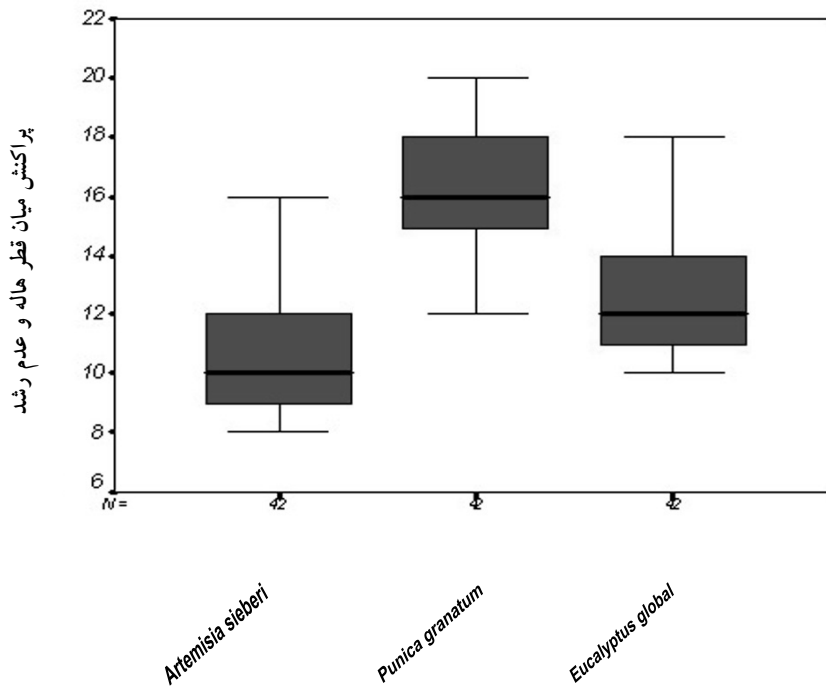
تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

جهت انجام آزمون‌های آماری از آزمون F و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد که نتایج آن به شرح زیر می‌باشد:

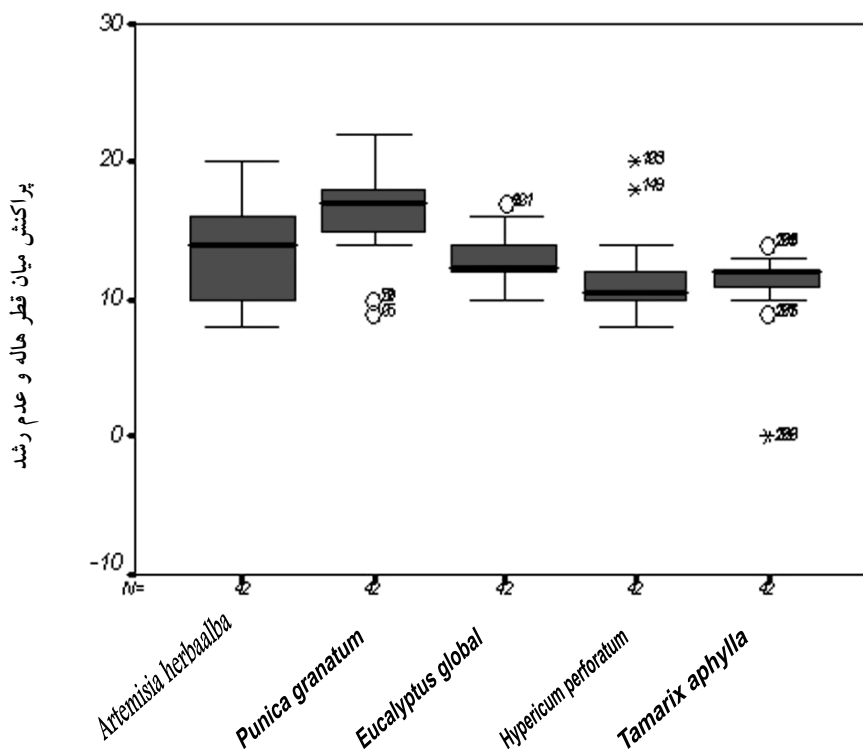
پس از تأیید دو فرض نرمال بودن داده‌ها و یکسان بودن واریانس‌ها، جهت بررسی تفاوت‌های معنی‌دار بین قطر هاله عدم رشد گیاهان در رقت‌های خالص، $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ عصاره آبی سه گونه گیاهی اکالیپتوس، درمنه و انار که اثر ضدباکتریایی مطلوبی داشتند و همچنین رقت‌های خالص، $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ و جوشانده ۵ گونه گیاهی اکالیپتوس، انار، درمنه، گل راعی و درخت گز که اثر ضد استافیلوکوکی بسیار خوبی داشتند از آزمون F در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج بدست آمده از آزمون F نشان داد که مقادیر Pvalue در تمام رقت‌های عصاره‌های مورد بررسی برابر با صفر بوده، بنابراین فرض H_1 یعنی وجود اختلاف معنی‌دار بین قطر هاله عدم رشد در غلظت ثابت بین گیاهان مختلف پذیرفته می‌شود.

سپس جهت بررسی اثر ضد باکتریایی گیاهان در رقت ثابت قطر هاله عدم رشد و تعیین مؤثرترین گیاه علیه



شکل ۱- مقایسه پراکنش و اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی گیاهان مؤثر در رقت خالص علیه ۱۴ سویه MSSA و MRSA



شکل ۲- مقایسه پراکنش و اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد جوشانده گیاهان مؤثر در رقت خالص علیه ۱۴ سویه MSSA و MRSA

جوشانده

در آزمون دانکن در مقایسه اثر ضد باکتریایی جوشانده ۵ گونه از گیاهان دارویی مؤثر علیه ۱۴ سویه باکتریایی در رقت‌های مختلف خالص، $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ نشان داد که در رقت‌های خالص، $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ جوشانده گیاهان، مؤثرترین گیاه علیه ۱۴ سویه باکتریایی که اختلاف معنی‌داری با سایر گیاهان دارد انار می‌باشد (شکل ۲). در

بررسی جوشانده این گیاهان علیه ۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین مؤثرترین گیاه در همه رقت‌های مورد بررسی انار می‌باشد. همچنین بررسی رقت‌های مختلف جوشانده گیاهان علیه ۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین نشان داد که مؤثرترین گیاه عصاره و جوشانده انار است.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA (mm)

R/S*	MSSA				MRSA				سویه باکتری مقدار عصاره (mg) نام گیاه
	خالص	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	خالص	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	
R>S	۱۰/۹	۹/۳	۸/۲	۷/۲	۱۳/۶	۱۱	۹/۲	۷/۷	<i>Eucalyptus global</i>
R>S	۱۳	۱۲/۰۴	۱۱/۴	۹/۸	۱۶/۸	۱۵/۳	۱۲/۴	۱۰/۶	<i>Punica granatum</i>
R>S	۹	۸	۷/۵	۷	۱۱/۸	۱۱/۳	۸/۲	۷/۴	<i>Artemisia herbaalba</i>
Pvalue<0									

* میانگین قطر هاله عدم رشد گیاهان علیه سویه‌های MRSA و MSSA با هم مقایسه شد.

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد جوشانده گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA (mm)

R/S*	MSSA				MRSA				سویه باکتری مقدار عصاره (mg) نام گیاه
	خالص	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	خالص	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	
R>S	۱۲/۴	۱۱/۲	۱۰/۵	۹	۱۳	۱۲/۷	۱۱/۸	۹	<i>Eucalyptus global</i>
R=S	۱۶/۱	۱۴/۲	۱۲/۰۲	۹/۵	۱۶/۶	۱۴/۵	۱۲/۱	۹/۸	<i>Punica granatum</i>
R>S	۱۰/۴	۸/۴	۷	۷	۱۵/۴	۱۱/۳	۹/۱	۷/۵	<i>Artemisia. herbaalba</i>
R>S	۱۰/۱	۸/۵	۷/۵	۰	۱۱/۴	۹/۴	۷/۹	۰	<i>Hypericum Perforatum</i>
R=S	۱۱/۱	۹/۱	۸/۱	۶/۸	۱۲/۸	۱۰/۸	۸/۸	۷	<i>Tamarix aphylla</i>
Pvalue<0									

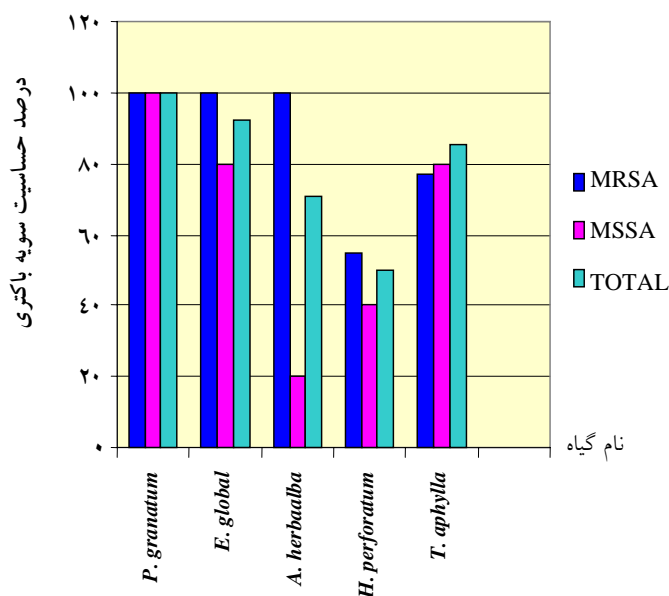
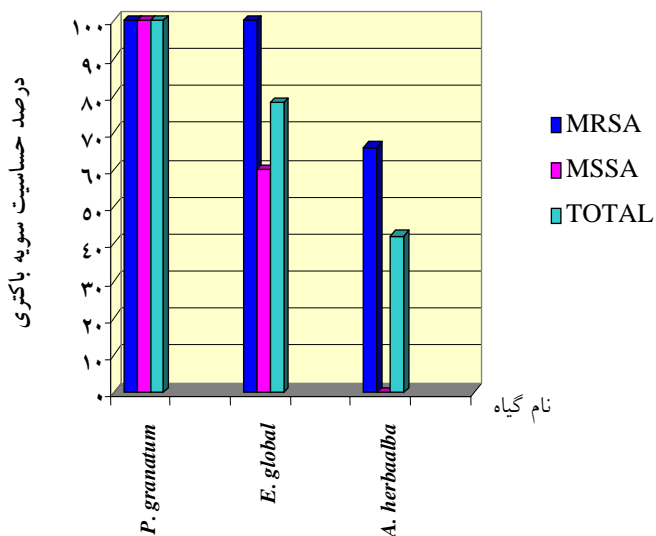
* میانگین قطر هاله عدم رشد گیاهان علیه سویه‌های MRSA و MSSA با هم مقایسه شد.

جدول ۴- درصد فعالیت عصاره آبی گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA

نام گیاه	درصد حساسیت سویه باکتری	MRSA	MSSA	Total
<i>Eucalyptus global</i>	۱۰۰	۱۰۰	۶۰	۷۸
<i>Punica granatum</i>	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
<i>Arteisia herbaalba</i>	۶۶	۰	۰	۴۲

جدول ۵- درصد فعالیت جوشانده گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA

نام گیاه	درصد حساسیت سویه باکتری	MRSA	MSSA	Total
<i>Eucalyptus global</i>	۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۹۲/۸
<i>Punica granatum</i>	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
<i>Artemisia herbaalba</i>	۱۰۰	۱۰۰	۲۰	۷۱/۴
<i>Hypericum perforatum</i>	۵۵	۵۵	۴۰	۵۰
<i>Tamarix aphylla</i>	۷۷	۷۷	۸۰	۸۵



شکل ۴- مقایسه فعالیت جوشانده گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA

شکل ۳- مقایسه فعالیت عصاره آبی گیاهان مؤثر علیه سویه‌های MRSA و MSSA

بحث

نگاهی اجمالی به نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی ۶ گونه از گیاهان بومی استان گلستان علیه سویه‌های MRSA و MSSA، عصاره آبی گیاهان اکالیپتوس، درمنه و انار اثر ضد باکتریایی مطلوبی دارند (جدول ۴ و شکل ۳).

اما در بررسی اثر ضد باکتریایی جوشانده این گیاهان، جوشانده گیاهان انار، اکالیپتوس، درمنه، گل راعی و گز اثر ضد باکتریایی مطلوبی داشتند که در مقایسه با عصاره آبی نشان‌دهنده کارایی بالاتر آنها در مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس به خصوص سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین آن می‌باشد (جدول ۵ و شکل ۴).

از آنجا که فعالیت گیاهان وابسته به ترکیبهای مؤثره آنها است، مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و جوشانده خود بیانگر نقش حلال در استخراج مواد مؤثره گیاهان و فعالیت آنها بوده و تاثیر ضد باکتریایی بهتر جوشانده گیاهان در مقایسه با عصاره آبی آنها بیانگر این مطلب است که به کار بردن آب به عنوان یک حلال همراه با حرارت می‌تواند به انحلال بهتر ترکیبهای گیاهی و استخراج آنها کمک کند.

همچنین نتایج به دست آمده از تحقیقات انجام شده توسط گروهی از محققان در سال ۲۰۰۴، بیانگر حساسیت سویه‌های *S. aureus* به دوز مشخصی از اسانس اکالیپتوس است. Tvivedi و Hotchandani نیز در تحقیقی نشان دادند که اسانس اکالیپتوس علیه عفونت‌های ناشی از *S. aureus* های مقاوم بسیار مؤثر است (Tvivedi & Hotchandani, 2004). نتایج بدست آمده از بررسی اثر ضد استافیلوکوکی عصاره آبی و جوشانده گیاه اکالیپتوس جمع‌آوری شده در استان گلستان با نتایج محققان فوق مطابقت دارد، اما در مورد گیاه زرشک، عصاره آبی

جوشانده آن اثر ضد باکتریایی مطلوبی علیه سویه‌های MRSA و MSSA نداشت.

همچنین تحقیقات انجام شده در دانشگاه علوم پزشکی گرگان در بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی ۲۰ گونه از گیاهان دارویی استان گلستان علیه سویه‌های MRSA و MSSA نشان داد که بهترین اثر ضد استافیلوکوکی مربوط به عصاره اتانولی ۸ گونه از گیاهان دارویی استان از جمله زرشک می‌باشد (Dadgar et al., 2006) که این نتایج با اثر ضد استافیلوکوکی بدست آمده از عصاره آبی جوشانده این گیاه، در تحقیق انجام شده مطابقت ندارد.

بنابراین نوع حلال انتخابی و محل رویش گیاه، در ترکیبهای مؤثره آن و اثر ضد باکتریایی گیاه تأثیر دارند.

انتخاب آب به عنوان حلال، بررسی اثر ضد باکتریایی آن و مقایسه آن با عصاره الکلی خود مؤید این مطلب است که آب در استخراج بسیاری از مواد گیاهی مورد مصرف دارد. ولی از آنجا که بسیاری از ترکیبات گیاهی، ترکیبات آلی پیچیده‌ای هستند و حلالیت آنها در آب کمتر از الکل می‌باشد در نتیجه این امر سبب تفاوت اثر ضد باکتریایی برخی از گیاهان از جمله زرشک می‌شود.

همچنین بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و جوشانده گیاهان علیه سویه‌های MRSA و MSSA نشان داد که رقت عصاره تأثیر مستقیم در میزان فعالیت و اثر ضد باکتریایی آنها دارد. به طوری که در همه رقت‌های مورد بررسی عصاره آبی و جوشانده گیاهان با کاهش مقدار عصاره اثر ضد باکتریایی آن نیز کاهش می‌یابد. یعنی در مقادیر بالاتر اثر ضد باکتریایی عصاره‌ها به نحو بارزتری نمایان می‌شود (جدول‌های ۲ و ۳).

و همان طور که در آزمون‌های آماری مشخص شد مقدار P_{value} در همه رقت‌های مورد بررسی عصاره‌ها برابر صفر بوده، در نتیجه اثر ضد باکتریایی گیاهان در

نیاک و کلیه پرسنل و کارکنان آزمایشگاه دانش که در طی انجام این تحقیق از مساعدت و همراهی آنان بهره‌مند شدم.

منابع مورد استفاده

- خسروی، آ. و ملکان، م، ۱۳۸۳. اثر عصاره الکلی و آبی برگ لاواندولا استوکاس بر استافیلوکوکوس اورئوس و سایر باکتریهای گرم منفی. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدماتی بهداشتی - درمانی قزوین، ۲۹(۴): ۳-۹.
- زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد دوم، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۹۷۵ صفحه.
- Akinyemi, K., Oladapoo, O., Okware, C.E., Ibe, C.C. and Fasure, K.A., 2005. Screening of crude extracts of six medical plants used in south-west Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *s. aureus* activity. BMC Complementary and Alternative medicine, 5: 1-7.
- Androw, J.M., 2001. BSAC Standardized disc susceptibility testing method. Journal of Antimicrobial chemotherapy, 7(5): 48-57.
- Baron, E.J., Finegold, S.M., 1990. Bailey and scott's Diagnostic microbiology. The C. V. mosby company publication, 861 p.
- Brabger, C., Gardye, C., Galdbart, J.O., Deschamps, C., Lambert, N., 2003. Genetic Relationship between methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from france and from International sources: Delineation of Genomic Groups. Journal of clinical microbiology, 14(7): 2946-2951.
- Dadgar, T., Asmar, M., Saifi, A. Mazandarani, M. Bayat, H. Moradi, A. Bazuori, M. and Ghaemi, E., 2006. Antibacterial activity of certain Iranian medical plants against methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*, Asian Journal of Plant Sciences, 5(5): 861-860.
- Kluytmans, J., Van Bel kum, A. and verbrugh, H., 1997. Nasal carriage of *S. aureus*: epidemiology, underlying mechanisms and associated risks. Journal of Clinical microbial, 1(5): 5-20.
- Mansouri, S. and Khaleghi, M., 1997. Antibacterial resistance pattern and frequency of methicillin-

مقادیر ثابت اختلاف معنی‌داری با هم دارند و با کاهش مقدار عصاره در دیسک‌ها خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌ها تفاوت بیشتری با هم داشته و پراکنش آنها نیز بیشتر می‌شود (شکل‌های ۱ و ۳). همچنین تاثیر بهتر برخی از عصاره‌های گیاهی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک وانکومايسين عليه سويه‌های MRSA و MSSA مشاهده شد.

بنابراین با توجه به آنکه طب سنتی ایران به طور عمده بر پایه استفاده از گیاهان دارویی استوار است و با پیشینه چند صد ساله ظرفیت‌های بالایی در زمینه پیشگیری و درمان بیماری‌ها دارد و با توجه به این نکته که گیاهان دارویی به دلیل ماهیت طبیعی و وجود ترکیب‌های هومولوگ دارویی در کنار هم با بدن سازگاری بهتری دارند و معمولاً فاقد عوارض ناخواسته هستند و با توجه به آنکه مقاومت روزافزون استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به متی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، نتایج این مطالعه و به خصوص تأثیر بسیار خوب رقت‌های پایین عصاره آبی و جوشانده برخی گیاهان علیه سويه‌های MRSA و MSSA به خصوص MRSA می‌تواند حائز اهمیت باشد، و می‌توان در صورت امکان اجزای فعال ضد میکروبی موجود در عصاره را استخراج کرده و اثرات ضد باکتریال آن را مورد بررسی قرار داد.

البته کاربرد بالینی این گیاهان نیازمند مطالعات بیشتر و وسیعتر است و در صورت استاندارد نمودن نتایج آنها می‌توان از این گیاهان به عنوان داروهای طبیعی مناسب به عنوان جایگزین داروهای ضد میکروبی کم اثر فعلی استفاده نمود.

سپاسگزاری

با تشکر از کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، کارکنان شرکت دارویی

- Sadari, H., Owlia, P., Zaferghandi, N. and Jalali-Nadoshan, M., 2004. The MRSA Evaluation of antibiotic resistance in *Staphylococcus Aureus* isolated from nose of two teaching hospitals staff of Shahed University. *Journal of Mazandaran University Of Medical Sciences*, 42(14): 75-69.
- Shopsin, B. and Kreiswirth, B.N., 2001. Molecular epidemiology of methicillin resistant *S. aureus*. *Emerging Infectious Disease*, 7(2) :1-8 .
- Timersma, E.W. and Monen, J., 2004. Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* in Urope, 1999-2002. *Emerging infectious Diseases*, 9: 1627-1634.
- Tvivedi, N.A. and Hotchandani, S.C., 2004. Study of the antimicrobial activity of oil *Ecucalyptus*. *Indian Journal of farmacology*, 36(2): 93-94.
- resistant *staphylococcus aureus* isolated from different sources in southeastern Iran. *Irnian Journal of Medical Science*, 22(3&4): 93-96.
- Mashhadian, N.V. and Rakhshandeh, H., 2005. Antimicrobial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *p. aeruginosa* and *C. Albicans*. *Pakistan journal of medical sciences*, 21(1): 47-52.
- Murphy C.M., 1999. Plant products as antimicrobials agents. *journal of clinical microbiology*, 12(4): 504-582.
- Robers, S., Young, H., Faulkner, S., Eures, S., Rtenshaw, S. and Morris, J., 2002. Value of broth cultures in detecting methicillin resistant *S. aureus*. *The New Zealand Medical Journal*, 115(1162): 1-2.

Antibacterial activities of six medicinal plants against methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*

T. Dadgar¹, E. Ghaemi¹, M. Asmar², M. Mazandarani³ and M. Bazueri¹

1- Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Iran, E-mail: dadgar_teena@yahoo.com

2- Pasture Institute Of Iran

3- Department of Plant Biology, Gorgan Azad University, Iran

Abstract

Staphylococcus aureus is an important cause of community and hospital acquired infections. Infections caused by methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) are mainly nosocomial and are increasing in all around the world. Many attempts have been made by the researchers to find new compounds as an appropriate substitute for these antibiotics. In this study antimicrobial activities of aqueous and boiling extracts of 6 medicinal plants species collected from Golestan province on clinical and standard strains of MRSA and MSSA were assessed by disc diffusion method. Each test was repeated 3 times and mean inhibition zone was recorded. The boiling and aqueous extracts of 5 and 3 plants showed the best anti staphylococcal effect, respectively. The boiling extract of *Artemisia sieberi*, *Punica granatum*, which the maximum inhibition zone was 16.6 mm. raised the most outstanding in vitro antibacterial activities. As a result boiling extracts had better antibacterial effects than aqueous extract.

Key words: Medicinal plants, aqueous and boiling extract, *Staphylococcus aureus*.