Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2013; 16(75): 1-13

Antibacterial effects of methanolic and ethanolic leaf extract of Medlar (*Mespilus germanica*) against bacteria isolated from hospital environment

Ahmady-Asbchin S(Ph.D)[1], Safari M(M.Sc)[1*], Moradi H(M.Sc)[1], Sayadi V(M.Sc)[2]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ilam University, Ilam, Iran
2- Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

Received:15 Jan 2013, Accepted: 31 Jul 2013

Abstract

Background: The most important pathogen in nosocomial infections are microorganisms of the patient's body. Ninety percent of nosocomial infections caused by bacteria. Medlar is a medicinal plant with therapeutic effects which has been emphasized historically. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effects of methanolic and ethanolic leaf extract of medlar against bacteria isolated from hospital environment.

Materials and Methods: In this experimental study, the nosocomial bacteria were obtained from shahid Mostafa Khomeini hospital, Ilam, Iran. Soxhlet extraction method was used for medlar leaf extract. Disk diffusion method was used to evaluate the antimicrobial effect and broth microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration.

Results: Two strains of *Pseudomonas aeruginosa*, three strains of *Staphylococcus aureus* and five strains of *Escherichia coli* were isolated from hospital. The results showed that the methanolic extract of Medlar leaf inhibited the growth of Pseudomonas aeruginosa strains and four strains of *Staphylococcus aureus* and also inhibited the growth of all strains of Escherichia coli strains except E_4 strain. The maximum antimicrobial activity was against E_2 strain which zone diameter around it was 19.67 millimeters. Quantities of minimum inhibitory concentration for all three strains of P_1, P_2 and P_3 and E_2, E_3, E_5, S_1, S_2 and S_3 strains was equal to 125 mg/ml.

Conclusion: Medlar leaf methanolic extract possesses significant antibacterial activity against bacteria causing nosocomial infections and so this extract can be considered in the control of infectious diseases.

Keywords: antibacterial activity, bacterial Infections, disk diffusion, mespilus germanica extracts, Pseudomonas aeruginosa

*Corresponding author:
Address: Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ilam University, Ilam, Iran
Email: m.safari@mail.ilam.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 16، شماره 6 (شماره پیاپی 75)، شهریور 1392، 13-1

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی و اتانولی برگ درخت ازگیل(*Mespilus germanica*) بر باکتری‌های جدا شده از محیط بیمارستانی

سلمان احمدی اسبچین[1]، معین صفری*[2]، حسین مرادی[3]، وحید صیادی[4]

1. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
2. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
3. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
4. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت: 91/10/26 تاریخ پذیرش: 92/5/9

چکیده

زمینه و هدف: مهم‌ترین عامل بیماری‌زا در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، میکروارگانیسم‌های موجود در بدن بیمار است. 90 درصد از عفونت‌های بیمارستانی توسط باکتری‌ها ایجاد می‌گردد. ازگیل یکی از گیاهانی است که اثرات درمانی آن از دیر باز مورد توجه بوده است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل در مقابل برخی از باکتری‌های جدا شده از محیط بیمارستانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، باکتری‌های عفونت‌زا از بیمارستان شهید مصطفی خمینی شهر ایلام نمونه برداری شدند. برای تهیه عصاره برگ ازگیل از روش سوکسله استفاده شد. به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی از روش براث میکرو دیلوشن استفاده گردید.

یافته‌ها: دو گونه سودوموناس آئروژینوزا، سه گونه استافیلوکوکوس اورئوس و پنج گونه اشرشیاکلی از بیمارستان جداسازی شدند. نتایج نشان داد که عصاره متانولی برگ ازگیل مانع از رشد تمام گونه‌های پسودوموناس آئروجینوزا و هر چهار گونه استافیلوکوکوس شد و هم‌چنین مانع رشد تمام سویه‌های اشرشیاکلی به استثناء سویه E_4 گردید. بیش‌ترین فعالیت ضد میکروبی علیه سویه E_2 بود که قطر هاله اطراف آن 19/67 میلی‌متر می‌باشد. مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی برای هر 3 سویه P_1 و P_2 و P_3 و سویه‌های S_1، S_2، S_3، E_2، E_3 و E_5 برابر با 125میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی برگ ازگیل فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی علیه باکتری‌های عفونت‌زای بیمارستانی دارد و لذا این عصاره می‌تواند در کنترل برخی بیماری‌های عفونی مد نظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اثرات ضد باکتریایی، عفونت باکتریایی، روش انتشار دیسک، عصاره ازگیل، سودوموناس آئروژینوزا

***نویسنده مسئول**: ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

Email: m.safari@mail.ilam.acir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

مقدمه

بیماری‌های عفونی در زمره شناخته شده‌ترین بیماری‌هایی هستند که همواره گریبان‌گیر انسان بوده و تلاش‌های زیادی جهت شناخت عوامل ایجاد کننده، درمان و کنترل آنها صورت گرفته است(1). مهم‌ترین عامل بیماری‌زا در ایجاد عفونت و به ویژه عفونت‌های بیمارستانی، میکروارگانیسم‌های موجود در بدن بیمار است که به صورت تماس بیمار با بیمار و یا توسط کارکنان بهداشتی، درمانی بیمارستان منتقل می‌شود(2). نود درصد از عفونت‌های بیمارستانی توسط باکتری‌ها ایجاد می‌گردد، عوامل قارچی، ویروسی یا پروتوزوا دخالت کمتری دارند. کلبسیلا پنومونیه، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های پروتئوس از جمله مهم‌ترین عوامل مسبب عفونت بیمارستانی هستند(3، 4). عفونت‌های بیمارستانی از عوامل عمده مرگ و میر بیماران در مراکز درمانی بوده و هزینه‌های قابل توجهی را بر بیمار و سیستم بهداشت و درمان تحمیل می‌نماید(5). هم اکنون از داروهای متنوعی برای درمان بیماری‌های عفونی از قبیل آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپوریون‌ها، وانکومایسین و نظایر آنها استفاده می‌شود(6). امروزه از گیاهان دارویی نیز به منظور کنترل و درمان عفونت‌های بیمارستانی استفاده می‌گردد(7).

گیاهان دارویی در طب سنتی و مصارف صنعتی و خوراکی کاربردهای گسترده دارند و از آنها به عنوان چاشنی، طعم دهنده و حتی نگهدارنده استفاده می‌شود. جست و جو برای کشف عوامل ضد میکروبی سالم و موثر ادامه دارد که می‌تواند هم از لحاظ درمانی و هم از لحاظ پیشگیری، در مورد طیف وسیعی از عفونت‌های باکتریایی استفاده شود (8). ازگیل یکی از گیاهانی است که اثرات درمانی آن از زمان‌های بسیار دور مورد توجه بوده است(9، 10). این گیاه به فراوانی در جنگل‌های شمال ایران وجود دارد. درخت ازگیل با نام علمی « *Mespilus germanica*» که در گویش گیلکی به آن کونوس یا کُنوس می‌گویند میوه‌ای است از خانواده‌ی گل سرخیان که از حدود سه هزار سال پیش در جنوب دریای خزر و در مناطق گیلان و مازندران کشت می‌شد. ازگیل، در جنگل‌های اروپای مرکزی و نواحی معتدل آسیا نیز می‌روید. این درخت در تمام جنگل‌های شمال ایران و همه ارتفاعات سواحل دریا و در دامنه‌های البرز به طور خودرو عمل می‌آید و با نام محلی هر منطقه شناخته می شود(11). از روزگاران دور خواص دارویی ازگیل بسیار مورد توجه بوده، بقراط ازگیل را برای مبتلایان به ترشی معده و مدفوع سوزان و عوارض تب نافع می‌پنداشت. خواص دارویی جوشانده برگ ازگیل شامل درمان آبسه دهان و گلو، درمان آنژین، درمان برفک، درمان اسهال بچه‌ها، منظم‌کننده کار روده‌ها و ورم گلو و ناراحتی‌های حلق می‌باشد(9). طبق مطالب موجود در کتب طب اسلامی جوشانده برگ ازگیل نیمه گرم یا خشک به صورت حمام یا محلول مالیدنی روی پوست باعث درمان سریع سالک می‌شود. این جوشانده علاوه بر معالجه سالک مقوی برای پوست‌های ضعیف است(10). به طور کلی ازگیل به عنوان یک گیاه دارویی معروف و یک گیاه سنتی در کشورهای آسیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد(12، 13). طبق طبقه بندی باستانی گیاهان، اثبات شده است که ازگیل می‌تواند در تغذیه کلیه و کبد و در روشنایی چشم نقش داشته باشد، از سوی دیگر طب مدرن توانایی ازگیل به عنوان یک داروی ادرار آور و هم‌چنین به عنوان یک درمان برای سنگ کلیه و عفونت مثانه را به رسمیت می‌شناسد(14). طبق بررسی‌های انجام شده توسط بیبلانی و همکاران ازگیل از طریق برگ‌ها، میوه، پوسته و حتی چوب آن به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هم‌چنین جوشانده برگ ازگیل در درمان عفونت روده بزرگ، اسهال، خون‌ریزی داخلی، لیشمانیوز جلدی و آبسه دهان و گلو مورد استفاده قرار می‌گیرد. سایر بخش‌های ازگیل از جمله میوه آن در درمان نفخ معده، بی نظمی قاعدگی و در تقویت اعصاب موثر می‌باشد(12). مطالعات شریعتی فر و همکاران نشان داد که عصاره اتانولی ازگیل در غلظت 40 درصد تاثیر فوق العاده‌ای در کاهش قطر زخم‌ها و تعداد انگل‌ها در ضایعات

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

لیشمانیوزی دارد(15). طباطبایی و همکاران با بررسی خواص دارویی و اکولوژیکی ازگیل دریافتند که عصاره برگ ازگیل برای عفونت‌های دهان و گلو ، میوه آن برای ایجاد آرامش و درمان اسهال و دانه‌های آن برای خارج کردن سنگ مثانه بسیار مفید است(16).

با استفاده از روش‌های علمی، می‌توان نتیجه گرفت که ازگیل دارای کاربردهای دارویی مهمی شامل: خاصیت آنتی اکسیدانی، تحریک سیستم ایمنی، اثرات ضدمیکروبی و فعالیت‌های ضد توموری می‌باشد(17). به نظر می‌رسد که این عملکردهای دارویی ازگیل به شدت در ارتباط با ترکیبات پلی ساکاریدی، فلاوونوئیدها، کاروتن‌ها و سایر ترکیبات طبیعی موجود در بخش‌های مختلف آن می‌باشد(18). تحقیقات نشان داده که میوه ازگیل سرشار از ترکیبات آلی، ترکیبات فنولی، اسیدهای آمینه، آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، اسید استیک و ترکیبات مغذی است. علاوه بر میوه، ساقه و برگ ازگیل نیز منبع مناسبی جهت کاربردهای دارویی می‌باشند(19). بررسی انجام شده نشان داده که ازگیل دارای مقادیر قابل توجه‌ای از ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدها می‌باشد(20، 21)، که هر یک از این ترکیبات دارای خواص ضدمیکروبی قابل توجه‌ای می‌باشند(22). امروزه، توجه بسیار زیادی بر روی ازگیل، خصوصا روی استخراج فلاوونوئیدها از این گیاه دارویی و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی آنها، وجود دارد. کوئین و همکاران نشان دادند که میوه و برگ ازگیل سرشار از فلاوونوئیدها می‌باشد که توانایی خوبی برای مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارند(19). از آن جا که بیماری‌های عفونی و میکروبی دسته بزرگی از بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند و از طرفی شمار سوش‌های میکروبی مقام به آنتی بیوتیک‌ها هر روز بیشتر می‌شوند(23). لذا هدف این پژوهش بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل علیه برخی از باکتری‌های جدا شده از محیط بیمارستانی می باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، برگ تازه درخت ازگیل از منطقه غازیان شهرستان بندر انزلی در استان گیلان و هم‌چنین از روستای لالم از توابع شهرستان صومعه سرا جمع آوری شد. پس از تائید جنس و گونه این گیاه توسط هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه گیلان این برگ‌ها برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

برای تهیه عصاره، برگ تازه درخت ازگیل ابتدا در هوای آزاد و سپس در سایه کاملا خشک شد. جهت حذف رطوبت اضافه، برگ‌ها به مدت 18 ساعت در دمای 40 درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت. سپس برگ‌ها توسط دستگاه آسیاب برقی (A 10.1، آلمان) کاملا پودر گردیده و درون ظرف‌های شیشه‌ای نگهداری شد. برای تهیه عصاره متانولی و اتانولی از روش سوکسله(Soxtherm automatic 200، آلمان) استفاده شد. در این روش از 50 گرم پودر برگ ازگیل استفاده شد و به ازای هر 10 گرم پودر 200 میلی‌لیتر حلال(متانول یا اتانول) اضافه گردید. عصاره گیری به مدت 24 ساعت صورت گرفت و در پایان حلال به وسیله دستگاه روتاری اوپراتور(Rv10 digital، آلمان) حذف گردید. عصاره به دست آمده از آخرین مرحله درون ظرفی ریخته شد و تحت دمای 50 درجه سانتی‌گراد و شرایط سترون شده خشک گردید(24).

باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه طبق روش پولتی و همکاران، از بخش‌های ICU، داخلی زنان و داخلی مردان بیمارستان شهید مصطفی خمینی شهر ایلام با رعایت نکات بهداشتی نمونه برداری و کشت داده شدند(25). در کل 50 نمونه جداسازی شد که از میان آنها باکتری‌های عفونت‌زایی که دارای درصد فراوانی بیشتری بودند، انتخاب شدند. این باکتری‌ها به ترتیب شامل دو گونه سودوموناس آئروژینوزا (P_2، P_3)، سه گونه استافیلوکوکوس اورئوس (S_2، S_3 و S_4) و پنج گونه اشرشیاکلی (E_2، E_3، E_4، E_5 و E_6) می‌باشند. برای اطمینان از جنس و گونه سویه‌های باکتری از روش‌های شناسایی اختصاصی استفاده شد. نمونه‌ها بعد از انجام آزمون‌های شناسایی، با توجه به حرف اول نام جنس آنها

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

نام‌گذاری و بر حسب مکان جداسازی به گونه‌های مجزایی شماره گذاری شدند. برای شناسایی اشرشیاکلی باکتری‌های گرم منفی به محیط ائوزین متیلن بلو(EMB) انتقال داده شدند وکلنی‌های با جلای فلزی به عنوان اشرشیاکلی انتخاب شدند، برای شناسایی سودوموناس آئروژینوزا، از آزمون‌های تشخیص بیوشیمیایی مانند آزمون اکسیداز، سیترات TSI و SIM، اوره آز و برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس، پس از رنگ آمیزی گرم ابتدا آزمون کاتالاز و سپس از آزمون های کوآگولاز لوله‌ای، آزمون DNase، رشد در محیط مانیتول سالت آگار(MSA) و بلادآگار استفاده شد. تائید واکنش‌های بیوشیمیایی با استفاده از سویه‌های کنترل *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC 1074)، *Escherichia coli* (PTCC133) و *Staphylococcus aureus* (PTCC1112) تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران انجام شد(26). از دیگر باکتری‌های جدا سازی شده جنس‌های کلبسیلا، استرپتوکوکوس، پروتئوس و باسیلوس بود که چون جز هدف مطالعه نبودند آزمایشات تشخیصی دیگر برای تعیین گونه روی آنها انجام نشد. سویه استاندارد *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC 1074) به عنوان سویه P_1 و سویه استاندارد(TCC 1330) *Escherichia coli* به عنوان سویه E_1 و سویه استاندارد *Staphylococcus aureus* (PTCC1112) به عنوان سویهS_1 در نظر گرفته شدند. در مجموع 6 سویه اشرشیاکلی(E_1، E_2، E_3، E_4، E_5 و E_6)، 4 سویه استافیلوکوکوس اورئوس (S_1، S_2، S_3، S_4) و 3 سویه سودوموناس آئروجینوزا (P_1، P_2، P_3) برای بررسی اثر ضد باکتریایی به کار گرفته شدند. برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلندی از باکتری‌ها($1/5 \times 10^8$cfu/ml) ابتدا باکتری‌ها را به طور جداگانه روی محیط کشت‌های مولر هینتون آگار کشت داده و به مدت 24 ساعت در انکوباتور قرار داده و سپس برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلندی از آن استفاده شد. به این ترتیب که به اندازه تعداد میکروارگانیسم‌ها لوله استریل تهیه گردید و داخل هر لوله به مقدار 10 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شد. سپس به وسیله آنس حلقوی از کلنی‌های باکتری‌ها برداشته و داخل آنها انتقال داده شد. سپس به مدت 10 دقیقه ورتکس گردید. از سوسپانسیون ورتکس شده باکتری‌ها در کوئیت‌های شیشه‌ای مخصوص دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و جذب نوری آنها تعیین شد. به منظور تهیه کدورت نیم مک فارلندی باید جذب نوری در طول موج 620 نانومتر برابر 0/08-0/1 شود. در نهایت از تمام باکتری‌ها غلظت نیم مک فارلندی تهیه شد(27). این آزمایش همیشه قبل از انجام آزمون‌های آنتی‌بیوگرام برای تهیه سوسپانسیون میکروبی لازم، تکرار می‌شد.

در این تحقیق به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره برگ ازگیل از روش انتشار دیسک(diffusion Disk) و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی(Minimum Inhibitory Concentration-MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration-MBC) از پلیت‌های 96 خانه‌ای استریل و روش براث میکرودیلوشن استفاده گردید. ابتدا از عصاره متانولی برگ ازگیل به وسیله دی متیل سولفوکساید(DMSO)10 درصد، رقت‌های 63 ، 125، 250، 500، 1000 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. به تعداد باکتری‌ها دیسک پیپر بلانک 6 میلی‌متری تهیه شده و در داخل رقت‌های مختلف از هر عصاره ریخته شد. پس از 10 دقیقه که دیسک‌ها از عصاره غنی شدند آنها را از داخل عصاره‌ها بیرون کشیده و به طور جداگانه در پلیت‌های شیشه‌ای داخل آون 35 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا حلال آن بخار و دیسک‌ها خشک شود. دیسک‌ها قبل و بعد از ترکیب با عصاره‌ها وزن شد و اختلاف آن دو، مقدار عصاره‌ای بود که دیسک‌ها در رقت‌های مختلف هر عصاره جذب کرده بودند که مقدار عصاره جذب شده توسط هر دیسک در رقت‌های مختلف در جدول 1 آمده است. به این ترتیب دیسک‌های غنی از عصاره برای بررسی خواص ضد باکتریایی آماده شد(28). از سوسپانسیون نیم مک فارلندی باکتری‌ها با سوآپ استریل

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

برداشته و در محیط کشت مولر هینتون آگار(مرک آلمان) به صورت چمنی کشت داده شدند(29). با روش استاندارد انتشار دیسک(کربی-بائر) دیسک‌های آغشته به عصاره در فاصله استاندارد(1/5 سانتی‌متری) از یکدیگر در محیط کشت‌ها قرار داده شدند(27، 30). محیط کشت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده و بعد از 24 ساعت قطر هاله‌ها با استفاده از خط‌کش معمولی اندازه گیری گردید. تمام آزمایشات سه بار تکرار شد(29). جهت مقایسه قدرت ضد میکروبی عصاره از دیسک آنتی بیوتیک‌های رایج مصرفی علیه باکتری‌های مورد مطالعه به عنوان شاهد مثبت و از دی متیل سولفوکساید 10 درصد به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

جدول1. مقدار عصاره جذب شده توسط دیسک‌ها (بر حسب میلی‌گرم) در غلظت‌های(بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مختلف از عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل

عصاره جذب شده توسط دیسک‌ها	غلظت عصاره‌ها
45	1000
23	500
12	250
5	125
1/8	63

تعیین حداقل غلظت مهارکننده(MIC)، با استفاده از پلیت‌های 96 خانه‌ای استریل و روش براث میکرودیلوشن طبق دستورالعمل CLSI انجام شد(31). به این ترتیب که پس از تهیه یسوسپانسیون باکتری معادل 5×10^6 cfu/ml، به هر یک از چاهک‌ها 50 میکرولیتر محیط نوترینت براث به اضافه50 میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده عصاره(63 تا 1000 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه گردید، سپس مقدار50 میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده باکتری به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت‌های به مدت 24-18 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با مقایسه کدورت چاهک‌های تحت تیمار با چاهک‌های شاهد میزان MIC مشخص گردید و اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت باز دارنده به صورت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد(32). MBC عصاره‌ها با توجه به نتایج MIC تعیین شد. از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آنها کاملا متوقف شده بود با سوآپ استریل نمونه برداری و روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری شدند. پس از 24 ساعت کم‌ترین غلظتی از عصاره که باکتری‌ها در آن رشد نکرده بودند به عنوان مقادیرMBC گزارش شدند. در مرحله بعد، به دلیل اثبات این که دی متیل سولفوکساید 10 درصد تاثیری بر رشد باکتری‌های مورد بررسی نداشته است از آن به عنوان کنترل منفی استفاده شد. بنابراین به تعداد تمام باکتری‌ها دیسک کاغذی دی متیل سولفوکساید 10 درصد آغشته کرده و پس از خشک شدن در دمای 35 درجه دیسک‌ها را روی محیط کشت میکروارگانیسم‌ها که قبلا با غلظت نیم مک فارلندی در محیط مولر هینتون آگار به صورت چمنی کشت شده بود گذاشته شد(29). از شاهدهای مثبت(آنتی بیوتیک‌های رایج مصرفی بر علیه باکتری‌های مورد مطالعه) به منظور تعیین میزان تاثیر آنها بر باکتری‌ها، بررسی مقاومت دارویی باکتری‌های جداسازی شده از بیمارستان و مقایسه آنها با اثر عصاره‌ها روی باکتری‌ها استفاده شد. در این تحقیق از 6 آنتی بیوتیک به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید که عبارتند از: کلیندامایسین(2 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، استرپتومایسین(10 میکروگرم بر دیسک)، اریترومایسین(15 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، نالیدیکسیک اسید(30 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، کلرامفنیکل(30 میکروگرم بر میلی‌لیتر) و پنی سیلین(10 میکروگرم بر میلی‌لیتر). تمام آنتی بیوتیک‌ها از شرکت پادتن طب تهیه گردید.

به منظور بررسی اثر این آنتی بیوتیک‌ها به روش کربی_ بائر، ابتدا سوسپانسیون نیم مک فارلندی از باکتری‌هایی که 24 ساعت از کشت آنها گذشته بود، تهیه و سپس به وسیله سوآپ استریل باکتری‌ها به صورت چمنی در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند.

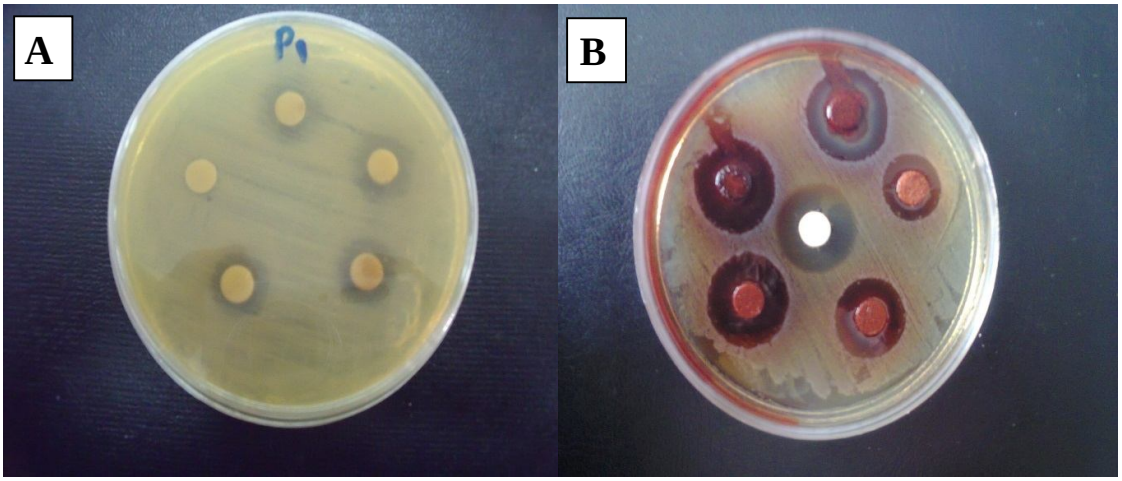
Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

دیسک‌های آنتی بیوتیک با فاصله مشخص از یکدیگر، در محیط‌های کشت قرار داده شدند و پس از 24 ساعت گرم خانه گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد قطر هاله‌ها اندازه‌گیری شد. بر طبق جداول استاندارد CLSI، میزان مقاومت و حساسیت باکتری‌ها به هر یک از آنتی بیوتیک‌ها سنجیده شد. تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار گردید(30). برای آنالیر آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه 16 و هم‌چنین از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

یافته‌ها

از 50 نمونه جدا سازی شده از بخش‌های بیمارستان، 42 نمونه(84 درصد) آلودگی باکتریایی داشتند و 8 نمونه فاقد آلودگی بودند. از بین نمونه‌های آلوده جدا سازی شده، 31 نمونه آلودگی مخلوط(73/8 درصد) و 11 نمونه آلودگی منفرد(26/2 درصد) داشتند. بیش‌ترین آلودگی را بخش ICU و کم‌ترین آلودگی را بخش جراحی مردان داشت. با توجه به آزمایشات تشخیصی بیوشیمیایی و محیط‌های کشت مخصوص، باکتری اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا که از مهم‌ترین باکتری‌های عفونت‌زای بیمارستانی محسوب می‌شوند، به ترتیب با فراوانی‌های 10، 8 و 4 درصد، جدا شدند، که می‌توان درصد آلودگی به این باکتری‌ها را در بین نمونه‌های بیماری‌زا(دارای همولیز) جدا سازی شده به ترتیب 17/24، 13/79 و 6/9 درصد اعلام کرد.

جدول1 مقدار عصاره جذب شده توسط دیسک‌ها در غلظت‌های مختلف از عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل را نشان می‌دهد. این جدول بیانگر آن است که در غلظت‌های بالاتر مقدار عصاره جذب شده نیز بیشتر است. دیسک آغشته به دی متیل سولفوکساید به عنوان شاهد منفی و دیسک‌های آنتی بیوتیک به عنوان شاهد مثبت آزمون در نظر گرفته شدند. نتایج نشان دادکه عصاره متانولی برگ ازگیل مانع از رشد هر سه سویه پسودوموناس آئروجینوزا و هر چهار سویه استافیلوکوکوس شد و هم‌چنین موجب مهار رشد تمام گونه‌های اشرشیاکلی به استثناء سویه E_4 گردید. این اثر بازدارندگی با افزایش غلظت عصاره متانولی بر روی باکتری‌ها افزایش یافته است که به صورت افزایش قطر هاله عدم رشد مشاهده شد.(شکل 1) نتایج حاصل از تاثیر مقادیر مختلف عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل به روش انتشار دیسک در جدول 2 آمده است.



شکل 1. اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی و اتانولی ازگیل. A) اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی ازگیل علیه سودوموناس آئروژینوزا(P_1). B) اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی ازگیل علیه اشرشیاکلی(E_1)

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

جدول2. میانگین و انحراف معیار قطر هاله‌های عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) حاصل از تاثیر عصاره متانولی و اتانولی ازگیل و آنتی بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌های استاندارد و جدا سازی شده از بیمارستان

آنتی بیوتیک		S_4	S_3	S_2	S_1	E_6	E_5	E_4	E_3	E_2	E_1	P_3	P_2	P_1
کلیندامایسین		11 (0)	14/33 (1/15)	13/67 (0/57)	14/67 (0/57)	11/33 (1/15)	13/33 (0/57)	16/33 (1/15)	17/67 (0/57)	14/67 (0/57)	11/33 (0/6)	10 (0)	8/33 (0/57)	6 (0)
استرپتومایسین		13 (0)	12 (0)	12/33 (1/15)	12/33 (0/57)	6 (0)	6 (0)	9/33 (0/57)	6 (0)	11/67 (0/57)	12 (0)	7/67 (0/57)	10 (0)	10/33 (1/15)
اریترومایسین		6 (0)	9 (0)	10 (0)	6 (0)	11/67 (0/57)	6 (0)	10/67 (0/57)	6 (0)	10/67 (0/57)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)
کلرامفنیکل		12/67 (0/57)	15 (0)	6 (0)	15/67 (0/57)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	20 (0)	9/67 (0/57)	12/67 (0/57)	11 (0)	10/67 (0/57)	6 (0)
نالیدیکسیک اسید		10/67 (0/57)	9 (0)	13/67 (0/57)	14 (0)	11/67 (0/57)	11 (0)	9/33 (0/57)	9/33 (0/57)	10/67 (0/57)	9/67 (0/57)	9 (0)	8 (0)	11/67 (0/57)
پنی سیلین		6 (0)	11/33 (1/15)	10 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	10 (0)
عصاره متانولی ازگیل 130	45	13/67 (0/57)	15/33 (1/15)	14/33 (1)	16/33 (1/15)	11 (0)	15 (0)	6 (0)	17/67 (0/57)	19/67 (0/57)	18/67 (0/57)	15/33 (0/57)	13 (0)	13/33 (0/57)
	23	12 (0)	13/33 (0/57)	12/67 (0/57)	14 (0)	8 (0)	11/67 (0/57)	6 (0)	9/33 (/57)	15/33 (1/15)	14/67 (1)	11/33 (0/6)	9/33 (0/57)	10/67 (0/57)
	12	10 (0)	11/33 (0/6)	10/33 (1/15)	9/67 (0/57)	7/33 (0/57)	9 (0)	6 (0)	8 (0)	10 (0)	11/33 (0/57)	9/33 (0/57)	7/67 (0/6)	9/33 (0/57)
	5	9 (0)	7/33 (0)	7/67 (0)	8/33 (0)	6 (0)	7 (0)	6 (0)	7/33 (0)	7/33 (0)	9/67 (0/6)	6/33 (0)	6/33 (0)	7/33 (0)
	1/8	7/33 (0)	6 (0)	6 (0)	7 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	7/33 (0/57)	6 (0)	6 (0)	6 (0)
عصاره اتانولی ازگیل	45	7 (0)	6 (0)	11/67 (0/57)	6 (0)	8 (0)	11/33 (1/15)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	9/67 (0/6)
	23	6/33 (0)	6 (0)	10 (0)	6 (0)	6/67 (0)	9/67 (0/6)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	8 (0)
	12	6 (0)	6 (0)	8 (0)	6 (0)	6 (0)	8 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6/67 (0)
	5	6 (0)	6 (0)	7/33 (0)	6 (0)	6 (0)	6/67 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)
	1/8	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)	6 (0)

قطر6 میلی‌متر برابر قطر دیسک است.

مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تاثیر عصاره متانولی ازگیل بر روی تمام سویه‌های مورد آزمایش نشان داد که اثر این عصاره در غلظت 1000 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از تمام آنتی بیوتیک‌های موثر بر روی سویه‌های مورد آزمایش به استثناء سویه E_4 بیشتر و یا مشابه بوده است.

هم‌چنین نتایج حاصل از قطر هاله‌های عدم رشد نشان داد که عصاره اتانولی برگ ازگیل علیه باکتری‌های مورد آزمایش اثر قابل توجهی نداشت به طوری که هیچ‌گونه اثر ممانعت کننده‌ای بر روی سویه‌های P_2 و P_3 و سویه‌های E_1، E_2، E_3 و E_4 و هم‌چنین سویه‌های S_1 و S_2 نداشت و

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

تنها بر روی رشد سویه‌های P_1، E_5، E_6 وS_3 اثر داشت که در این سطح معنی دار نمی‌باشد.

مقادیر مربوط به MIC و MBC عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل علیه باکتری‌های جدا شده از بیمارستان در جدول 3 مشخص شده است. این نتایج نیز نشان می‌دهندکه مقدار عصاره جذب شده در غلظت 1000 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی برگ ازگیل بر روی تمام سویه‌های سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و سویه‌های اشرشیاکلی به جز سویه E_4 اثر کشندگی دارد، از سوی دیگر همین غلظت از عصاره اتانولی برگ ازگیل برای سویه‌های E_5 و E_6 و P_1 کشنده است. MIC عصاره متانولی برای هر 3 سویه P_1 و P_2 و P_3 و سویه‌های E_2، E_3 و E_5 و هم‌چنین سویه‌های S_1، S_2 و S3 برابر با 125 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه‌های E_1وS_3 برابر با 63 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه E_4 برابر با250 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود .

جدول3. مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

باکتری‌ها	عصاره اتانولی برگ ازگیل (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)		عصاره متانولی برگ ازگیل (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	
	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت مهارکنندگی
P_1	1000	250	1000	125
P_2	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
P_3	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
E_1	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	63
E_2	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
E_3	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
E_4	بدون تاثیر	بدون تاثیر	بدون تاثیر	بدون تاثیر
E_5	1000	125	1000	125
E_6	1000	500	1000	250
S_1	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
S_2	1000	125	1000	125
S_3	بدون تاثیر	بدون تاثیر	1000	125
S_4	1000	500	1000	63

بحث

عصاره متانولی برگ ازگیل دارای فعالیت ضد باکتریایی مناسبی در مقابل باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروجینوزا می‌باشد و در بین سویه‌های بررسی شده در این مطالعه بیش‌ترین فعالیت ضد میکروبی علیه سویه E_2 بود که قطر هاله ایجاد شده در اطراف آن 19/67 میلی‌متر می‌باشد که در مقایسه با تمام آنتی بیوتیک‌های موثر بر این باکتری بیشتر است. نتایج نشان داد که عصاره متانولی و اتانولی برگ ازگیل دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های مورد آزمایش می‌باشد و در بین باکتری‌های مورد آزمایش از نظر حساسیت به عصاره متانولی برگ ازگیل، بیش‌ترین حساسیت مربوط به سویه E_2 بود و کم‌ترین حساسیت را سویه‌های P_2 و P_3 داشتند. با بررسی قطر هاله‌های عدم رشد

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

مشخص شد که با افزایش مقدار عصاره جذب شده، خاصیت ضد میکروبی آن نیز افزایش پیدا می‌کند و در غلظت بالا که مقدار عصاره جذب شده بیشتر است، اثر ضد باکتریایی عصاره برگ ازگیل مشابه و حتی بیشتر از برخی آنتی بیوتیک‌ها بود. از طرف دیگر عصاره اتانولی برگ این گیاه علیه باکتری‌ها، اثر قابل توجهی نداشت به طوری که بیش‌ترین حساسیت به این عصاره مربوط به سویه S_2 بوده است. عصاره‌های اتانولی و متانولی برگ ازگیل بر روی سویه E_4 اثر قابل توجه‌ای نداشتند.

در این تحقیق باکتری‌های عفونت‌زای سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به ترتیب با فراوانی 2، 4 و 5 گونه از بخش‌های مختلف بیمارستان جداسازی و شناسایی شدند، که با تحقیق جوی هاسکوی و همکاران که از بخش‌های بیمارستانی، باکتری‌های مهم در عفونت‌زایی یعنی گونه‌های سودوموناس آئروجینوزا، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی را به ترتیب با فراوانی 3، 3، 5 گونه جداسازی و شناسایی کردند، هم‌خوانی دارد(33). باتوجه به تحقیق فوق می‌توان دریافت که بیش‌ترین باکتری‌های عفونت‌زای جداسازی شده از بخش‌های مختلف بیمارستان، اشرشیاکلی و کم‌ترین آن سودوموناس آئروجینوزا می‌باشد. در تحقیقات انجام شده محققین نیز بیش‌ترین ارگانیسم‌های عامل عفونت بیمارستانی کلبسیلا، اشرشیا و سودوموناس گزارش شده است(34). تحقیقات فراوانی در زمینه کاربرد عصاره‌های گیاهی در کنترل باکتری‌های عفونت‌زای بیمارستانی صورت گرفته است. برای مثال یافته‌های حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش سلطانی نژاد و همکاران که مطالعه مشابهی را علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و استرپتوکوکوس پیوژنز در شرایط آزمایشگاهی با عصاره متانولی برگ اکالیپتوس انجام داد، مطابقت دارد(35).

نتایج حاصل از اثر عصاره متانولی گیاه بومادران علیه باکتری‌های بیماریزای استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروجینوزا و باسیلوس سرئوس که توسط محمدی سیچانی و همکاران انجام پذیرفته نیز نتایج مشابهی با این پژوهش دارد که نشان دهنده اثرگذاری قابل توجه عصاره متانولی گیاهان دارویی علیه باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد(36). در مطالعه مشابه دیگری هاشمی و همکاران اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی چای سبز و چای سیاه را علیه سودوموناس آئروجینوزای جداسازی شده از بیمارستان شفاء کرمان را بررسی کردند و دریافتند که این عصاره‌ها در مقایسه با آنتی بیوتیک‌ها اثرات ضد باکتریایی بیش‌تری دارندکه نتایج آن با نتایج به دست آمده از این تحقیق هم‌خوانی دارد(37).

خاصیت ضدمیکروبی بسیاری از گیاهان دارویی احتمالا به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی است که در برگ این گیاهان وجود دارد(21). فلاوونوئیدها از جمله ترکیباتی که وجود آن به فراوانی در برگ ازگیل توسط محققین به اثبات رسیده است(19، 20، 38). این ترکیبات در تمام سلول‌های فتوسنتزی و از این رو در تمام گیاهان وجود دارند و به طور گسترده‌ای در میوه، ساقه، گل و برگ گیاهان موجوداند(21). مطالعات صورت گرفته نشان داده اند که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره برگ گیاهان دارویی دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشد. برای مثال اوکسوز و همکاران نشان دادند که ترکیبات فلاوونوئیدی موجود در عصاره برگ گیاهان دارویی بر روی رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، سودوموناس آئروجینوزا، باسیلوس سوبتلیس، پروتئوس ولگاریس و کلبسیلا پنومونیه اثر مهاری دارد(39). بشیر و همکاران نشان دادند که فلاوونوئیدهای موجود در عصاره گیاهان دارویی دارای اثرات مهارکنندگی علیه اشرشیاکلی، سودوموناس آئروجینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد(40). از این رو به نظر می‌رسد فعالیت ضد باکتریایی ازگیل به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در برگ این گیاهان باشد.

اخیرا فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد انگلی عصاره ازگیل در کشور مورد مطالعه قرارگرفته است، برای مثال نبوی و همکاران در سال 2011 فعالیت آنتی اکسیدانی میوه، ساقه، پوست و برگ ازگیل را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که عصاره‌های حاصل از هر یک از بخش‌های این

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

گیاه قادر به از بین بردن H_2O_2 در یک روش وابسته به غلظت می‌باشد و عصاره‌های برگ و پوست درخت ازگیل دارای مجموع ترکیبات فنولیک و فلاوونوئیدی بیش‌تری نسبت به میوه ازگیل هستند(38)، اسدی و همکاران در سال 1390 به بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ ازگیل بر روی پروماستیگوت لیشمانیا در شرایط آزمایشگاهی پرداختند و دریافتند که با افزایش غلظت عصاره برگ ازگیل تعداد پروماستیگوت‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه عصاره برگ ازگیل می‌تواند به عنوان یک داروی ضد لیشمانیا مورد استفاده قرار گیرد(41)، بنابر این تاثیر عصاره متانولی برگ ازگیل نیز احتمالا به دلیل وجود این ترکیبات در برگ این گیاه بوده است.

یافته‌ها نشان دادکه فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ ازگیل علیه باکتری‌های جدا سازی شده از بیمارستان، بیشتر از عصاره اتانولی آن می باشد، لذا استفاده از عصاره متانولی ازگیل در کنترل باکتری‌های عفونت‌زای بیمارستانی پیشنهاد می‌گردد. از سوی دیگر عصاره ازگیل می‌تواند طیف ضد میکروبی وسیع تری داشته باشد از این رو پیشنهاد می‌گردد که فعالیت ضد قارچی و ضد ویروسی این عصاره نیز بررسی گردد. ترکیبات موجود در برگ ازگیل ممکن است در درمان بسیاری از بیماری‌های حاد موثر باشد لذا با بررسی و مطالعه ترکیبات موجود در عصاره این گیاه امکان دسترسی به داروهای طبیعی فراهم می‌گردد. به دلیل افزایش سریع مقاومت آنتی یوتیکی در بین باکتری‌ها (به‌خصوص باکتری‌های عفونت‌زای بیمارستانی)، اثرات و عوارض جانبی داروهای شیمیایی و اثبات خواص ضد میکروبی برگ ازگیل، پیشنهاد می‌شودکه با انجام مطالعات تکمیلی و بالینی گسترده‌تر(در شرایط In vivo) جهت استاندارد نمودن خواص دارویی این گیاه، از این داروهای گیاهی به عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی استفاده کرد. هم‌چنین با اثبات کاربردهای متعدد درخت ازگیل از جمله خواص دارویی آنها انگیزه لازم برای حفظ و حراست این درختان در جنگل‌های شمال کشور فراهم می‌گردد.

نتیجه‌گیری

عصاره متانولی برگ ازگیل دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجه‌ای علیه باکتری‌های عفونت‌زا به ویژه نمونه‌های جدا سازی شده از بیمارستان می‌باشد، لذا این عصاره می‌تواند به عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های بیمارستانی مد نظر قرارگیرد. بنابر این استفاده از ازگیل به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی مستلزم تحقیقات بیشتری در زمینه مکانیسم عمل مواد موثر این گیاه بر روی میکروارگانیسم‌ها و مطالعات فارماکولوژیکی می‌باشد. به نظر می‌رسدکه انجام این گونه مطالعات برروی آنها ضروری بوده و این مواد را بتوان پس از انجام مطالعات تکمیلی در کنترل برخی بیماری‌های عفونی و حفظ سلامتی بیماران و پرسنل بیمارستان‌ها به خوبی مورد استفاده قرار داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از آقای دکتر سلمان احمدی اسبچین به واسطه پشتیبانی مالی از این پروژه و هم‌چنین از همکاری‌های مسئولین آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه ایلام و زحمات آقای نادر صفری در جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1- Abbasi N, Azizi-Jalilian F, Abdi M, Saifmanesh M. A Comparative Study of the Antimicrobial Effect of Scrophularia striata Boiss. Extract and Selective Antibiotics Against Staphylococcus aureus and Pesudomonas aeroginosa. Journal of Medicinal Plants. 2007;6(1):10-8.[Persian]

2- Naderinasab M, shahfarhat A, Tajzadeh P, Soroush S, Amiri M, Vahedian M. Survey Infeetion agent in Nosocomial infection with blood culture results. Daneshvar. 2006; 14 (65): 69 -75. [Persian]

3- Jain A, Singh K. Recent advances in the management of nosocomial infections. JK Science. 2007;9(1):3-8.

4- Hashemi A, Shams S, Barati M, Samedani A. Antibacterial effects of

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

of antimicrobial agents. 2005;26(5):343-56.
15- Zhang Z-p, Liao G-l, Li H-w. HPLC fingerprint of flavonoids from Lycium barbarum. Chinese Traditional and Herbal Drugs. 2008;39(1):103-5.
16- Bibalani GH, Mosazadeh-Sayadmahaleh F. Medicinal benefits and usage of medlar (Mespilus germanica) in Gilan province (Roudsar District), Iran. J Med Plants Res. 2012;6(7):1155-9.
17- Baytop T. Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). Publication of the Istanbul University. 1999;312.
18- Shariatifar N, Rahimnia R, Jamshidi AM, Pirali Hamedani M, Shoeibi Sh. Effect of Ethanolic Extract of *Mespilus germanica* on Cutaneous Leishmaniasis in BALB/c Mice. Journal of Medicinal Plants. 2011; 10(39): 76-81.[Persian]
19- Sadat Tabatabaei N, Mazandaranee M, editors. Autocology and ethnopharmacology of Mespilus germanica L. in the North of Iran. AIP Conference Proceedings; 2008.[Persian]
20- Le Marchand L. Cancer preventive effects of flavonoids-a review. Biomedicine & pharmacotherapy. 2002;56(6):296-301.
21- Xiaosong XHH. Status of Processing and Trend of Deep Processing for Lycium Berry in China [J]. Review of China Agricultural Science and Technology. 2002;3:53-6.
22- Qin L, Kang W, Zhang Z, Qi Y, Wang F. Ultrasonic-assisted extraction flavonoids and ability to scavenge 1, 1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals from medlar (a Miller) leaves and fruits. Journal of Medicinal Plants Research.3295-300.
23- Jean S-S, Hsueh P-R. High burden of antimicrobial resistance in Asia. International journal of antimicrobial agents. 2011;37(4):291-5.
24- Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. Arak Medical University Journal. 2011; 14(57): 104-112.[Persian]
5- Duque ÂS, Ferreira AF, Cezário RC, Gontijo Filho PP. Nosocomial infections in two hospitals in Uberlandia, Brazil Rev Panam Infectol. 2007; 9 (4): 14-18.
6- Henry Fc. Antimicrobial agents. In: gilman A. The pharmacological Basis of therapeutics. Newyork:mcaraew –Hill. 200.p. 1142-265.
7- Parvin N, ValidiBanitalebi M, Mobini GhR, Ashrafi K, Farrokhi E, Rafieian M, Akbari N, Safdari F, Rafei-Vardanjani L. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. 2010; 12: 76-83. [Persian]
8- Tasdelen Fisgin N, Tanriverdi Cayci Y, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. Fitoterapia. 2009;80(1):48-50.
9- Phipps JB, O'Kennon R, Lance RW. Hawthorns and medlars: Timber Press; 2003.
10- SafariZarafshan M. Child Cultivation in Islam. Tehran: Fateh Press; 1979. [Persian]
11- Potter D, Eriksson T, Evans RC, Oh S, Smedmark J, Morgan DR, et al. Phylogeny and classification of Rosaceae. Plant Systematics and Evolution. 2007;266(1-2):5-43.
12- Ayaz F, Demir O, Torun H, Kolcuoglu Y, Colak A. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (Mespilus germanica L.) fruit during ripening and over ripening. Food Chemistry. 2008;106(1):291-8.
13- Gruz J, Ayaz FA, Torun H, Strnad M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (Mespilus germanica L.) fruit at different stages of ripening. Food Chemistry. 2011;124(1):271-7.
14- Cushnie T, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. International journal

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 23:56 +0330 on Monday December 18th 2017

34- Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2003;47(5):1681-8.
35- Soltani Nejad SH, Setaei Mokhtari T, Soltani Nejad M. Evaluation of antibacterial activity of methanol extract of eucalyptus leaves against bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Streptococcus pyogenes* in vitro. Journal of Microbial Biotechnology Research. 2010; 2(4): 21-28. [Persian]
36- Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci. 2011; 13(3): 9-14. [Persian]
37- Hashemi A, Shams S, Kalantar D, Taherpour A, Barati M. Antibacterial effect of Methanolic extract of *Camellia Sinensis* L. on Pseudomonas aeruginosa strains producing β-lactamases. J Gorgan Uni Med Sci. 2012; 14(1): 136-42. [Persian]
38- Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Asgarirad H. The antioxidant activity of wild medlar (Mespilus germanica L.) fruit, stem bark and leaf. Afr J Biotechnol. 2011;10(2):283-9.
39- Öksüz S, Ayyildiz H, Johansson C. 6-Methoxylated and C-glycosyl flavonoids from Centaurea species. Journal of natural products. 1984;47(5):902-3.
40- Bashir A, Abdalla A, Wasfi I, Hassan E, Amiri M, Crabb T. Flavonoids of Limonium axillare. Pharmaceutical Biology. 1994;32(4):366-72.
41- Asadi M, Bahrami S, Ansari Samani R. The effect of *Stachys Lavandulifolia vahl.* And *Mespilus Germanica L*. leaves hydroalcohlic extracts on lishmania major (MRHO/IR/75/ER) in vitro. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 2010; 5(1): 39-43.
L.(Asteraceae) extract. Journal of ethnopharmacology. 2005;101(1):185-90.
25- Poletti L, Pasquarella C, Pitzurra M, Savino A. Comparative efficiency of nitrocellulose membranes versus RODAC plates in microbial sampling on surfaces. Journal of Hospital Infection. 1999;41(3):195-201.
26- Stocker-Worgotter E. Approaches to a biotechnology of lichen forming fungi: induction of polyketide pathways and the formation of chemosyndro mesinaxenically cultured mycobionts. Recent Research Developments in Phytochemistry.2005;9: 115-23.
27- Ranković B, Kosanić M. Antimicrobial activities of different extracts of Lecanora atra, Lecanora muralis, Parmelia saxatilis, Parmelia sulcata and Parmeliopsis ambigua. Pak J Bot. 2012;44(1):429-33.
28- Karagoz A, Dogruoz N, Zeybek Z, Aslan A. Antibacterial activity of some lichen extracts. J Med Plants Res. 2009;3:1034-9.
29- Rankovič B, Rankovic D, Maric D. Antioxidant and antimicrobial activity of some lichen species. Microbiology. 2010;79(6):809-15.
30- Bauer A, Kirby W, Sherris JC, turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology. 1966;45(4):493-501.
31- MyungJin C, Yohannes SB, Damte D, Reza M, TaeHan K. The in vitro antibacterial activity of enrofloxacin-trimethoprim combination against five bacterial species. Pakistan Veterinary Journal. 2012;32(3):363-6.
32- Sandri IG, Zacaria J, Fracaro F, Delamare AP.L, Echeverrigaray S. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Culina* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. Food Chemistry Journal. 2007; 103: 823-30.
33- Hoskeri HJ, Krishna V, Amruthavalli C. Effects of extracts from lichen Ramalina pacifica against clinically infectious bacteria. Researcher. 2010;2:81-5.