Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2015; 17(93): 39-46

Evaluation of antimicrobial activity of alcoholic and aqueous extracts from common hop (*Humulus lupulus*) and oak (*Quercus castaneifolia*)

Sefidgar AA[1], Taghizadeh Armaki M[2], Pournajaf A [3], Ardebili A[4*], Omidi S [5], Abdian Asl A [6]

1- Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, IR Iran
2- Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, IR Iran
3- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, IR Iran
4- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, IR Iran
5- Department of Pathobiology, Division of Microbiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IR Iran
6- Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi Yazd University of Medical Sciences, Yazd, IR Iran

Received: 7 Oct 2014, Accepted: 26 Nov 2014

Abstract

Background: Due to increasing antibiotic resistance, it is important to identify the antimicrobial activity of herbs. This experimental study aimed to evaluate the antimicrobial activity of herbal extracts of common hop (*Humulus lupulus*) and oak (*Quercus castaneifolia*) against several microbial standard strains.

Materials and Methods: The alcoholic and aqueous extracts of *H. lupulus* and *Q. castaneifolia* were extracted. The inhibitory effects of herbal extracts were evaluated against the microbial standard strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*) by both agar diffusion and macrobroth dilution methods. In the agar diffusion method, concentrations of extracts were 125, 250, 500 and 1000 mg/ml. In order to determine the MIC, serial dilutions were prepared with a range from 1 to 512 mg/ml.

Results: Alcoholic extract of both hop and oak showed higher inhibitory effect against microbial standard strains, compared to the aqueous extract. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Candida albicans* ATCC 76615 showed higher susceptibility to both alcoholic and aqueous extracts compared to *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Statistically significant difference was found on the MIC of alcoholic and aqueous extracts ($p< 0.05$).

Conclusion: This study revealed the considerable inhibitory effects of herbal hop and oak extracts on the various microorganisms, including bacteria and fungi. Although more research is needed in this field, they can be used as new antimicrobials in medicine.

Keywords: Alcoholic extract, Antimicrobial activity, Aqueous extract, *Humulus lupulus*, *Quercus castaneifolia*

*Corresponding Author:
Address: Department of Microbiology, Facalty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.
Email: ardebili_abdollah57@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۷، شماره۱۲ (شماره پیاپی۹۳)،اسفند ۱۳۹۳، ۴۶-۳۹

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گیاه رازک معمولی و بلوط بلندمازو

سید علی اصغر سفیدگر[۱]، مجتبی تقی زاده ارمکی[۲]، اباذر پورنجف[۳]، عبدالله اردبیلی[۴*]، سجاد امیدی[۵]، امیر عبدیان اصل[۶]

۱- دانشیار، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲- دانشجوی دکترا، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳- دانشجوی دکترا، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶- دانشجوی کارشناسی ارشد ، گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۵

چکیده

زمینه و هدف: به علت افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی، شناسایی خواص ضدمیکروبی گیاهان دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهان رازک معمولی و بلوط (گونه بُلَند مازو) علیه چند سویه استاندارد میکروبی انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان رازک و بلوط استخراج شدند. اثرات بازدارندگی عصاره‌های گیاهی علیه سویه‌های استاندارد میکروبی (اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس) از طریق روش‌های انتشار در آگار و ماکروبراث دایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های گیاهی در روش انتشار در آگار برابر با ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد نیز رقت‌های سریالی از عصاره‌ها با طیف ۱ تا ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه گردید.

یافته‌ها: عصاره الکلی هر دو گیاه رازک و بلوط در مقایسه با عصاره آبی آنها، اثرات مهاری بالاتری را علیه سویه‌های میکروبی استاندارد نشان دادند. دو سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213 و کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615، حساسیت بالاتری را نسبت به هر دو نوع عصاره الکلی و آبی گیاهان نشان دادند. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار در میزان حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) عصاره الکلی گیاهان در مقایسه با عصاره آبی آنها مشاهده شد($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره‌های گیاهی رازک معمولی و بلوط بُلَندمازو دارای اثرات مهاری قابل توجهی بر روی میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها هستند. اگرچه تحقیقات بیشتری در این زمینه ضروری می‌باشد ولی می‌توان از آنها به عنوان عوامل ضدمیکروبی جدید در پزشکی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: عصاره الکلی، فعالیت ضدمیکروبی، عصاره آبی، هومولوس لوپولوس، کوئرکوس کاستانیفولیا

***نویسنده مسئول:** گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

Email: ardebili_abdollah57@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

طی دهه‌های گذشته افزایش قابل توجهی در بروز عفونت‌های مختلف بیمارستانی ناشی از پاتوژن‌های فرصت طلب گزارش شده است. عفونت‌های بیمارستانی ممکن است افراد بستری با نقص سیستم ایمنی را درگیر کند(۱). گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها و قارچ‌ها در ایجاد چنین عفونت‌هایی در بیماران با فاکتورهای خطرساز نظیر استفاده از سوندهای ادراری، روندهای دیالیزی، نقص سیستم ایمنی و سایر موارد نقش دارند(۲). اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا از جمله شایع‌ترین عوامل باکتریایی مسبب عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. گونه‌های کاندیدا نیز از عوامل قارچی شایع عفونت های فرصت طلب به ویژه در بیماران دیابتی و دیالیزی می‌باشند(۳).

در سال‌های اخیر به علت افزایش بروز مقاومت آنتی بیوتیکی و مسئله عوارض جانبی داروها و بالا بودن قیمت برخی از آنها، استفاده از گیاهان دارویی با خواص ضدمیکروبی افزایش یافته است(۴، ۵). گیاهان دارویی منبع ارزشمندی برای تهیه داروها و مکمل‌های دارویی در جهان به شمار می‌روند. بلوط گونه بُلَندمازو (*Quercus castaneifolia*) درختی است با برگ های ریز که بومی جنگل های شمال ایران و قفقاز می باشد. این گیاه متعلق به راسته توس‌ها، تیره بلوطان و خانواده Fagaceae بوده و رویشگاه آن، جنگل‌های جلگه‌ای تا ارتفاعات شمال مازندران، گلستان و گیلان می‌باشد. پوست و برگ درخت بلوط دارای ترکیباتی نظیر تانن، قند، اسید گالیک، اسید مالیک، کوئرسین (Quercine)، موسیلاژ، پکتین، رزین و روغن است. تانن موجود در میوه این گیاه با تقویت مخاط معده در درمان و تسکین زخم معده موثر است و می‌تواند در بهبود سریع‌تر زخم‌ها و خونریزی‌ها و نیز درمان اسهال مفید باشد(۶، ۷). رازک معمولی (Common hop) یا *Humulus lupulus* از راسته گلسرخ (*Rosales*)، تیره شاهدانگان (*Cannabaceae*) و جنس رازک‌ها (*Humulus*) است که به صورت گیاهی علفی، چندساله و بالارونده اغلب در نواحی شمال ایران از جمله گرگان، چالوس، تنکابن، رشت و لاهیجان می‌روید. مخروط‌های (گل‌های) این گیاه، که دارای بوی معطر و مطبوع با طعمی تلخ است، در پزشکی جنبه درمانی دارد(۸). از این گیاه به عنوان عاملی مسکن و آرام بخش، اشتهاآور، مسهل، آرام کننده تمایلات جنسی، تقویت کننده معده و ضدعفونی کننده استفاده می‌شود. هم‌چنین، رازک در درمان مواردی چون انسداد مجاری کبد و طحال، سیفلیس و بی‌خوابی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۹). در بدنه رزینی رازک، ترکیباتی هم‌چون آلفارزین و بتارزین یافت می‌شود که دارای مواد موثر شیمیایی با خاصیت ضدمیکروبی به نام هومولون و لوپولون است(۱۲-۱۰). مواد تشکیل دهنده هومولون، آلفا- و بتا- اسیدهای تلخ هستند که مقدار آنها در انواع مختلف گیاه و حتی رازک‌های رشدیافته در نقاط جغرافیایی مختلف، متفاوت است(۱۲).

طبق گزارشات متعدد، عصاره‌های تهیه شده از قسمت‌های مختلف گیاهان رازک و بلوط دارای فعالیت ضدمیکروبی وسیع هستند(۱۲، ۱۳). تاران و همکاران در مطالعه‌ای اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره های هیدروالکلی و آبی گیاه بلوط را بر روی باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، اشریشیا کلی و دو قارچ کاندیدا آلبیکانس و ساکارومایسس سرویسیه مطالعه کردند. آنها نشان دادند که عصاره‌های هیدروالکلی و آبی این گیاه دارای فعالیت مهاری بر روی قارچ‌ها و باکتری‌های مورد بررسی می‌باشند(۱۳). کسری کرمانشاهی و همکاران با بررسی اثر عصاره الکلی گیاه رازک بر روی برخی از گونه های باکتریایی، نشان دادند که تأثیر عصاره این گیاه با غلظت آن، نسبت مستقیم داشته و هم‌چنین عصاره رازک در بالاترین غلظت خود، دارای اثر ضدمیکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت است(۱۴). در همین راستا، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان رازک و بلوط علیه چند سویه استاندارد میکروبی شامل اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و کاندیداآلبیکانس انجام گردید.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

مواد و روش ها

مواد گیاهی و میکروب‌های مورد بررسی

این مطالعه به صورت تجربی در تابستان سال ۱۳۹۲ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گردید. گیاهان دارویی مورد استفاده شامل رازک معمولی و بلوط گونه بُلَندمازو بودند. پس از جمع‌آوری میوه بلوط و گل گیاه رازک، نمونه‌ها توسط بخش هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی شناسایی و نام علمی آنها مورد تأیید قرار گرفت. هم‌چنین، سویه‌های استاندارد میکروبی شامل اشریشیا کلی ATCC 25922، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 از گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615 از گروه قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران فراهم شدند.

عصاره گیری از گیاهان بلوط و رازک

به منظور جلوگیری از تغییر در ساختار شیمیایی مواد موثر موجود در گیاهان، میوه تازه بلوط بلندمارو و گل‌های گیاه رازک معمولی، بلافاصله پس از جمع‌آوری تحت شرایط مناسب و دور از نور و رطوبت خشک شدند. فرایند عصاره‌گیری بر طبق روش سوکسلیه (Soxhlet extraction) انجام شد(۱۵). برای تهیه عصاره آبی، ابتدا در دو ارلن، به طور جداگانه مقدار ۵۰ گرم از پودر آسیاب شده هر کدام از گیاهان بلوط و رازک با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتر دوپترول مخلوط شدند. ارلن‌ها به مدت دو روز در دمای اتاق و شرایط عاری از نور، نگهداری شده که پس از گذشت ۲۴ ساعت اول، محتویات ارلن به مدت ۲۰ دقیقه به وسیله شیکر، به خوبی با هم مخلوط شدند. سپس، محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن صاف گردید. در نهایت، فرایند عصاره‌گیری از مایع صاف شده آبی توسط دستگاه Rotary evaporator در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط خلاء انجام گردید. به طور مشابهی، عصاره هیدروالکلی از هر گیاه نیز طی فرایند سوکسلیه و با استفاده از اتانول ۸۰ درصد و دی اتیل اتر به دست آمد. در نهایت، هر دو نوع عصاره حاصله از گیاهان پس از توزین، درون ظرف شیشه‌ای استریل در یخچال نگهداری شدند(۱۴).

بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی

اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و الکلی حاصله از گیاهان بلوط و رازک، از طریق روش‌های انتشار در آگار (Agar diffusion method) و ماکروبراث دایلوشن (Macrobroth dilution method) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های انتخاب شده برای هر یک از روش‌های فوق بر اساس پروتکل بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد(۱۶، ۱۷). در روش انتشار در آگار ابتدا از تمامی ایزوله‌ها، سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. پس از انجام کشت چمنی از هر یک از سوسپانسیون میکروبی بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار (MHA) (مرک، آلمان) و متعاقباً حفر چاهک در محیط، میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان تحت مطالعه با غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به چاهک منتقل شدند. هم‌چنین، از یک چاهک حاوی مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان شاهد در کنار چاهک‌های تست استفاده گردید(۱۷). پس از مرحله گرم‌خانه گذاری پلیت‌های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت، قطر نواحی مهار رشد اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری شد. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) هر یک از عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان نیز با روش ماکروبراث دایلوشن و براساس دستورالعمل CLSI تعیین شد(۱۶). به طور خلاصه، ابتدا محلول ذخیره با غلظت ۱۰۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر دو عصاره گیاهی تهیه و سپس، رقت‌های سریالی با طیف ۱ تا ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در لوله‌های مولر هینتون براث (مرک، آلمان) فراهم گردید(۱۷). عمل تلقیح سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند به لوله‌های براث حاوی عصاره انجام شد. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه انکوباتور، اولین لوله‌ای که فاقد کدورت قابل مشاهده بود، به عنوان MIC تعیین و ثبت گردید. علاوه بر این، میزان MIC چند آنتی بیوتیک شامل اریترومایسین،

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

تتراسیکلین و نیستاتین علیه سویه‌های باکتریایی و قارچی نیز به روش ماکروبراث دایلوشن تعیین شد. محدوده رقت‌های سریالی تهیه شده برای هر آنتی بیوتیک در لوله‌های مولر هینتون براث به صورت زیر بود: سیپروفلوکساسین، ۱۶- ۰/۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، جنتامایسین؛ ۳۲- ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، نیستاتین؛ ۱۶- ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر. در پایان، نتایج MIC مربوط به آنتی بیوتیک‌ها و عصاره‌های گیاهی علیه سویه‌های میکروبی با یکدیگر مقایسه شدند. به منظور کسب نتایج دقیق‌تر، تمامی آزمون‌های تعیین حساسیت در سویه‌های میکروبی، دو بار تکرار شدند(۱۸).

در پایان، نتایج به دست آمده با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و با استفاده از آزمون آماری پیرسون کای- دو(Pearson's chi-squared) انجام گردید. اختلاف میان متغیرهای درون گروهی و متغیرهای بین گروهی در سطح کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان رازک و بلوط با روش انتشار در آگار بر روی سویه‌های میکروبی مورد بررسی در جداول ۱ و ۲ آمده است. به طور کلی، عصاره الکلی هر دو گیاه در مقایسه با عصاره آبی، اثرات مهاری بالاتری را علیه سویه‌های میکروبی استاندارد نشان دادند. هر دو عصاره الکلی و آبی گیاهان مورد مطالعه، بیشترین خاصیت مهاری وابسته به غلظت را علیه ارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213 و کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615 نشان دادند.

جدول ۱. میانگین قطر هاله مهار رشد در سویه های استاندارد میکروبی نسبت به غلظت های مختلف عصاره های الکلی و آبی رازک معمولی

سویه استاندارد میکروبی	غلظت هر یک از عصاره های رازک (میلی گرم بر میلی لیتر)							
	۱۰۰۰		۵۰۰		۲۵۰		۱۲۵	
	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی
اشریشیا کلی ATCC 25922	۹/۸±۰/۴۹	۶/۲±۰/۷۸	۸/۴±۰/۴۲	۵/۵±۰/۴۳	۶/۷±۰/۶	–	۵/۸±۰/۷۳	–
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213	۱۸/۱±۰/۴۳	۱۵/۸±۰/۹	۱۷/۷±۰/۵۷	۱۴/۹±۰/۲۹	۱۶/۹±۰/۳۳	۱۳/۳±۰/۸	۱۵/۶±۰/۶	۱۲/۱±۰/۴
سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853	۱۳/۱±۰/۶۵	۴/۸±۰/۲۳	۱۲/۳±۰/۵۱	۳/۵±۰/۱۲	۱۱/۷±۰/۱۷	–	۱۰/۵±۰/۱۲	–
کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615	۲۲/۸±۰/۸۶	۱۰/۹±۰/۷	۱۸/۸±۰/۲۳	۸/۲±۰/۴۳	۱۷/۸±۰/۵۶	۷/۲±۰/۲۸	۱۵/۸±۰/۱۱	۶/۴±۰/۱۹

جدول ۲. میانگین قطر هاله مهار رشد در سویه های استاندارد میکروبی نسبت به غلظت های مختلف عصاره های الکلی و آبی بلوط بلندمازو

سویه استاندارد میکروبی	غلظت هر یک از عصاره های بلوط (میلی گرم بر میلی لیتر)							
	۱۰۰۰		۵۰۰		۲۵۰		۱۲۵	
	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی
اشریشیا کلی ATCC 25922	۶/۲±۰/۱۲	–	۵/۱±۰/۵۴	–	۴/۲±۰/۴۵	–	۳/۴±۰/۱۲	–
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213	۱۶/۹±۰/۹۴	۱۰/۱±۰/۳۱	۱۵/۱±۰/۵۷	۹/۲±۰/۳۵	۱۴/۳±۰/۷۸	۸/۸±۰/۶۷	۱۳/۴±۰/۸۹	۷/۴±۰/۷۸
سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853	۱۰/۴±۰/۲۵	–	۸/۸±۰/۱۵	–	۷/۷±۰/۵۶	–	۷/۱±۰/۷۶	–
کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615	۲۳/۴±۰/۵۸	۶/۷±۰/۸۹	۱۸/۹±۰/۴۹	۵/۶±۰/۷۸	۱۴/۵±۰/۳۸	۳/۶±۰/۹	۱۳/۲±۰/۳۲	۲/۹±۰/۱

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

اشریشیا کلی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 از حساسیت ضدمیکروبی پایین‌تری نسبت به تمامی غلظت‌های تهیه شده از هر دو نوع عصاره گیاهی برخوردار بودند؛ تا حدی که هیچ یک از غلظت‌های مورد بررسی عصاره آبی بلوط، فعالیت ضدمیکروبی خاصی علیه این دو ارگانیسم نداشتند. در آزمون تعیین MIC نیز تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت ضدمیکروبی عصاره الکلی گیاهان در مقایسه با عصاره آبی مشاهده شد($p<۰/۰۵$) (جدول ۳)؛ به طوری که در مجموع، طیف MIC عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان مورد بررسی علیه سویه‌های میکروبی به ترتیب برابر با ۸ تا ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۱۲۸ تا بیشتر از ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مشابه با نتایج حاصله از آزمون تعیین حساسیت با روش انتشار در آگار، سویه‌های استاندارد اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا سطح مقاومت بالاتری را در مقایسه با ارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکانس نشان دادند. هم‌چنین، براساس نتایج MIC به دست آمده برای آنتی بیوتیک‌ها و مقایسه آنها با معیارهای CLSI، مشخص گردید که تمامی سویه‌های استاندارد میکروبی نسبت به آنها حساس بودند.

جدول ۳. نتایج MIC مربوط به عصاره های گیاهی وآنتی بیوتیک های مورد بررسی علیه سویه های استاندارد میکروبی

سویه استاندارد میکروبی	تعیین شده برحسب میلی گرم در میلی لیترMIC						
	عصاره رازک		عصاره بلوط		نیستاتین	سیپروفلوکساسین	جنتامایسین
	الکلی	آبی	الکلی	آبی			
اشریشیا کلی ATCC 25922	۲۵۶	>۵۱۲	۱۲۸	>۵۱۲	-*	۰/۰۶	۲
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213	۸	۱۲۸	۸	۲۵۶	-	۰/۵	۴
سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853	۱۲۸	>۵۱۲	۲۵۶	>۵۱۲	-	۱	۴
کاندیداآلبیکانس ATCC 76615	۱۶	۲۵۶	۸	۵۱۲	۲	-	-

* عدم استعمال آنتی بیوتیک مورد نظربرای تعیین MIC می‌باشد.

بحث

برخی از گیاهان دارای اثرات ضدمیکروبی هستند که می‌توانند رشد میکروب‌ها را مهار کنند و یا حتی سبب کشتن آنها شوند. در مطالعه حاضر با استفاده از آزمون تعیین حساسیت انتشار در آگار مشخص شد که عصاره الکلی گیاهان رازک معمولی و بلوط بلند مارو از خاصیت ضدمیکروبی واضحی علیه میکروارگانیسم‌ها برخوردار است. از طرف دیگر، برخی از ارگانیسم‌های مورد مطالعه، مقاومت قابل توجهی را در برابر عصاره آبی به ویژه استخراج شده از بلوط نشان دادند. این یافته‌ها با نتایج حاصله از آزمون ماکرودایلوشن براث تأیید گردید که طیف MIC عصاره آبی گیاهان رازک و بلوط به ترتیب علیه تمامی چهار سویه استاندارد به ترتیب برابر با ۱۲۸ تا بیشتر از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۲۵۶ تا بیشتر از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

مشابه با نتایج مطالعات گذشته(۱۳، ۱۴)، در مطالعه حاضر اشریشیا کلی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 بیشترین مقاومت و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213 و کاندیدا آلبیکانس ATCC 76615 بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره آبی و الکلی گیاهان رازک و بلوط در هر دو روش ماکرودایلوشن براث و آگار دایلوشن از خود نشان داده‌اند. این اختلاف در نتایج می‌تواند ناشی از وجود لایه اضافی غشاء خارجی در باکتری‌های گرم منفی باشد که باعث کاهش نفوذ مواد ضدمیکروبی یا عصاره‌های گیاهی به داخل سلول می‌شود. به طور مشابهی، تاران و همکاران در مطالعه‌ای اظهار داشتند که عصاره‌های هیدرو الکلی و اتری گیاه بلوط ایرانی می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌های مختلف شامل قارچ و باکتری را مهار نموده و از طرف دیگر، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

حساسیت بیشتری به عصاره‌های هیدرو الکلی و اتری گیاه نشان داده‌اند(۱۳).

صفری و همکاران فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی میوه بلوط ایرانی را با استفاده از روش انتشار دیسک بر علیه ۸ باکتری اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، شیگلا دیسانتریه، بروسلا ملی تنسیس، سالمونلا تیفی، پروتئوس میرابیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، بوردتلا برونشی سپتیکا بررسی کردند. این عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف علیه باکتری‌های مورد بررسی، دارای اثر مهارکنندگی بودند. بالاترین فعالیت را عصاره اتانولی با قطر مهاری ۳۰ میلی‌متر علیه بروسلا ملی تنسیس و بوردتلا برونشی سپتیکا نشان داده در حالی که پایین‌ترین فعالیت مربوط به عصاره متانولی با قطر مهاری برابر با ۷ میلی‌متر علیه اشریشیاکلی بود(۱۹). هم‌چنین، سیمپسون و همکاران طی مطالعه‌ای، فعالیت فاکتورهای ضدباکتریایی موجود در عصاره رازک را مورد بررسی قرار دادند که در بین آنها بتااسیدها دارای اثرات بالای ضدباکتریایی بودند(۲۰). در مطالعه دیگر نیز به خاصیت ضدمیکروبی تانن موجود در عصاره این گیاه اشاره شده است که ناشی از مهار فرایند اتصال میکروبی و غیرفعال کردن آنزیم‌های میکروبی و فاکتورهای بیماری‌زایی دیگر می‌باشد(۲۱).

از نتایج قابل توجه در مطالعه حاضر، خاصیت مهارکنندگی وابسته به غلظت عصاره‌های گیاهی بود که هر دو نوع عصاره استخراج شده از گیاهان مورد بررسی در غلظت ۱۲۵ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین فعالیت ضدمیکروبی را داشتند. در مطالعه کسری کرمانشاهی و همکاران، غلظت‌های معینی از عصاره الکلی رازک دارای اثر ضدمیکروبی قابل توجهی روی باکتری‌ها بودند. تأثیر عصاره‌ها با کم شدن غلظت آنها کم می‌شود. عصاره الکلی رازک در تمامی غلظت‌ها به خصوص غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری اثر مهاری روی رشد باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) و باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1023) داشتند که در این میان غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس PTCC 1023 و غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1112 دارای هر دو اثر مهاری و کشندگی بود(۱۴). خاصیت ضدمیکروبی عصاره رازک می‌تواند ناشی از حضور غلظت‌های بالای اسیدهای رزینی هومولون و لوپولون، تانن ویژه موسوم به کوئرسی تانیک اسید و نوعی قند به نام کوئرسیت باشد که در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند(۲۲، ۲۳).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه رازک معمولی و بلوط بلند مارو در شرایط آزمایشگاهی دارای اثر مهاری بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف مثل باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد. هم‌چنین لازم است که مطالعات جامع‌تری در شرایط فیزیولوژیک بدن موجود زنده انجام گردد تا غلظت موثر ضدمیکروبی این عصاره و عوارض جانبی آن در این غلظت مورد ارزیابی قرار گیرد و در نهایت بتوان از آن به عنوان یک داروی ضدمیکروبی مقرون به صرفه و با عوارض کمتر نسبت به آنتی بیوتیک‌ها استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از آقای دکتر غلامرضا ایراجیان، مدیریت محترم گروه میکروب شناسی و هم‌چنین کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران ابراز می‌نمایند.

منابع

1. Pezzlo M. Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections: Guidelines, Challenges, and Innovations. Clinical Microbiology Newsletter. 2014; 36(12):87-93.
2. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes: Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. Infectious disease clinics of North America. 2014;28(1):1-13.
3. Geerlings S, Fonseca V, Castro-Diaz D, List J, Parikh S. Genital and urinary tract infections in diabetes: Impact of pharmacologically-

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 9:39 +0330 on Monday September 25th 2017

induced glucosuria. Diabetes research and clinical practice. 2014;103(3):373-81.
4. Mason KL, Downward JRE, Mason KD, Falkowski NR, Eaton KA, Kao JY, et al. Candida albicans and bacterial microbiota interactions in the cecum during recolonization following broad-spectrum antibiotic therapy. Infection and Immunity. 2012;80(10):3371-80.
5. Hussein N. Clinical, Etiology and Antibiotic Susceptibility Profiles of Community-Acquired Urinary Tract Infection in a Baghdad Hospital. Med Surg Urol. 2014;3(136):2-5.
6. Khosravi A, Behzadi A. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of Quercus brantii on some gram negative bacteria. Pak J Med Sci. 2006;22(4):429-32.
7. Shiran B, Mashayekhi S, Jahanbazi H, Soltani A, Bruschi P. Morphological and molecular diversity among populations of Quercus brantii Lindl. in western forest of Iran. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. 2011;145(2):452-60.
8. Zanoli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of Humulus lupulus L. Journal of Ethnopharmacology. 2008; 116(3): 383-96.
9. Delmulle L, Bellahcène A, Dhooge W, Comhaire F, Roelens F, Huvaere K, et al. Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (Humulus lupulus L.) in human prostate cancer cell lines. Phytomedicine. 2006;13(9):732-4.
10. Rezaie M. Study of Humulus lupulus components. Investigation of medical and fragrant plants. 2000;3:1-13. [Persian]
11. Masek A, Chrzescijanska E, Kosmalska A, Zaborski M. Characteristics of compounds in hops using cyclic voltammetry, UV–VIS, FTIR and GC–MS analysis. Food chemistry. 2014; 156: 353-61.
12. Stevens JF, Page JE. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health! Phytochemistry. 2004; 65(10): 1317-30.
13. Taran M, Azizi A, Sharifi M. Antibacterial and antifungal effects of hydroalcoholic and etheric extracts of Quercus brantii. Journal of Microbial Biotechnology.2011; 2(4):7-11. [Persian]
14. Kasra Kermanshahi R, Nasr Isfahani B, Pourbabaee AA, Asghari GR, Esmi Sarkani J. Evaluation of alcoholic extract of Humulus lupulus against some gram-negative and – positive bacteria. Journal of Medical Plants.2010;9(30):92-7. [Persian]
15. Hawthorne SB, Grabanski CB, Martin E, Miller DJ. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. Journal of Chromatography A. 2000;892(1):421-33.
16. Clinical LSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 20th Informational Supplement (M100-S20). CLSI Wayne, PA; 2010.
17. Abdolahzade P, Shapouri R, Nasiri Semnani S. Antibacterial effects of Eucalyptus globulus extracts on Brucella melitensis M16 and Brucella abortus S99 in vitro and in vivo. Journal of Ardabil University of Medical Sciences.2011;11(3):218-27. [Persian]
18. Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clinical infectious diseases. 2009; 49(11): 1749-55.
19. Safary A, Motamedi H, Maleki S, Seyyednejad S. A preliminary study on the antibacterial activity of Quercus brantii against bacterial pathogens, particularly enteric pathogens. Intl J Botany. 2009;5(2):176-80.
20. Simpson W, Smith A. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. Journal of Applied Bacteriology. 1992;72(4):327-34.
21. Zargari A. Pharmaceutical plants. 2nd ed. Tehran: Amir Kabir Publications; 1988.
22. Johnson EA, Haas GJ. Antimicrobial activity of hops extract against Clostridium botulinum, Clostridium difficile and Helicobacter pylori. Google Patents; 2001;265–71.
23. Ohsugi M, BASNET P, Kadota S, Ishii E, Tamura T, Okamura Y, et al. Antibacterial activity of traditional medicines and an active constituent lupulone from Humulus lupulus against Helicobacter pylori. 1997;13(4):344-5.