

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

Sefidgar AA<sup>1</sup>, Taghizadeh Armaki M<sup>2</sup>, Pournajaf A<sup>3</sup>, Ardebili A<sup>4\*</sup>, Omid S<sup>5</sup>, Abdian Asl A<sup>6</sup>

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, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Email: ardebili\_abdollah57@yahoo.com

## ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گیاه رازک معمولی و بلوط بلندمازو

سید علی اصغر سفیدگر<sup>۱</sup>، مجتبی تقی زاده ارمکی<sup>۲</sup>، اباذر پورنجف<sup>۳</sup>، عبدالله اردبیلی<sup>۴\*</sup>، سجاد امیدی<sup>۵</sup>، امیر عبدیان اصل<sup>۶</sup>

- ۱- دانشیار، گروه فارغ شناسی و انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
- ۲- دانشجوی دکترا، گروه فارغ 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 ضد میکروبی گیاهان دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان رازک معمولی و بلوط (گونه بلند 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 دایلوژن مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های گیاهی در روش انتشار در آگار برابر با ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بود. به منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد نیز رقت‌های سریالی از عصاره‌ها با طیف ۱ تا ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر 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 معنی دار در میزان حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) عصاره الکلی گیاهان در مقایسه با عصاره آبی آنها مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که عصاره‌های گیاهی رازک معمولی و بلوط بلندمازو 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 ضد میکروبی جدید در پزشکی استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** عصاره الکلی، فعالیت ضد میکروبی، عصاره آبی، هومولوس لوپولوس، کوئرکوس کاستانیفولیا

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

Email: ardebili\_abdollah57@yahoo.com

## مقدمه

طی دهه های گذشته افزایش قابل توجهی در بروز عفونت های مختلف بیمارستانی ناشی از پاتوژن های فرصت طلب گزارش شده است. عفونت های بیمارستانی ممکن است افراد بستری با نقص سیستم ایمنی را درگیر کند (۱). گونه های مختلفی از باکتری ها و قارچ ها در ایجاد چنین عفونت هایی در بیماران با فاکتورهای خطرناک نظیر استفاده از سوندهای ادراری، روندهای دیالیزی، نقص سیستم ایمنی و سایر موارد نقش دارند (۲). اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا از جمله شایع ترین عوامل باکتریایی مسبب عفونت های بیمارستانی می باشند. گونه های کاندیدا نیز از عوامل قارچی شایع عفونت های فرصت طلب به ویژه در بیماران دیابتی و دیالیزی می باشند (۳).

در سال های 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 ضد میکروبی افزایش یافته است (۴، ۵). گیاهان دارویی منبع ارزشمندی برای تهیه داروها و مکمل های دارویی در جهان به شمار می روند. بلوط گونه بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) درختی است با برگ های ریز که بومی جنگل های شمال ایران و قفقاز می باشد. این گیاه متعلق به راسته توس ها، تیره بلوطان و خانواده Fagaceae بوده و رویشگاه آن، جنگل های جلگه ای تا ارتفاعات شمال مازندران، گلستان و گیلان می باشد. پوست و برگ درخت بلوط دارای ترکیباتی نظیر تانن، قند، اسید گالیک، اسید مالیک، کوئرستین (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 می تواند در بهبود سریع تر زخم ها و خونریزی ها و نیز درمان اسهال مفید باشد (۶، ۷). رازک معمولی (Common hop) یا *Humulus lupulus* از راسته گل سرخ (*Rosales*)، تیره شاهدانگان (*Cannabaceae*) و جنس رازک ها (*Humulus*) است که به صورت گیاهی علفی، چندساله و بالارونده اغلب در نواحی شمال ایران از جمله گرگان،

چالوس، تنکابن، رشت و لاهیجان می روید. مخروط های (گل های) 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، اشته آور، مسهل، آرام کننده تمایلات جنسی، تقویت کننده معده و ضد عفونی کننده استفاده می شود. هم چنین، رازک در درمان مواردی چون انسداد مجاری کبد و طحال، سیفلیس و بی خوابی مورد استفاده قرار می گیرد (۹). در بدنه رزینی رازک، ترکیباتی هم چون آلفارزین و بتارزین یافت می شود که دارای مواد موثر شیمیایی با خاصیت ضد میکروبی به نام هومولون و لوبولون است (۱۰-۱۲). مواد تشکیل دهنده هومولون، آلفا- و بتا- اسیدهای تلخ هستند که مقدار آنها در انواع مختلف گیاه و حتی رازک های رشد یافته در نقاط جغرافیایی مختلف، متفاوت است (۱۲).

طبق گزارشات متعدد، عصاره های تهیه شده از قسمت های مختلف گیاهان رازک و بلوط دارای فعالیت ضد میکروبی وسیع هستند (۱۲، ۱۳). تاران و همکاران در مطالعه ای اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره های هیدروالکلی و آبی گیاه بلوط را بر روی باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، اشیریشیا کلی و دو قارچ کاندیدا آلبيکانس و ساکارومایسس سروسیسه مطالعه کردند. آنها نشان دادند که عصاره های هیدروالکلی و آبی این گیاه دارای فعالیت مهارتی بر روی قارچ ها و باکتری های مورد بررسی می باشند (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 هم چنین عصاره رازک در بالاترین غلظت خود، دارای اثر ضد میکروبی علیه باکتری های گرم مثبت است (۱۴). در همین راستا، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره های الکلی و آبی گیاهان رازک و بلوط علیه چند سویه استاندارد میکروبی شامل اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و کاندیدا آلبيکانس انجام گردید.

## مواد و روش ها

## مواد گیاهی و میکروب های 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 بلندمازو بودند. پس از جمع آوری میوه بلوط و گل گیاه رازک، نمونه ها توسط بخش هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی شناسایی و نام علمی آنها مورد تأیید قرار گرفت. همچنین، سویه های استاندارد میکروبی شامل اشیریشیا کلی ATCC 25922، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 از گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و کاندیدا آلیکانس 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 گل های گیاه رازک معمولی، بلافاصله پس از جمع آوری تحت شرایط مناسب و دور از نور و رطوبت خشک شدند. فرایند عصاره گیری 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 میلی لیتر اتر دوپترول مخلوط شدند. ارلن ها 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 عصاره گیری از مایع صاف شده آبی توسط دستگاه Rotary evaporator در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد 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 شیشه ای استریل در یخچال نگهداری شدند (۱۴).

## بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره های گیاهی

اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و الکلی حاصله از گیاهان بلوط و رازک، از طریق روش های انتشار در آگار (Agar diffusion method) و ماکروبراث دایلوشن (Macrobroth dilution method) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت های انتخاب شده برای هر یک از روش های فوق بر اساس پروتکل بر حسب میلی گرم در میلی لیتر می باشد (۱۶، ۱۷). در روش انتشار در آگار ابتدا از تمامی ایزوله ها، سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. پس از انجام کشت چمنی از هر یک از سوسپانسیون میکروبی بر روی پلیت های مولر هیتون آگار (MHA) (مرک، آلمان) و متعاقباً حفر چاهک در محیط، میزان ۰/۱ میلی لیتر از عصاره های الکلی و آبی گیاهان تحت مطالعه با غلظت های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر به چاهک منتقل شدند. همچنین، از یک چاهک حاوی مقدار ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر به عنوان شاهد در کنار چاهک های تست استفاده گردید (۱۷). پس از مرحله گرم خانه گذاری پلیت های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت، قطر نواحی مهار رشد اطراف چاهک ها اندازه گیری شد. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) هر یک از عصاره های 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 میلی گرم در میلی لیتر از هر دو عصاره گیاهی تهیه و سپس، رقت های سریالی با طیف ۱ تا ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر در لوله های مولر هیتون براث (مرک، آلمان) فراهم گردید (۱۷). عمل تلقیح سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند به لوله های براث حاوی عصاره انجام شد. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه انکوباتور، اولین لوله ای که فاقد کدورت قابل مشاهده بود، به عنوان MIC تعیین و ثبت گردید. علاوه بر این، میزان MIC چند آنتی بیوتیک شامل اریتروماسین،

گروهی در سطح کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان رازک و بلوط با روش انتشار در آگار بر روی سوبه‌های 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 سوبه‌های 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 آلیکانس ATCC 76615 نشان دادند.

تتراسیکلین و نیستاتین علیه سوبه‌های باکتریایی و قارچی نیز به روش ماکروبراث دایلوژن تعیین شد. محدوده رقت‌های سریالی تهیه شده برای هر آنتی بیوتیک در لوله‌های مولر هیتون براث به صورت زیر بود: سیروفلوکساسین، ۱۶-۰/۰۳ میلی گرم در میلی لیتر، جنتامایسین؛ ۳۲-۱ میلی گرم در میلی لیتر، نیستاتین؛ ۱۶-۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر. در پایان، نتایج MIC مربوط به آنتی بیوتیک‌ها و عصاره‌های گیاهی علیه سوبه‌های میکروبی با یکدیگر مقایسه شدند. به منظور کسب نتایج دقیق‌تر، تمامی آزمون‌های تعیین حساسیت در سوبه‌های 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

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

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

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

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

علیه سویه های میکروبی به ترتیب برابر با ۸ تا ۲۵۶ میلی گرم در میلی لیتر و ۱۲۸ تا بیشتر از ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر بود. مشابه با نتایج حاصله از آزمون تعیین حساسیت با روش انتشار در آگار، سویه های استاندارد اشیریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا سطح مقاومت بالاتری را در مقایسه با ارگانسیم های استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلیکانس نشان دادند. همچنین، براساس نتایج MIC به دست آمده برای آنتی بیوتیک ها و مقایسه آنها با معیارهای CLSI، مشخص گردید که تمامی سویه های استاندارد میکروبی نسبت به آنها حساس بودند.

اشیریشیا کلی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 از حساسیت ضد میکروبی پایین تری نسبت به تمامی غلظت های تهیه شده از هر دو نوع عصاره گیاهی برخوردار بودند؛ تا حدی که هیچ یک از غلظت های مورد بررسی عصاره آبی بلوط، فعالیت ضد میکروبی خاصی علیه این دو ارگانسیم نداشتند. در آزمون تعیین MIC نیز تفاوت معنی داری در میزان فعالیت ضد میکروبی عصاره الکلی گیاهان در مقایسه با عصاره آبی مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۳)؛ به طوری که در مجموع، طیف MIC عصاره های الکلی و آبی گیاهان مورد بررسی

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

سویه استاندارد میکروبی	عصاره رازک		عصاره بلوط		نیستاتین	سیپروفلوکساسین	جنتامایسین
	الکلی	آبی	الکلی	آبی			
اشیریشیا 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
کاندیدا آلیکانس ATCC 76615	۱۶	۲۵۶	۸	۵۱۲	۲	-	-

\* عدم استعمال آنتی بیوتیک مورد نظر برای تعیین MIC می باشد.

## بحث

مشابه با نتایج مطالعات گذشته (۱۳، ۱۴)، در مطالعه حاضر اشیریشیا کلی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 بیشترین مقاومت و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213 و کاندیدا آلیکانس ATCC 76615 بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره آبی و الکلی گیاهان رازک و بلوط در هر دو روش ماکرودایلوژن برآث و آگار دایلوژن از خود نشان داده اند. این اختلاف در نتایج می تواند ناشی از وجود لایه اضافی غشاء خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که باعث کاهش نفوذ مواد ضد میکروبی یا عصاره های گیاهی به داخل سلول می شود. به طور مشابهی، تاران و همکاران در مطالعه ای اظهار داشتند که عصاره های هیدرو الکلی و اتری گیاه بلوط ایرانی می تواند رشد میکروارگانسیم های مختلف شامل قارچ و باکتری را مهار نموده و از طرف دیگر، باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی

برخی از گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی هستند که می توانند رشد میکروب ها 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 ضد میکروبی واضحی علیه میکروارگانسیم ها برخوردار است. از طرف دیگر، برخی از ارگانسیم های مورد مطالعه، مقاومت قابل توجهی را در برابر عصاره آبی به ویژه استخراج شده از بلوط نشان دادند. این یافته ها با نتایج حاصله از آزمون ماکرودایلوژن برآث 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 میلی گرم بر میلی لیتر و ۲۵۶ تا بیشتر از ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

سوبتیلیس PTCC 1023 و غلظت ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1112 دارای هر دو اثر مهاری و کشندگی بود (۱۴). خاصیت ضد میکروبی عصاره رازک می تواند ناشی از حضور غلظت های 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 گرفته اند (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 میکروارگانیسم های مختلف مثل باکتری ها و قارچ ها می باشد. هم چنین لازم است که مطالعات جامع تری در شرایط فیزیولوژیک بدن موجود زنده انجام گردد تا غلظت موثر ضد میکروبی این عصاره و عوارض جانبی آن در این غلظت مورد ارزیابی قرار گیرد و در نهایت بتوان از آن به عنوان یک داروی ضد میکروبی مقرون به صرفه و با عوارض کمتر نسبت به آنتی بیوتیک ها استفاده گردد.

### تشکر و قدردانی

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

### 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-

حساسیت بیشتری به عصاره های هیدرو الکلی و اتری گیاه نشان داده اند (۱۳).

صفری و همکاران فعالیت ضد میکروبی عصاره های اتانولی و متانولی میوه بلوط ایرانی را با استفاده از روش انتشار دیسک بر علیه ۸ باکتری اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، شینگلا دیسانتریه، بروسلا ملی تنسیس، سالمونلا تیفی، پروتئوس میرابیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، بوردتلا برونشی سبتیکا بررسی کردند. این عصاره ها در غلظت های مختلف علیه باکتری های مورد بررسی، دارای اثر مهارکنندگی بودند. بالاترین فعالیت را عصاره اتانولی با قطر مهاری ۳۰ میلی متر علیه بروسلا ملی تنسیس و بوردتلا برونشی سبتیکا نشان داده در حالی که پایین ترین فعالیت مربوط به عصاره متانولی با قطر مهاری برابر با ۷ میلی متر علیه اشریشیاکلی بود (۱۹). هم چنین، سیمپسون و همکاران طی مطالعه ای، فعالیت فاکتورهای ضد باکتریایی موجود در عصاره رازک را مورد بررسی قرار دادند که در بین آنها بتااسیدها دارای اثرات بالای ضد باکتریایی بودند (۲۰). در مطالعه دیگر نیز به خاصیت ضد میکروبی تانن موجود در عصاره این گیاه اشاره شده است که ناشی از مهار فرایند اتصال میکروبی و غیرفعال کردن آنزیم های میکروبی و فاکتورهای بیماری زایی دیگر می باشد (۲۱).

از نتایج قابل توجه در مطالعه حاضر، خاصیت مهارکنندگی وابسته به غلظت عصاره های گیاهی بود که هر دو نوع عصاره استخراج شده از گیاهان مورد بررسی در غلظت ۱۲۵ و ۱۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب پایین ترین و بالاترین فعالیت ضد میکروبی را داشتند. در مطالعه کسری کرمانشاهی و همکاران، غلظت های معینی از عصاره الکلی رازک دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی روی باکتری ها بودند. تأثیر عصاره ها با کم شدن غلظت آنها کم می شود. عصاره الکلی رازک در تمامی غلظت ها به خصوص غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به طور معنی داری اثر مهاری روی رشد باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) و باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1023) داشتند که در این میان غلظت ۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر در مورد باکتری باسیلوس

- 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. Zanolli 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. Abdolazade 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.