

بررسی و مقایسه تاثیرات ضد میکروبی و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و
کشندگی عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی دانه اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ
رزماری بر علیه باکتری های باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه،
استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی

زهرا فتحی^{۱*}، هادی سعیدی^۲

۱. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست فناوری میکروبی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

چکیده

سابقه و هدف: داروهای گیاهی طی قرن های متمادی جهت درمان بیماری های مختلف مورد استفاده قرار گرفته اند و امروزه نیز با وجود پیشرفت علم و توسعه کاربرد داروهای شیمیایی و سنتزی، هنوز گیاهان دارویی در مقیاس وسیع مورد استفاده قرار می گیرند. کشور ایران به علت تنوع آب و هوایی دارای طیف وسیعی از گیاهان دارویی است که پایه و اساس طب سنتی کشور می باشد. در این مطالعه به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره ی هیدروالکلی گیاهان دارویی دانه اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ رزماری و بازدارندگی و کشندگی آن ها بر علیه باکتری های باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی پرداخته شده است.

مواد و روش ها: بدین منظور در ابتدا حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره ها با تاثیر رقت های مختلف عصاره بر باکتری های مذکور در محیط BHI مایع سنجیده شد و بررسی اثرات ضد میکروبی با اندازه گیری هاله عدم رشد ناشی انتشار عصاره گیاهی از چاهک تکمیل گردید.

یافته ها: بر مبنای نتایج بدست آمده غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره هیدروالکلی دانه اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ رزماری بر علیه باکتری های باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی به ترتیب برابر با غلظت های ۱۲/۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، ۲۵، ۲۰۰، ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، ۱۲/۵، ۲۵، ۱۰۰ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد.

نتیجه گیری: این نتایج حاکی از پتانسیل بالای گیاهان دارویی دانه اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ رزماری در توسعه روش های جدید درمانی و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت ها است و می تواند به عنوان یک آغاز برای تحقیقات اختصاصی تر در زمینه خواص ضدباکتریایی این گیاهان دارویی و کاربردهای بالینی آن ها در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: اثرات ضدباکتریایی، عصاره ی هیدروالکلی دانه اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ رزماری

Investigating and comparing the antimicrobial effects and determining the minimum concentration of inhibitory and bactericidal effect of the hydroalcoholic extract of *Peganum harmala*, *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, and *Salvia rosmarinus* against *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* bacteria

Zahra Fathi^{1*}, Hadi Saeidi²

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran,

2. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran,

Abstract

Introduction: Herbal medicines have been used for many centuries to treat various diseases, and even today, despite the progress of science and the development of the use of chemical and synthetic drugs, medicinal plants are still widely used. Due to the variety of climate, Iran has a wide range of medicinal plants that are the basis of the country's traditional medicine. In this study, the antibacterial effects of hydroalcoholic extracts of *Peganum harmala*, *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, and *Salvia rosmarinus* and their inhibition and lethality against *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* bacteria have been investigated.

Materials and Methods: For this purpose, at first, the minimum inhibitory concentration and the minimum lethal concentration of the extracts were measured with the effect of different dilutions of the extract on the mentioned bacteria in aliquid BHI environment, and the antimicrobial effects were investigated by measuring the halo of non-growth caused by the release of plant extract from The well was completed.

Results: Based on the results obtained, the inhibitory concentration (MIC) of hydroalcoholic extracts of pecan seeds, fennel, cumin, and rosemary leaves against the bacteria *Peganum harmala*, *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, and *Salvia rosmarinus* are respectively equal to 12.5 concentrations. 12.5, 25 and 12.5 mg/ml, 25, 200, 25, and 100 mg/ml, 12.5, 25, 100, and 25 mg/ml, and 12.5, 25, 50, and 12.5 mg/ml were reported.

Conclusion: These results indicate the high potential of *Peganum harmala*, *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, and *Salvia rosmarinus* medicinal plants in developing new treatment methods and reducing the use of antibiotics in the treatment of infections, and can be used as a starting point for more specific research in the field of antibacterial properties of these medicinal plants and clinical applications. They will be used in the future.

Keywords: Antibacterial effects, Hydroalcoholic extract of *Peganum harmala*, *Foeniculum vulgare*, *Cuminum cyminum*, and *Salvia rosmarinus*.

مقدمه

با وجود اینکه امروزه بخش عظیمی از داروهای مصرفی، شیمیایی هستند اما تخمین زده می‌شود که دست‌کم یک‌سوم کلیه فرآورده‌های دارویی یا منشا گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه، تغییر شکل یافته‌اند و همچنین استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌ها همچنان ادامه دارد (۱). پدیده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان یک مشکل مهم در مراقبت‌های بهداشتی مطرح می‌باشد. این ویژگی، منجر به گسترش پاتوژن‌های میکروبی مقاوم به آنتی‌بیوتیک شده است (۲). علاوه بر این، روند استفاده از نگهدارنده‌ها در مواد غذایی و آگاهی مردم از اثرات سوء این ترکیبات سبب شده است تا کارخانجات تولید و بسته‌بندی مواد غذایی گرایش جدی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر برای افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی پیدا کنند (۳-۵). بنابراین باید یک جایگزین غیرشیمیایی کارآمد برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی پیدا کرد. گیاهان دارویی شامل انواع مختلفی از مجموعه گیاهان هستند که برخی از آن‌ها دارای فعالیت‌های دارویی و ضد میکروبی می‌باشند. این گیاهان نیز سرشار از متابولیت‌های ثانویه‌ای می‌باشند که برای سنتز و توسعه داروها و نیز درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). اسپند با نام علمی *Peganum harmala*

هارمالا (*Peganum harmala*) گیاهی است علفی و پایا از خانواده زیگوفیللاسه (*Zygophyllaceae*) که این گیاه، بومی مناطق خشک مدیترانه شرقی تا شمال هند می‌باشد (۷). ترکیبات فعال اسپند آلکالوئیدها هستند که شامل بتاکاربولین‌ها (هارمالین و هارمین) و مشتقات کینازولینی (وسی‌سین و وسی‌سینون) می‌باشند. بیش از ۶۰٪ آلکالوئیدهای موجود در دانه را بتاکاربولین‌ها تشکیل می‌دهند (۸ و ۹). رزماری یکی از گیاهان دارویی می‌باشد که قابلیت زیادی در تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارد. گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* از خانواده نعنائیان (لامیاسه) (*Lamiaceae*) می‌باشد. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضد سرطانی این گیاه به‌خوبی شناخته شده است (۱۰ و ۱۱). عصاره الکلی رزماری شامل ترکیبات فنولیک مانند کارنوزول، کارنوزیک اسید، رزمارینیک اسید و رزمانول می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند (۱۲). زیره‌سبز با نام علمی *Cuminum cyminum* گیاهی است ارزنده که کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی دارد. زیره‌سبز حاوی تانن، روغن زرین و اسانس می‌باشد. ترکیبات موثر اسانس کارون، فلاندرن، کومینول و سمین هستند. کومینول، آلدئیدی است که مسئول آرومای خاص زیره است و مقدار آن بسته به محل کشت زیره بین ۳۰ تا ۵۰٪ است. خواص درمانی آن مشابه زیره‌سیاه و انیسون است. برخی از خواص دارویی زیره‌سبز عبارتند از: درمان عفونت حاد و مزمن برونشیت، ضد نفخ، مقوی معده، ضد تشنج و صرع، مدر و بادشکن، قاعده‌آور و معرق (۱۳). رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare mill* از تیره جعفری می‌باشد که معطر و چند ساله به‌حالت وحشی به ارتفاع ۱ تا ۲ متر و دارای برگ‌های با پهنک تقسیم شده به قطعات نازک و نخی شکل است

نویسنده مسئول: استادیار گروه زیست شناسی،

دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

آدرس الکترونیک:

z.fathi@maragheh.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

(۱۴). بیشترین استفاده از ریشه، برگ و میوه آن است ولی معمولاً کلیه بخش‌های گیاه مفید می‌باشد. میوه گیاه فوق‌الذکر، حاوی ۱۰ تا ۱۲٪ ماده روغنی، کمی هم ماده قندی موسیلاژ و اسانس در لپه‌های دانه می‌باشد و دارای اثرهای فنی است که عامل اصلی خاصیت دارویی آن محسوب می‌شوند. ترکیب‌های شاخص این گیاه ترانس آنتول، لیمون و فنچون است. گیاه رازیانه بهترین مورد برای استخراج ترنس آنتول می‌باشد (۱۵). *باسیلیوس سرئوس* (*Bacillus cereus*) یکی از مهم‌ترین بیماری‌زاهای مواد غذایی مختلف هم‌چون لبنیات، مواد گوشتی، غلات و از جمله برنج است. این باکتری منجر به دو نوع مختلف مسمومیت غذایی یعنی نوع اسهالی و تهوع در انسان می‌شود. اسپوره‌های این باکتری حتی پس از پختن در غذا باقی می‌مانند و در صورتی که مواد غذایی در شرایط گرم و مرطوب نگهداری شود، اسپور جوانه زده و نوعی سم روده‌ای (انترتوکسین) تولید می‌کند که منجر به مسمومیت غذایی می‌شود (۱۶-۱۸). *استرپتوکوکوس پنومونیه* (پنوموکوک) (*Streptococcus pneumoniae*)، در دستگاه تنفسی فوقانی ۴۰-۵٪ افراد سالم وجود دارد و عامل بروز مننژیت، پنومونی، سپتی‌سمی، عفونت گوش میانی، باکتری، سینوزیت، برونشیت و سایر پروسه‌های عفونی معرفی شده می‌باشد (۱۹ و ۲۰). باکتری ناشی از پنومونی نیز می‌تواند منجر به عفونت‌های شدیدتری مانند مننژیت، اندوکاردیت و آرتريت عفونی شود (۱۹). *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) یکی از عوامل پیش‌رو در ایجاد عفونت‌های باکتریایی در کشورهای در حال توسعه بوده که می‌تواند منجر به طیف گسترده‌ای از بیماری‌های انسانی و حیوانی از یک عفونت کوچک پوستی تا ذات‌الریه کشنده شود (۲۱ و ۲۲). *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان علت اصلی بسیاری از عفونت‌های کسب شده از جامعه و بیمارستان شناخته می‌شود. این باکتری از یک سو، قادر به

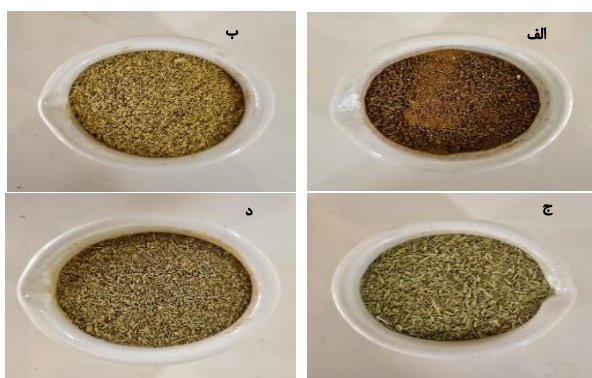
استقرار در پوست و بخش خلفی بینی افراد جامعه و پرسنل بیمارستانی بوده و توسط طیف وسیعی از افراد جامعه حمل می‌گردد (۲۳ و ۲۴). از سویی دیگر، می‌توانند بر روی سطوح خشک نیز زندگی کنند. بنابراین، تماس با وسایل شخصی مانند لباس آلوده و یا وسایل خواب موجب انتقال آن به افراد حساس خواهد شد (۲۵). *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*) باکتری معمول موجود در دستگاه گوارش پرندگان و پستانداران می‌باشد که سویه‌ی بیماری‌زای آن در بیماری‌های گوارشی انسان و دام‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. این باکتری همچنین می‌تواند عامل بیماری تنفسی در طیور شود که قادر به ایجاد تلفات قابل ملاحظه‌ای با بروز سپتی‌سمی و عوارض عمومی است (۲۶-۲۸). از طرفی *اشرشیا کلی* منجر به اسهال گوساله‌ها می‌شود که از مهم‌ترین بیماری‌هایی است که باعث خسارات اقتصادی فراوانی در گاو‌داری‌ها می‌گردد (۲۹). هدف از این مطالعه تعیین و مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های الکلی گیاهان دارویی پرکاربرد در طب سنتی با طیف گسترده اثرات ضد میکروبی شامل: دانه اسپند، رزماری، زیره سبز و رازیانه و همچنین تخمین حداقل غلظت کشندگی این عصاره‌ها بر علیه باکتری‌های *باسیلیوس سرئوس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی*، به عنوان باکتری‌های شاخص و به ترتیب نماینده‌ای از گروه‌های باکتری‌های باسیلی گرم مثبت، کوکسی‌های گرم مثبت کلتالاز مثبت و منفی و باسیل‌های گرم منفی، می‌باشد، تا بر مبنای نتایج این آزمایش، موثرترین عصاره الکلی به عنوان ماده ضد میکروبی تعیین شود.

مواد و روش‌ها

نمونه های گیاهی

به منظور تهیه عصاره گیاهی، ابتدا دانه‌های اسپند، رازیانه، زیره سبز و برگ رزماری جمع‌آوری و پس از اینکه به صورت

کامل خشک شدند، توسط آسیاب برقی کاملاً پودر گردیدند که در شکل ۱ پودر نمونه‌های گیاهی آورده شده است.



شکل ۱. نمونه‌های گیاهی (الف) دانه اسپند، (ب) برگ رازیانه، (ج) دانه زیره سبز و (د) برگ رزماری

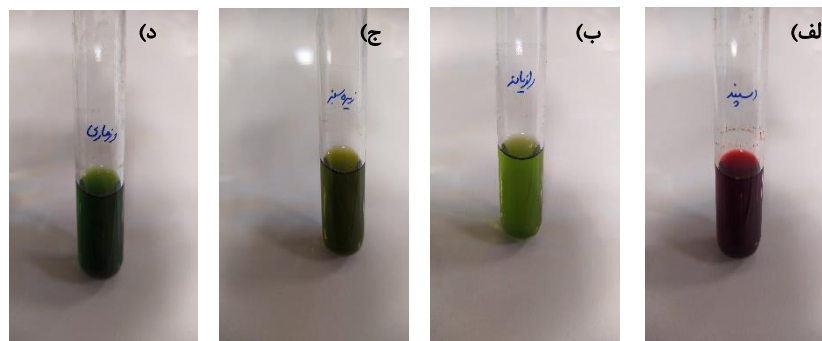
سویه‌های میکروبی

در این تحقیق از سویه‌های استاندارد باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیا کلی* جهت بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های الکلی استفاده شدند.

تهیه‌ی عصاره الکلی

جهت تهیه عصاره الکلی گیاهان مذکور، ۲۰ گرم از پودرهای تهیه شده دانه اسپند، برگ رازیانه، دانه زیره سبز و برگ رزماری توسط ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ به مدت ۷۲ ساعت خیسانیده شد و در نهایت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد)

و به دور از نور عمل فیلتراسیون با عبور از صافی واتمن ۴۲ روی عصاره صورت گرفت. عصاره حاصل جهت تغلیظ در دستگاه روتاری قرار داده شد و حجم نهایی عصاره‌های در انتهای روند تغلیظ به ۵ میلی‌لیتر کاهش یافت. در شکل ۲ عصاره‌های الکلی گیاهان استفاده شده نشان داده شده است. بدین صورت که غلظت نهایی عصاره حاصل پس از تغلیظ معادل عصاره‌ی 0.2 ± 4 گرم از گیاهان مورد استفاده در هر میلی‌لیتر نمونه تغلیظ شده رسید. عصاره استخراج شده در شیشه درب آبی استریل ریخته و تا زمان بررسی به‌منظور جلوگیری از اثر با نور با پوشش ورق آلومینیومی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد (۳۰).



شکل ۲. عصاره‌های الکلی (الف) دانه اسپند، (ب) برگ رازیانه، (ج) دانه زیره سبز و (د) برگ رزماری

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره های الکلی

بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC)

(Minimum Inhibitory Concentration)

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) با استفاده از روش رقت لوله ای تعیین گردید. در ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با کدورت ۰/۵ مک فارلند در محیط BHI براث (مرک، آلمان) تهیه شد (۳۰). برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره از ۸ سری لوله های آزمایش با ۳ تکرار جهت کاهش خطای نتایج استفاده شد. ۶ سری از لوله ها برای آزمایش رقت های متفاوت عصاره و یک سری از لوله به عنوان کنترل مثبت و یک سری از لوله ها به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. عصاره با رقت های مختلف از لوله شماره یک به غلظت ۱۲/۵ میلی-گرم بر میلی لیتر تا لوله شماره پنج به غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در محیط کشت BHI براث به همراه ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که دارای CFU/ml $10^8 \times 1/5$ باکتری بود، آماده گردید. یک لوله حاوی ۴/۵ میلی لیتر محیط کشت به علاوه ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره و ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و نیز یک لوله حاوی ۴/۵ میلی لیتر محیط کشت به علاوه ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به عنوان کنترل مثبت تهیه شد و حجم محیط هر لوله با آب مقطر استریل به ۵ میلی لیتر رسید. همه لوله های آزمایش برای مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از طی زمان انکوباسیون لوله ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده مورد بررسی قرار گرفتند. لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن کدورت حاصل از رشد باکتری مشاهده نشد، این غلظت به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی آن ماده در نظر گرفته شد. این روش برای عصاره و سویه میکروبی مورد آزمایش در ۳ تکرار انجام شد (۳۰).

بررسی حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی

(MBC)

(Minimum Bactericidal Concentration)

حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (MBC) با استفاده از روش رقت لوله ای تعیین گردید. برای تعیین MBC از همه لوله هایی که در آن ها عدم رشد باکتری مشاهده شده بود، نمونه برداری و جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره به روش پورپلیت کشت داده شدند. بدین جهت ۰/۱ میلی لیتر از هر لوله با ۲۰ میلی لیتر از مخلوط BHI آگار با درجه حرارت حدود ۳۷ درجه سانتی گراد در ظروف پتری دیش مخلوط و پس از بسته شدن آگار و انکوبه کردن به مدت ۲۴ ساعت، پلیت های کشت داده شده از نظر وجود رشد میکروبی کنترل شدند. لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوطه عدم رشد باکتری مشاهده گردید، این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی آن ماده در نظر گرفته شد (۳۰).

بررسی تشکیل هاله عدم رشد بر مبنای انتشار چاهکی در آگار

برای بررسی اثر ضد میکروبی رقت های مختلف عصاره الکلی گیاهان مذکور، از آزمون تعیین تشکیل هاله عدم رشد بر مبنای انتشار چاهکی در آگار استفاده شد. بدین منظور ابتدا محیط BHI آگار تهیه شد و به ضخامت ۵-۴ میلی متر در پلیت ها تقسیم گردید. سپس چاهک هایی به قطر تقریبی ۵ میلی متر در پلیت ها حفر شد (۳۱). کشت ۲۴ ساعته سوسپانسیون باکتری با غلظت $10^8 \times 1/5$ باکتری در هر میلی لیتر با استفاده از استاندارد محلول مک فارلند از باکتری های استاندارد باسیلوس سرئوس، استرپتوکوک پنومونیه، اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس تهیه شد و بر روی محیط BHI آگار کشت چمنی تهیه شد. سپس درون چاهک ها از رقت های ۱:۲، ۱:۴ تا ۱:۳۲ عصاره الکلی گیاه مورد نظر به مقدار 50 ± 1 میکرولیتر پر گردید (این آزمایش با سه بار تکرار انجام گردید). محیط های کشت، به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. در نهایت قطر هاله عدم رشد باکتری ها بر روی پلیت در اطراف چاهک ها اندازه گیری و میانگین قطر هاله مربوطه گزارش گردید (۳۰).

روش های آماری

بررسی‌های مربوط به تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و بررسی حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی و قطر هاله بر مبنای روش‌های ذکر شده انجام گردید و در نهایت اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌منظور بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌های کدورت ناشی از رشد باکتریایی و قطر هاله عدم رشد، از تست تکمیلی دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. همچنین جهت بررسی رابطه بین میزان غلظت‌های مختلف عصاره و تاثیرگذاری آن‌ها نیز همبستگی بین این دو پارامتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی

پس از تغلیظ عصاره‌های الکلی دانه اسپند، برگ رازیانه، دانه زیره سبز و برگ رزماری در دستگاه روتاری در نهایت به‌ترتیب به ۵ میلی‌لیتر عصاره غلیظ به‌دست آمد و در تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به‌روش سریال رقتی و روش انشار چاهکی در پلیت مورد استفاده قرار گرفت. میانگین وزن خشک عصاره‌های الکلی فوق به میزان 4 ± 0.2 گرم گیاه در میلی‌لیتر رسید که باتوجه به این مقدار جهت بیان رقت‌های مختلف عصاره، میزان این عصاره به پارامترهای وزنی تبدیل شدند. در جدول ۱ نتایج حاصل از بررسی‌های حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها در مقابل گونه‌های باکتریایی مدنظر نشان دادند که بین گیاهان مختلف از نظر حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی تفاوت معناداری وجود دارد.

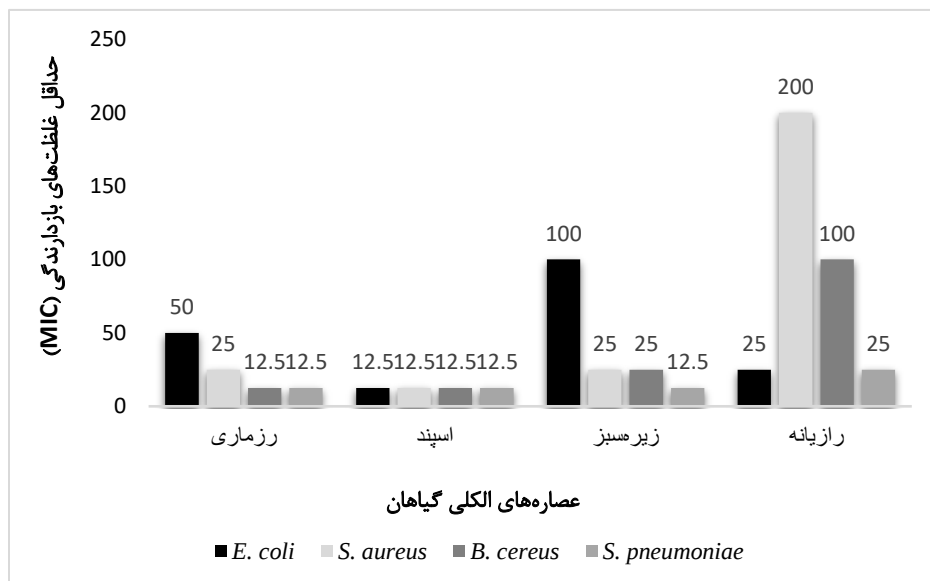
جدول ۱. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) (برحسب mg/ml) عصاره الکلی دانه اسپند، برگ رازیانه، دانه زیره سبز و برگ رزماری بر روی باکتری‌های منتخب

<i>B. cereus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. pneumoniae</i>		سویه‌های باکتریایی
MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	عصاره‌های الکلی
۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	۵۰	۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	۲۵	اسپند
۱۰۰	۲۰۰	۲۵	۵۰	۲۰۰	۴۰۰	۲۵	۲۵	رازیانه
۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۵	۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	زیره سبز
۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۵	۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	رزماری

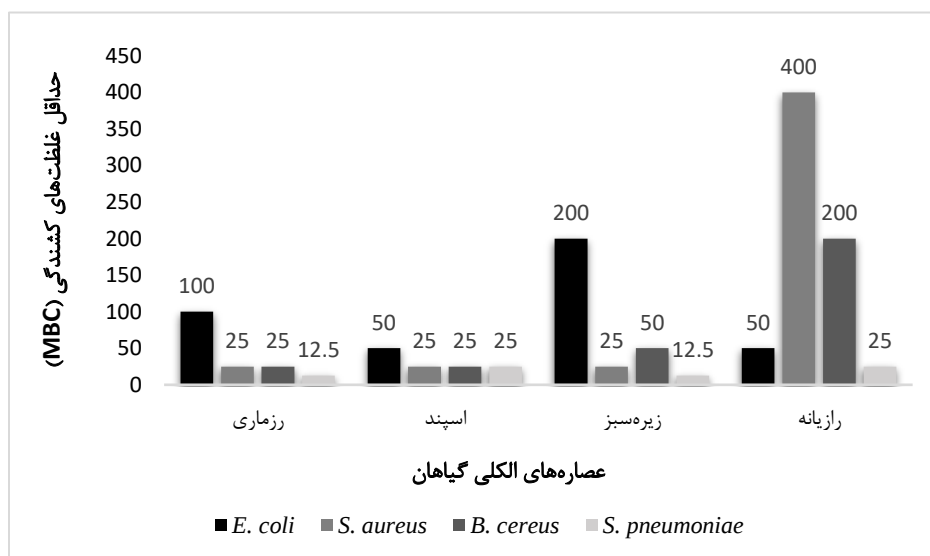
عصاره‌های الکلی گیاهی و همچنین رقت‌های مختلف از هر عصاره تاثیرات متفاوتی بر روی سویه‌های باکتریایی مختلف نشان دادند. بدین صورت که عصاره الکلی اسپند بهترین عملکرد خود را در غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای مهار رشد و در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای مرگ باسیلوس سرئوس داشت. عصاره الکلی رازیانه بهترین عملکرد خود را در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای ممانعت از رشد و در رقت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای مرگ سویه‌های

/استرپتوکوک پنومونیه نشان داد. برای عصاره زیره سبز غلظت‌های ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منجر به مهار رشد و غلظت‌های ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مرگ سویه‌های /استافیلوکوکوس /اورئوس منجر شد. همچنین عصاره الکلی رزماری در غلظت‌های ۱۲.۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب باعث مهار رشد و مرگ سویه‌های باسیلوس سرئوس شد و این رقت‌ها به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) این عصاره الکلی بر علیه

باکتری مذکور تعیین شد. نتایج ذکر شده در جدول ۱ و شکل های ۳ و ۴ آورده شده است.



شکل ۳. نمودار بررسی کمترین غلظت بازدارندگی عصاره های مختلف (MIC) بر سویه های باکتریایی مورد آزمایش



شکل ۴. نمودار بررسی کمترین غلظت کشندگی عصاره های مختلف (MBC) بر سویه های باکتریایی مورد آزمایش

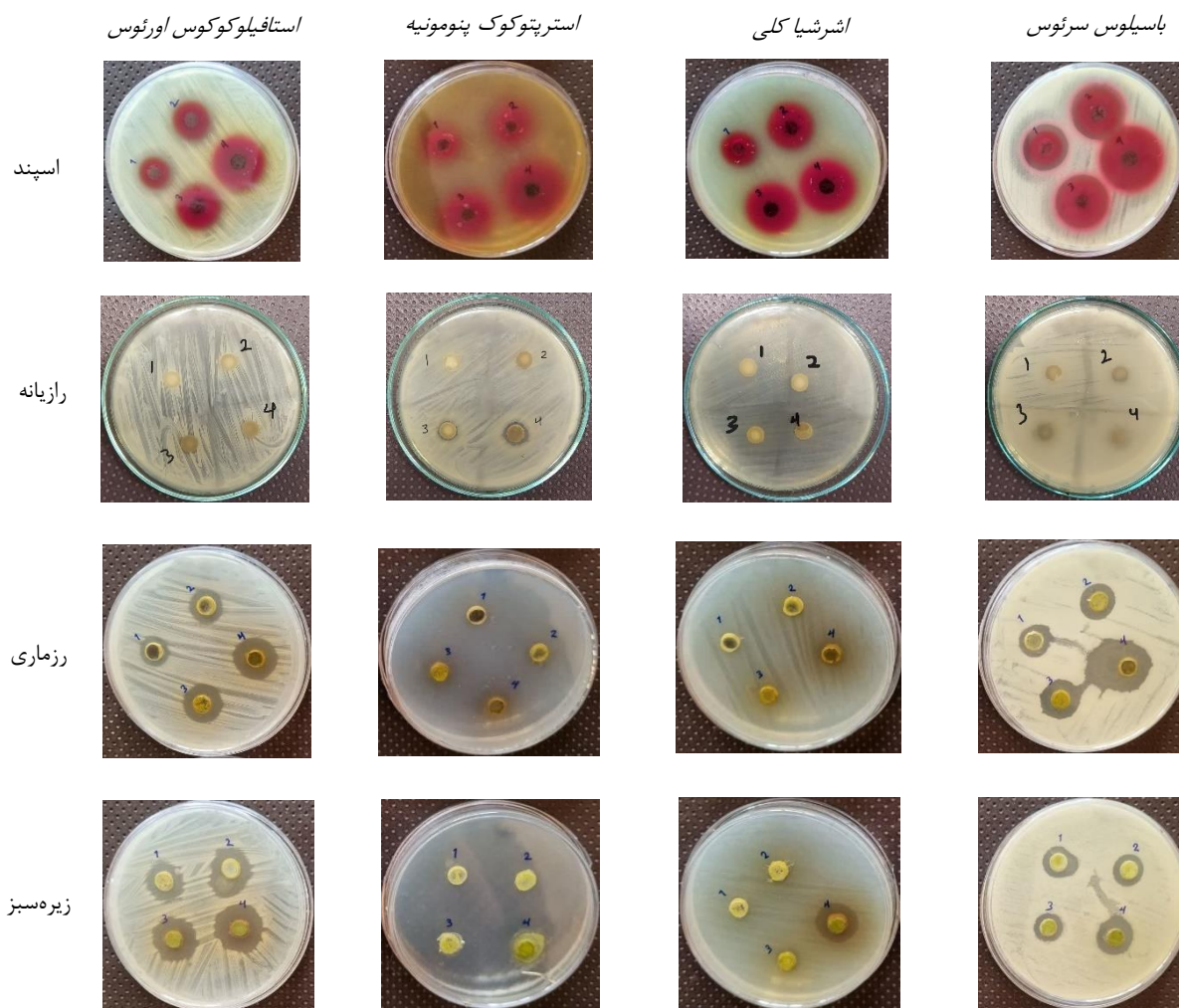
بررسی قطر هاله عدم رشد

پس از گذشتن ۲۴ ساعت از کشت باکتری‌های مورد نظر و طی شدن دوره گرماگذاری، قطر هاله عدم رشد ناشی از تاثیر عصاره‌های الکلی گیاهان مورد نظر بر روی رشد سویه‌های باکتریایی سنجیده شد. قطر هاله‌های عدم رشد برحسب میلی‌متر در جدول ۲ گزارش شده است. در شکل ۶ نتایج هاله‌های عدم رشد ناشی از تاثیرات عصاره‌های الکلی بر روی سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش نشان داده شد. نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عدم رشد سویه‌های باکتریایی با بررسی و آنالیز آماری قطر هاله‌های عدم رشد توسط نرم افزار SPSS برای هر کدام از سویه‌های مدنظر تاثیرگذارترین عصاره برگزیده شد.

با بررسی نتایج آماری حاصل از نرم افزار SPSS متوجه می‌شویم که برای سویه‌ی /شرشیا کلی عصاره‌های الکلی اسپند و رازیانه به یک سطح تاثیرگذار هستند و اختلاف معنی داری بین آن‌ها وجود ندارد ($p\text{-value} > 0.05$) و تاثیرگذارتر از دو عصاره دیگر هستند. عصاره الکلی رزماری برای سویه باسیلوس سرئوس به عنوان تاثیرگذارترین عصاره برگزیده شد چرا که از لحاظ آماری نیز اختلاف معناداری با دیگر عصاره‌های تحت بررسی از خود نشان داد ($p\text{-value} < 0.05$). هر سه عصاره الکلی اسپند، رزماری و زیره سبز در یک سطح معناداری بر سویه‌ی /استافیلوکوکوس /ورئوس تاثیرگذار بودند و تفاوت معناداری میان آن‌ها مشاهده نشد ($p\text{-value} > 0.05$). در مورد سویه‌ی /ستریپتوکوک پنومونیه نیز دو عصاره‌ی الکلی رزماری و زیره سبز در یک سطح معنادار و بیشتر از دو عصاره دیگر بر سویه‌ی مذکور تاثیرگذار بودند ($p\text{-value} > 0.05$).

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر برای غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی دانه اسپند، برگ رازیانه، دانه زیره سبز و برگ رزماری

وزن عصاره گیاهی (میلی گرم)	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	سویه عصاره
۴۰۰	۲۴	۱۷	۱۹	۲۰	عصاره اسپند
۲۰۰	۲۰	۱۶	۱۶	۱۷	
۱۰۰	۱۹	۱۴	۱۵	۱۵	
۵۰	۱۷	۱۰	۱۲	۱۲	
۴۰۰	۶	۵	۵	۷	عصاره رازیانه
۲۰۰	۶	۵	۵	۶	
۱۰۰	۵	۵	۵	۵	
۵۰	۵	۵	۵	۵	
۴۰۰	۱۹	۸	۹	۵	عصاره زیره سبز
۲۰۰	۱۱	۷	۷	۵	
۱۰۰	۱۱	۷	۷	۵	
۵۰	۱۰	۵	۵	۵	
۴۰۰	۱۲	۱۲	۱۶	۶	عصاره رزماری
۲۰۰	۹	۷	۱۴	۶	
۱۰۰	۹	۶	۱۳	۵	
۵۰	۹	۵	۱۲	۵	



شکل ۶. بررسی نتایج هاله عدم رشد ناشی از تاثیرات عصاره های الکلی گیاهان بر روی سویه های باکتریایی مورد آزمایش

و مشتقات آن‌ها به منظور استفاده های درمانی و مکمل های درمانی در بیماری های مختلف شده است زیرا مشخص شده برخی از گیاهان دارویی موادی با فعالیت ضد میکروبی تولید می کنند و می توانند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک ها باشند (۳۳). گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی اشاره کرد (۳۴). بعضی از گیاهان تاثیراتی همانند داروهای شیمیایی و گاهی به مراتب بیشتر از آن ها دارند. به طور کلی فراورده های گیاهی باعث گرانبه شدن سیتوپلاسم، گسیختگی غشاء سیتوپلاسمی، غیر فعال شدن یا ممانعت از فعالیت آنزیم های درون سلولی و برون سلولی و متلاشی شدن دیواره سلولی می شود (۳۵). مکانیسم ضد میکروبی احتمالا حاصل ترکیباتی مانند فلاونوئیدها و

در روش انتشار چاهکی در آگار، عصاره الکلی اسپند با دارا بودن بیشترین هاله عدم رشد بر تمامی سویه های مورد آزمایش، با اختلاف معناداری ($p\text{-value} < 0.05$) به عنوان تاثیر گذارترین عصاره برگزیده شد. همچنین اختلاف موجود بین عصاره برگزیده شده از طریق بررسی هاله عدم رشد و میزان MIC و MBC از لحاظ آماری معنا دار هستند ($p\text{-value} < 0.05$) و همبستگی بین دو روش فوق وجود ندارد.

نتیجه گیری

ترکیبات طبیعی گیاهی منبع مهمی از ترکیبات دارویی جدید و مؤثر هستند (۳۲). گیاهان دارویی از جمله ترکیبات طبیعی گیاهی هستند که در طب سنتی و مصارف صنعتی و خوراکی کاربردهای گسترده دارند. امروزه توجه خاصی به این گیاهان

فلاونول ها از طریق واکنش با گروه های سولفیدریل یا واکنش - های غیراختصاصی با پروتئین های میکروبی مانند پروتئین - های خارج سلولی و تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشاء سلول میکروارگانیسم ها است (۳۶). اثرات ضد میکروبی ساختارهای فنولی در مطالعات اخیر ثابت شده است و همچنین مشاهده گردیده که قدرت ضد میکروبی آن ها به محل و تعداد گروه های هیدروکسیل روی حلقه فنولی بستگی دارد (۳۷). در نتایج حاصل از این مطالعه پایین ترین غلظت بازدارندگی (MIC) با میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر برای عصاره های اسپند در تاثیر بر هر چهار سویه باکتریایی، عصاره رزماری در تاثیر بر باکتری های *باسیلوس سرئوس* و *استرپتوکوک پنومونیه* و همچنین عصاره زیره سبز در تاثیر بر *استرپتوکوک پنومونیه*، همچنین بالاترین مقاومت به بازدارندگی در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با میزان ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با عصاره رازیانه بدست آمد. در ادامه پایین ترین غلظت کشندگی (MBC) با میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر برای عصاره های رزماری و زیره سبز در مورد تاثیر بر باکتری *استرپتوکوک پنومونیه* و بالاترین مقاومت به کشندگی در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با عصاره رازیانه مشاهده شد. بررسی قطر هاله های عدم رشد باکتریایی نیز ثابت کرد که عصاره اسپند بر هر چهار سویه باکتریایی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۲ میلی متر و پس از آن نیز عصاره زیره سبز با قطر ۱۹ میلی متر بر باکتری *باسیلوس سرئوس* دارای بیشترین اثربخشی بوده است. در مقابل، کوچکترین هاله های عدم رشد را که ناشی از مقاوم بودن باکتری های مذکور به عصاره مورد نظر بود در تاثیر عصاره های رازیانه بر سویه های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *باسیلوس سرئوس*، زیره سبز بر سویه *استرپتوکوک پنومونیه* و همچنین رزماری نیز به ترتیب بر سویه های *اشرشیا کلی* و *استرپتوکوک پنومونیه* مشاهده گردید. از بررسی نتایج هاله های عدم رشد نتیجه گیری می شود که سویه *استرپتوکوک پنومونیه* مقاوم ترین سویه باکتریایی در مقابل عصاره های رازیانه، زیره سبز و رزماری می باشد. دانه گیاه اسپند با وجود ترکیبات موثری چون آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین و هارمالول به - عنوان یک گیاه با خواص درمانی از قدیم تاکنون مورد توجه

قرار گرفته است. از جمله می توان خواص ضد التهابی ماده پیتولین به دست آمده از دانه اسپند اشاره کرد که توسط آل - رافعی مطالعه شده است. وی اثرات ضد باکتری، ضد قارچی، ضد تبزایی و ضد انگلی عصاره اسپند را اثبات نمود (۳۸). اثرات ضد باکتری و ضد قارچی هارمالین توسط عبدالفتاح گزارش شده است (۳۹). ناه در سال ۲۰۱۰ در مطالعه ای به بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی آلکالوئیدهای بتا - کاربولین گیاه اسپند پرداخت و دریافت که هارمان موجود در اسپند دارای بیشترین فعالیت ضد باکتریایی می باشد (۴۰). بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره الکلی اسپند بود، به این ترتیب که قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر این عصاره بر روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* به اندازه ۲۴ میلی متر بود در صورتی که به روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* به قطر هاله ۱۹ میلی متر گزارش گردید همچنین با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد باکتری ها به صورت معنی داری ($p < 0.05$) افزایش می یابد. عصاره گیاه اسپند دارای بازدارندگی رشد و اثر کشندگی بیشتری روی باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی می باشد. داراب پور و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ در مطالعه به بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک پرداختند و دریافتند که عصاره متانولی اسپند دارای اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می باشد (۴۱). همچنین بر اساس نتایج این مطالعه رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت عصاره و میزان اثرات بازدارندگی از رشد آن وجود دارد، این نتایج با یافته های صفری و احمدی اسپچین و همچنین زندی و همکاران مطابقت دارد که افزایش غلظت های مختلف عصاره منجر به افزایش فعالیت ضد باکتریایی و افزایش قطر هاله عدم رشد می شود (۴۳ و ۴۲). داراب پور و همکاران گزارش کردند، که بهترین فعالیت ضد باکتریایی عصاره اسپند علیه گونه های گرم مثبت باکتریایی، از جمله: *باسیلوس آنتراسیس*، *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس پومیلیوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استرپتوکوکوس پایوژنز* و گونه های گرم منفی شامل *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سالمونلا تایفی*، *پروتئوس میرابیلیس* می باشد (۴۱).

بنبوت و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اثر مهاری عصاره آلکالوئیدهای دانه اسپند را در برابر گونه‌های باکتریایی گرم مثبت مانند: *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوک* *سارپروفیتیکوس* و گرم منفی از جمله *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *پروتئوس میرابیلیس* و *سریشیا* گزارش کردند (۴۴). زینلی و همکارانش در سال ۱۳۹۴، MIC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* ۵۶/۱ میلی گرم در میلی لیتر و برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* ۷۸/۰ میلی گرم در میلی لیتر تعیین کردند. همچنین، MBC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های مذکور را مشابه MIC آن‌ها گزارش نمودند (۴۵). در مطالعه هاشمی و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه اسپند بر روی سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی بتالاکتاماز، نشان دادند که عصاره اسپند نسبت به آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم و مروپنم کمترین تأثیر را داشتند (۴۶). فضلی بزاز و همکارانش آلکالوئیدهای حاصل از اسپند دارای اثرات ضد میکروبی خوبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت دارند که در این بین بیشترین تأثیر را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند (۴۷). عمادی و همکارانش با بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی اسپند بر باکتری‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند که بیشترین هاله عدم رشد در باکتری *اشریشیا کلی* (۲۹/۳۳ میلی متر) و کمترین هاله عدم رشد در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* (۱۷/۳۳ میلی متر) دیده شد. MIC باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بین ۱۶-۲ میکروگرم بر میلی لیتر بودند (۸). مطالعات دیگر حساسیت سویه *آئروموناس هیدروفیال*، *لاکتوباسیل‌ها* و *استرپتوکوکوس موتانس* به عصاره اسپند را نشان دادند (۴۸). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که عصاره الکلی رازیانه در غلظت‌های ۲۵، ۲۰۰، ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر ممانعت از رشد و در رقت‌های ۲۵، ۴۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر منجر به مرگ سویه‌های *استرپتوکوک پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلای* و *باسیلوس سرئوس* گردید و این رقت‌ها به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره

الکلی مذکور تعیین شد. در مطالعه‌ای که توسط شهیدی در کرمان انجام پذیرفت، اثر عصاره اتانولی گیاه رازیانه بر روی ده باکتری مورد مطالعه قرارگرفت اثر این عصاره تنها بر مهار رشد *استافیلوکوک طلایی* و *باسیلوس سرئوس* گزارش گردید و از جمله این عصاره بر مهار رشد *اشریشیا کلی* هیچ گونه تأثیری را نشان نداد (۴۹)، درحالی که در مطالعه حاضر اثر مهاری عصاره رازیانه بر سویه‌ی *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوک طلایی* در غلظت‌های بالاتر از مطالعه فوق مشاهده گردید. در مطالعه دیگری که در هند به انجام رسید، عصاره آبی گیاه رازیانه اثر مهار رشد بر سه میکروارگانیزم *استافیلوکوک اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* نشان داد که در این میان در روش دیسک بیشترین اثر بر روی *استافیلوکوک طلایی* گزارش گردید (۵۰)، در تحقیق صورت گرفته هیچ اثر مهاری از عصاره الکلی رازیانه از طریق روش دیسک فیوژن مشاهده نگردید. اما نتایج حاصل از مطالعه دیگری که بر روی عصاره دانه گیاه رازیانه بر روی ۱۵ میکروارگانیزم از جمله *استافیلوکوک اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* انجام پذیرفته بود موید نتایج حاصل از آزمایشات ما بودند چراکه هیچ گونه اثر مهارکننده رشدی از طریق انتشار از دیسک مشاهده نشد (۵۱). در گزارش دیگری که بر روی چندین گیاه انجام پذیرفت، اثر ضدباکتری عصاره‌های استونی و هیدرومتانولی رازیانه بر روی چند میکروارگانیزم بررسی گردید که اثر مهار رشد تنها بر روی *باسیلوس سرئوس* مشاهده گردید و این عصاره‌ها فاقد اثر مهارکننده رشد بر روی *استافیلوکوک طلایی* و *اشریشیا کلی* بودند (۵۲)، در مطالعه صورت گرفته اثر مهاری از طریق انتشار از دیسک بر روی باکتری *باسیلوس سرئوس* مشاهده نگردید که در تضاد با یافته‌های تحقیقات حاضر می‌باشد. این نتایج حکایت از تأثیر منطقه رویش گیاه و به ویژه اقلیم و شرایط آب و هوا و خاک منطقه و همچنین نوع عصاره مورد استفاده دارد، که به دنبال آن تفاوت در درصد ترکیبات ضد میکروبی و موثر موجود در عصاره را سبب می‌گردد. در این مطالعه، عصاره الکلی رزماری بیشترین هاله عدم رشد را بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله ۱۶ میلی متر و کمترین تأثیر را بر روی سویه‌ی *استرپتوکوک پنومونیه* به قطر ۶ میلی متر دارا بود. حضور اسیدهای فنولیک مانند اسید رزمارینیک

و کلروژنیک را در عصاره رزماری از عوامل موثر بر باکتری‌های گرم منفی می‌دانند. از آنجا که حلالیت این ترکیبات در حلال‌های آلی بسیار بیشتر از آب است (۵۳) لذا تاثیر بالای عصاره رزماری بر باکتری/شرشیا کلی می‌تواند به دلیل حضور بیشتر این ترکیبات فعال در عصاره هیدروالکلی باشد. مورنو و همکاران در سال ۲۰۰۶ در تحقیقی تحت عنوان وابستگی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی رزماری به محتوای فنلی آن، نشان دادند که بین خواص ضد باکتریایی رزماری و محتوای فنلی آن رابطه مستقیم وجود دارد و MIC آن بر باکتری‌های گرم مثبت بین ۲ تا ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر و همینطور برای باکتری‌های گرم منفی بین ۲ تا ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. برای قارچ‌ها نیز برابر ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. این تحقیق نشان داد که عصاره آبی رزماری که دارای ۱۵٪ رزمارینیک‌اسید است، فعالیت ضد میکربی بسیار پایینی دارد، درحالی‌که عصاره متانولی که حاوی ۳۰٪ کارنوزیک‌اسید بود از فعالیت ضد میکروبی بالایی برخوردار بود (۵۴). البته تحقیقاتی که توسط آنجیونی و همکارانش بر روی یک نمونه رزماری (Sardinian rosemary) انجام شد، نشان داد که این نمونه از رزماری اثرات بازدارندگی قابل توجهی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *شرشیا کلی* نداشته است (۵۵). در صورتیکه محققین دیگری اثرات بازدارنده نمونه دیگری از رزماری (Argentinian rosemary) را بر قارچ‌ها گزارش نمودند. همچنین اوکوه و همکاران بر روی اثرات ضد باکتریایی گیاه رزماری مطالعاتی را انجام دادند و نتایج نشان داد که اسانس روغنی گیاه رزماری

اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشته است (۵۶). بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل مربوط به عصاره متانولی زیره سبز می‌باشد (۵۷). در همین راستا وی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که علاوه بر ترکیبات فنولی، عوامل دیگری نیز بر سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی تاثیر می‌گذارند (۵۸). دانشمندی و همکاران در سال ۲۰۱۰ از اسانس پودر دانه زیره سبز برای بررسی عملکرد ضد باکتریایی باکتری‌های *شرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *شیگلا فلکسنری*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *انتروکوکوس فکالیس* به روش انتشار از دیسک با استفاده از اندازه‌گیری قطر هاله مهار و تعیین حداقل غلظت مهار توسط روش میکروبراث دایلوئن مورد ارزیابی قرار گرفته و مشخص شده است که بزرگترین هاله عدم رشد مربوط به *باسیلوس سرئوس* با قطر ۴۴ میلی‌متر و بعد از آن بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب مربوط به *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا فلکسنری* و *شرشیا کلی* بوده است و برای *انتروکوکوس فکالیس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* کمترین قطر هاله عدم رشد مشاهده شده است (۵۹). در مطالعه حاضر نیز بیشترین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی زیره سبز ناشی از تاثیر بر آن سویه‌های *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس آئوس* می‌باشد. بررسی نتایج MBC و MIC در مطالعات دیگر نیز نشان داد که اسانس زیره سبز بیشترین اثر مهارکنندگی و کشندگی را بر روی *شرشیا کلی* دارد (۶۰).

منابع

1. Javidtash I, Roshandel L. Collection and identification of dye plants of Fars province and dyeing of wool and natural silk fibers by scientific methods. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2000;6:67–96. (In Persian).
2. Imperial IC, Ibana JA. Addressing the antibiotic resistance problem with probiotics: reducing the risk of its double-edged sword effect. *Front Microbiol*. 2016;7:1983.
3. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):564–582.
4. Omidbaigi R. *Production and processing of medicinal plants*. Vol. 3. Tehran: Agricultural Education and Extension Publications; 2005.
5. Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, et al. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry*. 2004;84(4):519–525.
6. Bakal SN, Bereswill S, Heimesaat MM. Finding novel antibiotic substances from medicinal plants—antimicrobial properties of *Nigella sativa* directed against multidrug-resistant bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2017;7(1):92–98.
7. Berrougui H, Martín-Cordero C, Khalil A, Hmamouchi M, Ettaib A, Marhuenda E, et al. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum harmala* L. seeds in isolated rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;104(3):150–157.
8. Chegeni TN, Ghaffarifar F, Khoshzaban F, Asl AD. Evaluation of anti-amoebic activity of *Peganum harmala* ethanolic extract on *Acanthamoeba* in vitro. *Journal of Entomology*. 2018;20(129):74–82.
9. Loub WD, Farnsworth NR, Soejarto DD, Quinn ML. NAPRALERT: computer handling of natural product research data. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1985;25(2):99–103.
10. Özcan M. Antioxidant activities of rosemary, sage, and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. *Journal of Medicinal Food*. 2003;6(3):267–270.
11. Del Campo J, Amiot M-J, Nguyen-The C. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*. 2000;63(10):1359–1368.
12. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, black seed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*. 2008;110(1):76–82.
13. Oliveira AA, Segovia JF, Sousa VY, Mata EC, Gonçalves MC, Bezerra RM, et al. Antimicrobial activity of Amazonian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2013;2:1–6.
14. Mirsaid SF, Shiravi A, Heydari-Nasrabadi M. The effect of intraperitoneal injection of alcoholic extract of fennel seed (*Foeniculum vulgare* Mill) on gonadotropin and testosterone hormones in male Wistar rats. *Animal Biology*. 2008;1(1):49–56. (In Persian).

- 15.Sefidkan F. Quantitative and qualitative analysis of *Foeniculum vulgare* essential oil at different growth stages. *Majazi Journal*. 2014;1(1):85–104. (In Persian).
- 16.Sharbatkori M, Nateghpour M, Edrisian G. Cidal activity of *Peganum harmala* on *Plasmodium falciparum* and comparison with chloroquine in vitro. *Journal of Jahrom University of Medical Sciences*. 2007;7(2):101–108.
- 17.Das S, Surendran P, Thampuran N. PCR-based detection of enterotoxigenic isolates of *Bacillus cereus* from tropical seafood. *Indian Journal of Medical Research*. 2009;129(3):316–320.
- 18.Ngamwongsatit P, Buasri W, Pianariyanon P, Pulsrikarn C, Ohba M, Assavanig A, et al. Broad distribution of enterotoxin genes (*hblCDA*, *nheABC*, *cytK*, and *entFM*) among *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* as shown by novel primers. *International Journal of Food Microbiology*. 2008;121(3):352–356.
- 19.Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. *Medical Microbiology: Jawetz, Melnick & Adelberg's*. 25th ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2010.
- 20.Driver C. Pneumonia part 2: signs, symptoms and vaccinations. *British Journal of Nursing*. 2012;21(4):245–249.
- 21.Chambers HF, DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*. 2009;7(9):629–641.
- 22.Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) classification and typing methods: an overview. *Polish Journal of Microbiology*. 2011;60(2):95–103.
- 23.Trilla A, Miro J. Identifying high-risk patients for *Staphylococcus aureus* infections: skin and soft tissue infections. *Journal of Chemotherapy*. 1995;7(Suppl 3):37–43.
- 24.Casey A, Lambert PA, Elliott T. Staphylococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007;29(Suppl 3):S23–S32.
- 25.Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2013.
- 26.Fecteau G, Fairbrother JM, Higgins R, Van Metre DC, Paré J, Smith BP, et al. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from the blood of bacteremic neonatal calves. *Veterinary Microbiology*. 2001;78(3):241–249.
- 27.Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research*. 1999;30(2–3):299–316.
- 28.Jay CM, Bhaskaran S, Rathore KS, Waghela SD. Enterotoxigenic K99⁺ *Escherichia coli* attachment to host cell receptors inhibited by recombinant pili protein. *Veterinary Microbiology*. 2004;101(3):153–160.
- 29.Batt C. Listeria. In: Robinson R, Batt C, Patel P, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press; 2000. p. 132-238.
- 30.O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *The Lancet*. 2009;374(9693):893–902.
- 31.Nezhad FM, Zeigham H, Mota A, Sattari M, Yadegar A. Antibacterial activity of *Eucalyptus*

- extracts on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Research Journal of Biological Sciences*. 2009;4(8):905–908.
- 32.Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2013;1830(6):3670–3695.
- 33.Fisgin NT, Cayci YT, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper®. *Fitoterapia*. 2009;80(1):48–50.
- 34.Stickel F, Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Digestive and Liver Disease*. 2007;39(4):293–304.
- 35.Brul S, Coote P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 1999;50(1–2):1–17.
- 36.Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, et al. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 1996;50(1):27–34.
- 37.Shan B, Cai Y-Z, Brooks JD, Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(14):5484–5490.
- 38.Mirzaei M. Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant *Peganum harmala*. *The Korean Journal of Parasitology*. 2007;45(4):267.
- 39.Shahverdi AR, Monsef-Esfahani HR, Nickavar B, Bitarafan L, Khodae S, Khoshakhlagh N. Antimicrobial activity and main chemical composition of two smoke condensates from *Peganum harmala* seeds. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2005;60(9–10):707–710.
- 40.Nenaah G. Antibacterial and antifungal activities of β -carboline alkaloids of *Peganum harmala* L. seeds and their combination effects. *Fitoterapia*. 2010;81(7):779–782.
- 41.Darabpour E, Bavi AP, Motamedi H, Nejad SMS. Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *European Journal of Experimental Biology*. 2011;10:252.
- 42.Safari M, Ahmady-Asbchin S. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves. *Biomedical and Biotechnological Equipment*. 2019;33(1):372–378.
- 43.Zandi H, Hajimohammadi B, Amiri A, Ranjbar A, Mozaffari Khosravi H, Fallah Zadeh H, et al. Antibacterial effects of *Mentha × piperita* L. hydroalcoholic extract on six food-borne pathogenic bacteria. *The Journal of Toloo-e-behdasht*. 2016;15(4):22–33.
- 44.Benbott A, Yahya A, Belaidi A. Assessment of the antibacterial activity of crude alkaloids extracted from seeds and roots of the plant *Peganum harmala* L. *Journal of Natural Products and Plant Resources*. 2012;2(5):568–573.
- 45.Zeinali T, Mohsenzadeh M, Rezaeian Doloei R, Nabipoor R. In vitro assessment of antimicrobial effect of methanolic extract of

Peganum harmala against some important foodborne bacterial pathogens. *Journal of Food Hygiene*. 2016;5(4):27–36.

46.Hashemi A, Shams S, Barati M, Samedani A. Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis*, and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2011;14(4):104–112.

47.Fazli Bazaz B, Mohammadi A, Sabeti Noghabi Z. Antimicrobial effects of smoke and alkaloids of *Peganum harmala*. *Journal of Food Preservation, Mashhad University of Medical Sciences*. 2016;5(4):27–36.

48.Abutbul S, Golan-Goldhirsh A, Barazani O, Ofir R, Zilberg D. Screening of desert plants for use against bacterial pathogens in fish. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*. 2005;57(2):71–80.

49.Bonjar GSJ. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia*. 2004;75(2):231–235.

50.Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*. 2007;61(3):313–317.

51.Sağdıç O, Özcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*. 2003;14(2):141–143.

52.Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;80(3):223–230.

53.Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal Medicines*. London: Pharmaceutical Press; 2007.

54.Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Food Research International*. 2006;40(2):223–231.

55.Angioni A, Barra A, Cereti E, Barile D, Coisson JD, Arlorio M, et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(11):3530–3535.

56.Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent-free microwave extraction methods. *Food Chemistry*. 2010;120(1):308–312.

57.Baharlouei M, Ranjbar M. Antioxidant and antimicrobial effects of methanolic and aqueous extracts of *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa* against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2023;30(2):164–175.

58.Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(11):5165–5170.

59.Daneshmandi S, Soleimani N, Sattari M, Pourfathollah A. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *Cuminum cyminum* essential oil. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology, Avicenna Medical University Journal*. 2010;13(2):25–37.

60.Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LEd, Moreira RRD, Pietro RCL. Evaluation of the antibacterial activity of *Myrtus communis* L.

(Myrtaceae) leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18:241–244.