# بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، الکلی و استنی گیاه ریش بز (*Ephedra major* Host) بر روی سویه‌های استاندارد گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، سودوموناس ائروژینوزا و اشریشیا کولای

پروین تراب‌زاده‌خراسانی[۱]، پورداد پناهی*[۱]، آذر سبکبار[۱]، علیرضا مختاری[۲]

## چکیده

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی ایجاد و شیوع سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها یک مشکل رو به افزایش می‌باشد. تلاش‌های زیادی برای کشف ضد میکروب‌های جدید از منابع مختلفی مانند میکروارگانیسم‌ها، حیوانات و گیاهان صورت گرفته است. یکی از این منابع طب سنتی می‌باشد که بررسی‌های صورت گرفته در آن منجر به کشف مواد موثره جدیدی گردیده است. افدرا ماژور گیاهی طبی با فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیک است. گیاه از منطقه کرج جمع‌آوری گردید و عصاره‌گیری با استفاده از حلالهای آبی، اتانولی، استنی و متانولی صورت گرفت. عصاره‌ها در دمای ۶۰ درجه سیلیسیوس در خلاء تغلیظ گردیدند. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها با روشهای انتشار در ژل، MIC و MBC در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 6538)، سودوموناس آئروژینوزا(ATCC 27853) استرپتوکوکوس پیوژنز (PTCC 1447) و اشریشیا کولای(ATCC 8739) سنجیده شد. اشریشیا کولای فقط به عصاره استنی حساسیت نشان داد و سودوموناس ائروژینوزا به عصاره آبی مقام بود و به سایر عصاره‌ها حساسیت نشان داد. استرپتوکوکوس پیوژنز و استافیلوکوک اورئوس به کلیه عصاره‌ها حساس بودند.

***واژگان کلیدی***: *هوم، عصاره گیاهی، ترکیبات ضد باکتریایی، گیاهان دارویی، ریش بز*

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/٤ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۳

## مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها سابقه‌ای چندین هزار ساله دارد. گرچه امروزه قسمت اعظم فراورده‌های دارویی به صورت شیمیایی تهیه می‌شود، اما تخمین زده می‌شود دست کم یک چهارم فراورده‌های دارویی از گیاهان تهیه می‌گردد. از طرف دیگر سادگی تکنولوژی تولید، هزینه تمام شده کمتر، تمایل بیشتر به مصرف داروهایی با منشاء طبیعی و از همه مهمتر عوارض کمتر داروهای گیاهی سبب گردیده که توجه به گیاهان دارویی بطور روز افزونی افزایش یابد. در حال حاضر به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی و تهدیدات ناشی از آن، نیاز به داروهای ضد میکروبی جدید و با عوارض جانبی کمتر بیش از پیش احساس می‌شود. از جمله منابعی که در آن به جستجوی داروهای ضد میکروبی جدید پرداخته می‌شود طب سنتی و گیاهان دارویی است.

جنس افدرا (*Ephedra* L.) به خانواده Ephedraceae از راسته Ephedrales تعلق دارد که برخی از گیاه‌شناسان این تیره را در حد واسط نهاندانگان و بازدانگان (رده Chlamidospermae) قرار داده‌اند. افدراها گیاهانی یک پایه یا دو پایه، بالا رونده و به صورت بوته‌هایی با اعضای چوبی به ارتفاع حدود یک متر یا بیشتر می‌باشند. ساقه آنها دارای انشعاب فراوان و ظاهر بند بند است. غلافی از فلس‌ها در هر بند وجود دارد. گونه افدرا ماژور (*E. major* Host) در بین گونه‌های دیگر دارای بیشترین میزان آلکالوئید تام است. علاوه بر این افدرا ماژور توانایی زیادی در تطابق و سازگاری با شرایط محیطی مختلف دارد و در مناطق مختلف آب و هوایی ایران رویش می‌نماید.

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکرج، گروه میکروبیولوژی، کرج، ایران(pourdadp@yahoo.com)
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران

گیاه ریش بز (افدرا ماژور) یک گیاه دارویی با سابقه چندین هزار ساله در طب سنتی است. این گیاه در طب سنتی ایران، چین، هند و روسیه از قدیم الایام مورد استفاده بوده است. در کتاب اوستا از این گیاه نام برده شده است و زرتشتیان باستان از گیاه افدرا شربت مقدسی به نام هوم یا سوما ساخته و می‌نوشیدند. افدرین برای اولین بار از این گیاه کشف و به دنیای پزشکی معرفی شد (باهرنیک، ۱۳۸۱). خواص درمانی متعددی برای گیاه افدرا در طب سنتی مطرح گردیده که برخی از آنها به اثبات رسیده و در مواردی نیاز به تحقیقات عملی بیشتر وجود دارد. از عصاره این گیاه در درمان بیماری آسم استفاده می‌شود، تقویت کننده قلب است و رماتیسم، خستگی، بیماریهای عصبی و حالت تهوع را بهبود می‌بخشد (باهر نیک، ۱۳۷۹). از جمله مواردی که درباره گیاه افدرا مطرح گردیده اما تحقیقات کافی در آن صورت نگرفته است خواص ضد باکتریایی این گیاه است (WHO, 1999). در سال ۱۹۹۹ الخلیل و همکاران الکالوئیدی بنام ترانستورین از گیاه افدرا ترازیتوریا (*E. transitoria* Riedl.) استخراج کردند که خواص ضد باکتریایی آنرا بر چند باکتری پاتوژن به اثبات رساندند (Alkhali *et al., 1999*). فرسین و همکاران در سال ۲۰۰۱ با بررسی عصاره گیاه افدرا برنهآ (*E. breana* Phil.) بر روی چندین میکروارگانیسم آنرا تنها بر باکتری اشریشیا کولای موثر گزارش کردند(Fersin *et al.*,2001). طالعی و همکاران در سال ۱۳۸۳ اثرات ضد باکتریایی ضعیفی از گیاه افدرا اینترمدیا (Schrenk & Mey. *E.intermedia*) گزارش کردند (طالعی و همکاران، ۱۳۸۳). فضلی بزاز و حریرزاده در سال ۲۰۰۳ گیاه افدرا پروسرا (*E. procera* Fisch. & C. A. Mey.) را فاقد اثرات ضد باکتریایی اعلام کردند (Fazly Bazaz & Harirzadeh, 2003). شهیدی و همکاران طی مقالات متعددی گیاه افدرا اینترمدیا را دارای خواص ضد باکتریایی گزارش کردند (Shahidi *et al.* 2004). در تنها تحقیقی که بر روی اثرات ضد قارچی گونه افدرا ماژور صورت گرفته بود، باقری و همکاران در سال ۲۰۰۳ این گیاه را دارای اثرات ضد قارچی بر آسپرژیلوس فلاووس تشخیص دادند (Bagheri *et al*. 2009).

## مواد و روش کار

### گیاه:

گیاه ریش بز در اواخر اردیبهشت ماه از منطقه کلاک کرج ( در موقعیت جغرافیایی '۳۵,۴۹" شمالی و '۵۱,۰۲" شرقی) طبیعت (خودرو) جمع آوری گردید و توسط استاد سیستماتیک گیاهی آقای دکتر محمد صانعی شریعت پناهی، شناسایی گردید.

### عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیساندن (ماسراسیون) از قسمتهای هوایی گیاه افدرا ماژور صورت گرفت. در ابتدا ساقه‌های پیر و ریشه‌ها از گیاه حذف گردیدند و گیاه به مدت یک هفته در سایه خشک شد (ترابزاده، ۱۳۸۳). در مرحله بعد توسط دستگاه آسیاب برقی پودر گیاه تهیه شد. مقدار ۳۰ گرم از پودر فوق در ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال مربوطه اتانولی، متانولی، استنی و یا آبی ریخته شد. جهت تهیه عصاره آبی، حلال و پودر گیاه به مدت یک ساعت به آرامی جوشیده شده، سپس در دستگاه روتاری اواپوراتور در دمای ٦٠ درجه تغلیظ گردید تا به حجم ۲۰ میلی‌لیتر برسد. در مورد عصاره های متانولی، اتانولی و استنی پس از ٤٨ ساعت قرار گرفتن ظروف حاوی حلال و پودر گیاه بر روی شیکر، عمل تغلیظ با دستگاه در شرایط فوق صورت گرفت تا حجم مایع باقی مانده دربالن تقطیر به حجم ۲۰ میلی‌لیتر برسد. هر میلی لیتر از عصاره ۱/۵ گرم پودر گیاه دارا می‌باشد (تراب زاده، ۱۳۸۳). از عصاره‌های تهیه شده با آب مقطر استریل رقتهای سریالی $^1/_2$ ، $^1/_4$، $^1/_8$ تهیه شد.

### میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش

در این تحقیق از چهار سویه استاندارد:

*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)
*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853,PTCC 1430)
*Streptococcus pyogenes* (PTCC 1447)
*E. coli* (ATCC 8739,PTCC 1330)

استفاده شد. سویه‌های فوق از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بصورت لیوفلیزه تهیه شدند.

**روش آزمایش اثرات ضد باکتریایی**

برای سنجش اثرات ضد باکتریایی این عصاره‌ها از دو روش چاهک پلیت و روش لوله‌ای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) استفاده شد. جهت احیاء و فعال سازی باکتری‌ها کشت اولیه بر روی محیط TSA انجام گرفت.

در روش چاهک پلیت از پلیت‌های ۱۰ سانتی متری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر مولر هینتون آگار استریل استفاده شد. بدین صورت که با استفاده از کدورت‌های استاندارد نیم مک فارلند و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر از باکتری‌ها در سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه گردید. سپس سواپ استریل به این سوسپانسیون آغشته گردید. با فشردن سواپ به دیواره لوله آزمایش محتوی سوسپانسیون مایعات اضافی آن گرفته شد. سپس سواپ در سه مرحله هر بار با زاویه ٦٠ درجه نسبت به دفعه قبل بصورت خطی بر سطح محیط کشیده شد (کشت چمنی). سپس برای چند دقیقه پلیت با در بسته به حال خود باقی ماند تا مایعات ناشی از انتقال سوسپانسیون جذب محیط شوند(NCCLS, 2003). در مرحله بعدی تعداد ۵ چاهک به قطر ۹ میلیمتر با فاصله ۲۵ میلیمتر از یکدیگر در سطح ایجاد شد. ته چاهکها برای جلوگیری از نفوذ عصاره به کف پلیت توسط آگار مذاب مسدود شد. با کمک سمپلر ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت‌های ۱ تا $^{1}/_{8}$ داخل ٤ عدد از گوده‌ها ریخته شد. ۲۵۰ میکرولیتر حلال مورد نظر نیز بعنوان شاهد در گوده پنجم ریخته شد.جهت تبخیر حلال پلیت‌ها بمدت ۳۰ دقیقه با درب نیمه باز در کنار شعله و در زیر هود قرار گرفتند. نتایج پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس بوسیله خط کش قرائت و ثبت گردید. آزمایشات چهار بار تکرار شدند.

جهت سنجش میان MIC عصاره‌ها، ۱۰ رقت سریالی از عصاره‌ها در لوله‌های حاوی ۱ میلی‌لیتر مولر هینتون براث استریل تهیه شد. سپس به میزان نیم میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریایی استاندارد نیم مک فارلند به تمام لوله ها افزوده شد. یک لوله کنترل منفی صرفاً حاوی نیم میلی‌لیتر عصاره و نیم میلی‌لیتر محیط کشت و یک لوله کنترل مثبت حاوی نیم میلی‌لیتر محیط کشت و نیم میلی‌لیتر سوسپانسیون استاندارد نیم مک فارلند باکتریایی در نظر گرفته شد. پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس کدورت لوله‌ها بررسی گردید. بالاترین رقتی از عصاره که فاقد کدورت ناشی از رشد باکتری بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. از لوله های فوق بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت صورت گرفت و بالاترین رقتی که فاقد رشد باکتریایی بود بعنوان MBC در نظر گرفته شد (Richard, 2007) . آزمایشات چهار بار تکرار شدند.

جهت مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ها با یک آنتی‌بیوتیک تجاری با روش کربی بائر از دیسک جنتامایسین (پادتن طب) حاوی ۱۰ میکروگرم جنتامایسین استفاده شد.

## نتایج

چاهک‌های کنترل حاوی حلال فاقد هاله عدم رشد بودند. باکتری اشریشیا کولای نسبت به تمام عصاره‌ها بجز عصاره استنی مقاوم بود. عصاره آبی کمترین فعالیت ضد باکتریایی را نسبت به سایر عصاره‌ها دارا بود به طوریکه اشیریشیا کولای و سودوموناس ائروژینوزا به آن مقاوم بودند و استافیلوکوکوس اورئوس به میزان اندکی حساسیت نشان داد. باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره آبی دارا بود.

در آزمایش MIC و MBC قوی‌ترین اثر مربوط به اثر عصاره استنی بر استرپتوکوکوس پیوژنز بود. سودوموناس ائروژینوزا

در برابر عصاره‌ها به غیر از عصاره آبی حساسیتی یکسان نشان داد.نتایج در جداول ۲ تا ۵ نشان داده شد.

جدول ۱- تفسیر اندازه قطر هاله عدم رشد دیسک جنتامایسین ۱۰ میکروگرمی بر حسب میلی‌متر (بر اساس بروشور سازنده)

| *RESISTANCE* | *INTERMEDIATE* | *susceptible* |
|---|---|---|
| <12 | 13-14 | *15<* |

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر دیسک جنتامایسین ۱۰ میکروگرمی بر سویه‌های استاندارد بر حسب میلی‌متر

| *Sterp. pyogenes* | *Staph. aureus* | *P. aeruginosa* | *E. coli* |
|---|---|---|---|
| ۲۸ | ۳۰ | ٦* | ۲۰ |

*قطر دیسک مورد استفاده ٦ میلی‌متر بود.

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر عصاره آبی گیاه افدرا ماژور بر سویه‌های استاندارد برحسب میلی‌لیتر

| غلظت عصاره / باکتری | ۳۷۵mg | ۱۸۷/۵mg | ۹۳/۷۵mg | ٤٦/۸۷mg |
|---|---|---|---|---|
| *E. coli* | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ |
| *P. aeruginosa* | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ |
| *S. aureus* | ۱۲ | ۹ | ۹ | ۹ |
| *S. pyogenes* | ۱۵ | ۱۵ | ۹ | ۹ |

قطر چاهک‌های ایجاد شده در پلیت ۹ میلی‌متر بود. هاله کمتر از ۱۰ میلیمتر منفی در نظر گرفته شد.

جدول ٤- قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های الکلی و استونی گیاه افدرا ماژور بر سویه‌های استاندارد برحسب میلی‌لیتر

| نوع عصاره | استنی | | | | | اتانولی | | | | | متانولی | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *میزان عصاره / باکتری | ۳۷۵ | ۱۸۷/۵ | ۹۳/۷۵ | ٤٦/۸۷ | شاهد | ۳۷۵ | ۱۸۷/۵ | ۹۳/۷۵ | ٤٦/۸۷ | شاهد | ۳۷۵ | ۱۸۷/۵ | ۹۳/۷۵ | ٤٦/۸۷ | شاهد |
| *E. coli* | ۱۱ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ | ۹ |
| *P. aeruginosa* | ۲۰ | ۱۷ | ۱۲ | ۹ | ۹ | ۱۸ | ۱۵ | ۹ | ۹ | ۹ | ۱۸ | ۱٦ | ۱۵ | ۱۱ | ۹ |
| *S. pyogenes* | ۲۷ | ۲۰ | ۱۸ | ۱۵ | ۹ | ۲۰ | ۱۸ | ۹ | ۹ | ۹ | ۲۸ | ۲٤ | ۲۰ | ۱۵ | ۹ |
| *S. aureus* | ۲٤ | ۲۰ | ۱۸ | ۱۲ | ۹ | ۲۰ | ۱٦ | ۱۵ | ۱۱ | ۹ | ۲۵ | ۲٤ | ۲۰ | ۱۸ | ۹ |

*برحسب میلی گرم

قطر چاهک‌های ایجاد شده در پلیت ۹ میلی‌متر بود، هاله کمتر از ۱۰ میلیمتر منفی در نظر گرفته شد.

جدول ۵- نتایج MIC و MBC عصاره‌ها برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

| عصاره / باکتری | آبی | | استنی | | اتانولی | | متانولی | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| *E. coli* | مقاوم | مقاوم | ٤٦/۸۷ | ۹۳/۷۵ | مقاوم | مقاوم | مقاوم | مقاوم |
| *P. aeruginosa* | مقاوم | مقاوم | ۱۸۷/۵ | ۳۷۵ | ۱۸۷/۵ | ۳۷۵ | ۱۸۷/۵ | ۳۷۵ |
| *S. aureus* | ۳۷۵ | ۳۷۵ | ۱۱/۷۱ | ٤٦/۸۷ | ٤٦/۸۷ | ۹۳/۷۵ | ۲۳/٤۳ | ۹۳/۷۵ |
| *S. pyogenes* | ۵/۸۵ | ۹۳/۷۵ | ۲/۹۲ | ۵/۸۵ | ۱۱/۷۱ | ٤٦/۷۸ | ۲/۹۲ | ۱۱/۷۱ |

## بحث

افدراها گیاهانی دارویی هستند که از نظر طبی شناخته شده می‌باشند. این گیاه سابقه‌ای پنج هزار ساله در درمان آسم، گرفتگی بینی و اختلالات سیستم اعصاب مرکزی دارد. افدراها در مناطق وسیعی از جهان پراکنده‌اند و ترکیبات شیمیایی آن بستگی به گونه، اندام گیاه، زمان برداشت، منطقه جغرافیایی و تکنیک استخراج آن دارد، بنابراین افدراهای مختلف از نظر فارماکولوژیکی ممکن است متفاوت باشند(Soni *et al*., 2004). علیرغم تاریخچه طولانی استفاده طبی از گیاه افدرا در طب، این گیاه دارای فیتوشیمی پیچیده‌ای بوده که نیاز به آنالیز بیشتر آن برای درک بهتری از استفاده این گیاه در طب سنتی احساس می‌شود ( Bagheri *et al*., 2009). مطالعات کمی در مورد خواص ضد میکروبی افدراها صورت گرفته است که بیشتر آن مربوط به گونه اینترمدیا می‌باشد. بررسی‌هایی که اخیراً صورت گرفته است نشان می‌دهد که چندین گونه مهم افدرا دارای اثرات ضد میکروبی برروی باکتری‌های پاتوژن می‌باشند. در مورد اثرات ضد باکتریایی گیاه افدرا ماژور تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است. افدرا ماژور یکی از ۱۱ گونه شناخته شده افدراها در ایران است که در مناطق مختلف می‌روید و اطلاعات کمی از این گیاه دردست است.

عصاره اتانولی را می‌توان عصاره‌ای دارای قدرت عمل متوسط نامید. نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که باکتری اشریشیا کولای به این عصاره مقاوم است. سودوموناس ائروژینوزا در دو رقت اول در پلیت به این عصاره حساس، اما در رقت‌های آخر مقاوم بود. استرپتوکوکوس پیوژنز در غلظت‌های اولیه حساسیتی تقریباً مشابه با استافیلوکوکوس اورئوس داشت اما در غلظت‌های کمتر توانایی خود را در ممانعت از رشد این باکتری از دست داد، در صورتی که استافیلوکوکوس اروئوس در تمام غلظت‌های آزمایش شده حساس بود.

اشریشیا کولای تنها به عصاره استنی حساس بود. این عصاره قویترین عصاره این گیاه از حیث طیف اثر ضد باکتریایی است. سودوموناس ائروژینوزا در سه رقت اول این عصاره قادر به رشد نبود، اما در کمترین غلظت مورد آزمایش هاله عدم رشد در پلیت مشاهده نشد. استافیلوکوکوس اروئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز هر دو به این عصاره حساس بودند. استرپتوکوکوس پیوژنز حساسیت بیشتری نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها به این عصاره نشان داد. به نظر می‌رسد استن دارای توانایی بیشتری نسبت به سایر حلال‌ها در استخراج مواد موثره ضد میکروبی این گیاه است.

عصاره متانولی قدرت خوبی در اثر ضد باکتریایی برعلیه باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان داد، اشریشیاکولای در همه غلظت‌ها مقاوم بود، اما سودوموناس ائروژینوزا در تمام رقت‌ها در پلیت تشکیل هاله عدم رشد داده بود. صرف نظر از باکتری اشریشیاکولای این عصاره قویترین عصاره از نظر اثر ضد باکتریایی است. ذکر این نکته ضروری است که حلالهای الکلی و استنی علی رغم اینکه خوددارای خاصیت ضدباکتریایی هستند، بدلیل تبخیر صورت گرفته در پلیت قبل و در طی زمان انکوباسیون از پلیت خارج شده و در آگار انتشار نیافته‌اند تا سبب تقویت اثر ضد باکتریایی عصاره شوند. شاهدهای منفی الکل و استن خود گویای همین یافته است (جدول ٤).

عصاره آبی دارای کمترین خاصیت ضد باکتریایی در مقایسه با سایر عصاره های آزمایش شده در این بررسی است. این عصاره برای استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۳۷۵ میلی‌گرم و استرپتوکوکوس پیوژنز در همان غلظت و غلظت ۱۸۷/۵ میلی‌گرم توانایی مهارکنندگی داشت. سودوموناس ائروژینوزا و اشریشیا کولای به غلظت‌های مورد آزمایش عصاره متانولی مقاوم بودند.

قدرت کمتر عصاره آبی ممکن است به دلایل زیر باشد:

۱) آب توانایی کمی در انحلال یا استخراج مواد موثره گیاه دارد
۲) عمل جوشاندن پودر گیاه در آب سبب تخریب مواد موثره گیاه می‌گردد (این عمل برای سایر حلالها انجام نشد)

در هر صورت عصاره آبی گیاه افدرا ماژور دارای اثرات ضد باکتریایی می‌باشد زیرا دو باکتری گرم مثبتی که در این تحقیق مورد آزمایش قرار گرفتند به این عصاره حساسیت نشان دادند.

آزمایش MIC وMBC نشان می‌دهد که قویترین اثر ضد باکتریایی مربوط به اثر عصاره استنی بر استرپتوکوکوس پیوژنز است. نتایج این آزمایش نیز موید اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های گیاه افدرا ماژور است.

با توجه به اینکه باکتری‌ها در مواجهه با عصاره‌های مختلف پاسخ‌های مختلفی داده‌اند. دلایل احتمالی این موضوع ممکن است از موارد زیر ناشی شده باشد:

استخراج توسط حلالهای مختلف منجر به استخراج مواد متفاوتی می‌گردد که هر میکروارگانیسم نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها ممکن است نسبت به این مواد دارای حساسیت متفاوتی باشد

حلال‌های مختلف دارای توانایی متفاوتی از نظر میزان انحلال و استخراج یک ماده خاص دارند

در مقایسه اثر عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نکته قابل توجه مقاوم بودن سودوموناس ائروژینوزا به این آنتی‌بیوتیک است. در صورتی که سودوموناس ائروژینوزا در این تحقیق به تمام عصاره‌ها به غیر از عصاره آبی حساسیت نشان داد. میزان هاله ایجاد شده توسط دیسک جنتامایسین در مورد باکتری‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز به ترتیب ۳۰ و ۲۸ میلی متر بود که نزدیک به نتایج اخذ شده از عصاره متانولی در این تحقیق یعنی ۲۵ و ۲۸ میلی‌متر است، که این نشان دهنده قدرت مناسب مواد ضد میکروبی موجود در این عصاره می‌باشد.

در بررسی مطالعات گذشته ذکر این نکته ضروری است که تفاوتهای مهمی از حیث گونه گیاهی، منطقه جمع آوری گیاه، روشهای استخراج عصاره، نوع میکروارگانیسم‌های مورد بررسی و غلظت عصاره‌های مورد استفاده وجود دارد. موارد فوق اهمیت و تاثیر بسیار زیادی در نتایج آزمایشات دارند.

تنها بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه افدرا ماژور توسط باقری و همکاران صورت گرفته است که موید اثرات ضد قارچی این گیاه است(Bagheri, 2009). در این تحقیق از اسانس و عصاره متانولی گیاه افدرا ماژور جمع آوری شده از استان لرستان استفاده شده است. نتایج تحقیق فوق نشان داد که عصاره متانولی این گیاه توانایی ممانعت از رشد و تولید آفلاتوکسین در روی آسپرژیلوس پارازیتیکوس را دارد.

در آزمایشی که در اردن برروی گیاه افدرا ترازیتورا انجام شد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس ائروژینوزا (ایزوله‌های کلینیکی) به ترانستورین استخراج شده از این گیاه حساس بودند و باکتری اشریشیا کولای به این ماده مقاوم بود. یافته فوق با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت می‌نماید، بجز حساسیت کمی که اشریشیا کولای در آزمایش‌های این تحقیق به عصاره استنی نشان داد. در تحقیق الخلیل و همکارانش برای تخلیص ترانستورین از روش کروماتوگرافی استفاده شده بود، در صورتی که ما با روش ماسراسیون و تقطیر در خلاء اقدام به عصاره‌گیری کردیم (Alkhalil *et al.*, 1999).

گابریل اگلی فرسین نشان داد که عصاره هگزانی و متانولی گیاه افدرا برنهآ بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، و چند میکروارگانیسم دیگر به غلظت تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فاقد اثر است. باکتری ایشرشیا کولای در این تحقیق حساس گزارش شد (Fersin, 2001). این غلظت بسیار پایین تر از غلظت‌هایی است که در عصاره گیاه افدرا ماژور در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفته است.

تحقیق طالعی و همکاران بر روی عصاره متانولی و هگزانی گیاه افدرا اینترمدیا که از استان لرستان جمع آوری و با

حداکثر غلظت عصاره ۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر انجام شده بود و عصاره این گیاه را فاقد اثر ضد باکتریایی بر اشریشیا کولای و،سودوموناس ائروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس گزارش نمودند (طالعی و همکاران ۱۳۸۳). در تحقیق فوق، ذکرشده، عصاره گیاه افدرا اینترمدیا (همیشه سبز) در غلظت ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکک فکالیس و باسیلوس سرئوس اثر باکتریواستاتیک و در همین غلظت بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و انتروکک فکالیس نیز اثر باکتریوسیدال داشته است. در این تحقیق برای تهیه عصاره از روش متفاوتی استفاده شده است که با روش ماسراسیون و تقطیر در خلاء که انجام گرفته در این تحقیق متفاوت می‌باشد.

در تحقیق دیگری که عصاره متانولی گیاه افدرا اینترمدیا توسط شهیدی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت، سودوموناس ائروژینوزا با داشتن MIC برابر ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به این عصاره حساس بود که میزان MIC ذکر شده بسیار کمتر از نتیجه MIC بدست آمده مطالعه حاضر بود (Shahidi *et al.*, 2004). تفاوت میزان MIC ممکن است ناشی از تفاوت نحوه استخراج، تفاوت گونه‌های گیاهی، سویه‌های باکتریایی، منطقه جغرافیایی رویش گیاه، دما و زمان متفاوت انکوباسیون باکتری مذکور باشد.

در بررسی دیگری که در دانشگاه کرمان توسط شهیدی و همکاران انجام شد عصاره متانولی گیاه افدرا اینترمدیا مورد بررسی قرار گرفت (Shahidi *et al.*, 2004). این گیاه از بازار کرمان تهیه شده بود. باکتری اشریشیا کولای مقاوم و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به عصاره تهیه شده حساس بودند. اما در این تحقیق سودوموناس ائروژینوزا نیز مورد بررسی قرار گرفته بود که نتیجه آن متفاوت از نتیجه بدست آمده از بررسی حاضر بود، یعنی نتیجه‌ای که در تحقیق حاضر گرفته شد نشان دهنده حساسیت این باکتری بود در صورتیکه در تحقیق اخیر سودوموناس ائروژینوزا مقاوم گزارش شده است. با توجه به اینکه جمع آوری و خشک کردن گیاه از مراحل حساس و مهم می‌باشد تهیه گیاه از بازار روش مناسبی به نظر نمی‌رسد.

با توجه به موارد فوق الذکر و نتایج آزمایشات انجام شده گیاه افدرا ماژور دارای خواص ضد باکتریایی می‌باشد و از این حیث می‌تواند بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها موثر باشد. میزان اثر ضد میکروبی این گیاه در گونه‌های مختلف از لحاظ قدرت و طیف اثر متفاوت است. همچنین نحوه استخراج، گونه گیاه، موقعیت جغرافیایی، استرس‌های وارد شده به گیاه، تفاوتهای درون گونه ای، بر میزان و نوع ترکیبات شیمیایی (و در نهایت خواص زیستی گیاه) موثر می‌باشند.

برای روشن شدن بهتر نحوه عملکرد ضد میکروبی گیاه پیشنهاد می‌گردد گونه‌های مختلف گیاه و بخصوص افدرا ماژور از مناطق مختلف جمع آوری مورد بررسی فیتوشیمیایی قرار بگیرد. نتیجه این بررسی فیتوشیمیایی ممکن است به کشف ماده جدید دارای خاصیت ضدمیکروبی منجر شود. همچنین پیشنهاد می‌گردد که روشهای متفاوت استخراج در مورد این گیاه مورد مقایسه قرار گیرد تا بهترین روش و بهترین حلال مشخص گردد. با توجه به خواص داروئی متعددی که در طب سنتی به این گیاه نسبت داده شده در مورد اثرات زیستی این گیاه نیاز به تحقیقات علمی بیشتری وجود دارد.

با توجه به اینکه گیاه افدرا و بخصوص گونه ماژور دارای توانایی رشد در شرایط متفاوت و نامساعد می‌باشد کشت آن به صورت مقادیر انبوه امکان پذیر و اقتصادی می‌باشد. همچنین می‌توان با انتخاب گونه‌هایی که دارای تولید مواد موثره بیشتری هستند امکان بهره‌دهی بیشتری از این گیاه فراهم نمود.

## تشکر و سپاسگزاری

با تشکر از جناب آقای مهندس محمد عابدی و کارشناسان آزمایشگاه‌های دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات.

## فهرست منابع


۱. باهر نیک، ز.(۱۳۸۱): بررسی ویژگی‌های گیاه شناختی و اکولوژیکی گونه‌های مختلف جنس افدرا در ایران، مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۸(۱): ۷۵-۵۳

۲. تراب‌زاده‌خراسانی، پ.(۱۳۸۳): بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه عروسک پشت پرده بر باکتریها و قارچ‌های بیماری‌زای پوست و راه‌های تنفسی، طرح تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج:.۳۵-۲۰

۳. طالعی، غ.ر.، مشکوه السادات، م.، دلفان، ب. (۱۳۸۲): بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره‌های الف ، جوشن، همیشه سبز، سماق لری بر روی تعدادی از باکتری‌های +Gr و -Gr. فصلنامه دانشکده علوم پزشکی لرستان ، ۱۸: ۲۳-۱۹.

٤. فاکر باهر، ز.، احمدی، ل.، باباخوانلو، پ.(۱۳۷۹): بررسی مقایسه‌ای مقادیر آلکالوئیدهای افدرین و پزودوافدرین در گونه‌های افدرای ایران، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ٦(۱) : ٦٥-٤٨.

5. Al khalil, S., Alkofahi A., El-Eisawi, D., Al-Shibib, A., (1998): Transtorine, a New Quinoline alkaloid from *Ephedra transitoria*, Journal of Natural Products science, 61 (1): 262-263.
6. Bageri gavkosh, S., Bigdeli, M.,Shams Ghahfarokhi, M.,Razzaghi-Abyaneh, M. (2009): Inhibitory effects of *Ephedra major* Host on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. Journal of mycopathologia - Springer Science, 168(5): 249-55.
7. Cowan, M.M, (1999): Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4):564-82.
8. Fazly bazaz, B.S., Harirzadeh G.(2003): Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. Journal of Pharmaceutical biology, 41(8):573-583.
9. NCCLS.(2003): Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 8th ed. Approved standard M2-A8. Wayne, Pennsylvania:1-16
10. Shahidi bonjar G.H.(2004): Evaluation of antibacterial proprieties of Iranian medicinal – plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens Kelbsiella pheumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. Asian journal of plant science, 3(1): 82 – 86
11. Shahidi bonjar G.H.(2004): Antiyeast activity of some plants used in traditional herbal – medicine of Iran. journal of biological sciences, 4(2 : 212-215
12. Shahidi bonjar, G.H., Karimi nik A., Heydari M.R.,Ghasemzadeh M.H., Rashid farokhi P., Moein M.R., Mansouri S.,Foroumadi A.(2003):Antipseudomonas and anti bacilli activity of some medical plant of Iran. daru, 11(4): 157-163
13. Shahidi bonjar G.H. (2004): Aghighi S, Karimi nik A, Antibacterial and antifungal survey in planet used in indigenous herbal medicine of south east regions of Iran, journal of biological sciences, 3(1) : 405 – 412.
14. Shahidi bonjar, G.H.(2004): Approaches in screening for anti bacterial in plants. Asian journal of plant science, 3(1):55 –60.
15. WHO (1999): WHO monographs on selected Medicinal plants vol.1., WHO Library Cataloguing in Publication Data:64-94
16. Soni MG, Carabin IJ, Griffiths JC, Burdock GA. (2004):Safety of Ephedra: lessons learned. Toxicology Letter 150(1):97–110.
17. Sher, A.(2009) Antimicrobial activity of natural product from medical plant. Gomal Journal of Medical Sciences,7(1):72-78
18. Richard, S.,Lynn, S., Avery, C.G.(2007) Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols. CRC Press:1-16.