بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه چریش بر روی اشرشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک

رضا روحانی[۱]، بتول حیدری صادق[۲]، سعیده سعیدی*[۳]

۱- استادیار، گروه جراحی مغز و اعصاب، بیمارستان امیرالمومنین زابل، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۲- استادیار، طب اورژانس، بیمارستان امیرالمومنین زابل، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۳- کارشناسی ارشد، دانشگاه ملی زابل، پژوهشکده زیست‌فناوری، زابل، ایران

* نویسنده مسئول: S.saeedi12@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۹، پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷

چکیده

چریش (*Azadirachta indica*) به‌عنوان یک گیاه دارویی به دلیل خواص ضد باکتریایی، ضد مالاریا، ضد ویروسی و ضد قارچی شناخته شده است. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی چریش تهیه شده با حلال‌های مختلف بر روی اشرشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک است. برگ گیاه دارویی چریش از منطقه سیستان و بلوچستان جمع‌آوری گردیده، در سایه خشک و با استفاده از حلال‌های مختلف عصاره‌گیری انجام شد و حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی با روش میکرودایلوشن تعیین گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی چریش در برابر اشرشیاکلی ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۲ سویه در این غلظت مهار شده‌اند در حالی که بیشترین غلظت مهارکنندگی ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۴ سویه در این غلظت مهار شده است. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره استونی چریش برابر با ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که یک سویه در این غلظت مهار شده است و بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۵ سویه در این غلظت مهار شده است در حالی که کمترین و بیشترین غلظت مهارکنندگی در برابر اشرشیاکلی برابر با ۱/۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۱ و ۳ سویه در این غلظت مهار شده است. نتایج نشان داد که عصاره استونی چریش دارای خاصیت مهارکنندگی خوبی در رقت‌های پایین بر روی اشرشیاکلی بوده است.

واژه‌های کلیدی: چریش، اشرشیاکلی، حلال‌های مختلف، حداقل غلظت مهارکنندگی

مقدمه

عفونت‌های مقاوم، سبب افزایش میزان مرگ و میر و هزینه‌های درمانی شده و گسترش بیماری و طول مدت درمان را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱). میزان مقاوت نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها در این باکتری به شدت بالا رفته، به خصوص در کشورهای در حال توسعه روندها به صورت افزایشی است. با وجود این واقعیت که بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های جدید به طور صنعتی سنتز می‌شوند کنترل بیماری‌های عفونی به طور جدی به وسیله افزایش مداوم میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر داروهای ضدمیکروبی شیمیایی تهدید می‌شود (۱).

درخت چریش (*Azadirachta indica*) درختی از خانواده Meliaceae است. درختی قد بلند همیشه سبز با شاخ و برگ روشن که در اصل بومی هندوستان است. *Azadirachta indica* یکی از گونه‌های دختری به طور گسترده در مناطق خشک‌تر نیجریه گسترده است، درخت چریش تا ۲۰-۲۴ متر بلندی و ساقه آن رشد سریع دارد. برگ‌ها به برگه‌های متعددی تقسیم می‌شوند که هر کدام شبیه یک برگ کامل هستند، گل‌های سفید کوچک و میوه‌هایی به طول ۱,۵ تا ۲ سانتی‌متر، سبز یا زرد با یک دانه می‌باشند و معمولاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک برای جنگل کاری استفاده می‌شوند (۲). اهمیت چریش توسط آمادمی ملی علوم ایالات متحده در سال ۱۹۹۲ در گزارش به عنوان چریش درختی برای حل مشکلات

جهانی شناخته شد. بیش از ۱۳۵ ترکیب از قسمت‌های مختلف آنها جداسازی که شامل ترکیبات ایزوپرنوئید و ترکیبات غیر ایزوپرنوئیدی می‌باشد (۳-۴-۵).

چریش در ایران و کشورهای همسایه بیش از ۲۰۰ سال به عنوان یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی، با طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته است (۶-۷).

چریش در اصل بومی جنوب هند و میانمار است. با این حال، به وفور در سواحل جنوبی ایران می‌روید که در محلی به آن چریش می‌گویند (۸). آنتی بیوتیک‌ها وضعیت سلامتی بشر را تحت‌تاثیر قرار داده و امکان درمان عفونت‌های تهدید کننده زندگی را فراهم می‌کند. با این حال، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای در حال توسعه بسیار رایج است مقاومت ضد میکروبی به طور روزانه در حال افزایش است بنابراین برای جستجوی آنتی-بیوتیک‌های جدید ضروری است. اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها منشأ طبیعی، به ویژه از میکروب‌های مختلف، یا منابع دریایی گیاهان ترکیباتی تولید که برای محافظت در برابر حملات میکروبی میتوان استفاده نمود (۹-۱۰). مطالعات اخیر نشان داده که چریش دارای خواص ضد التهاب، ضد آرتریت، تب بر، کاهش قند خون، ضد زخم معده، ضد باکتری، ضد قارچ و فعالیت‌های ضد تومور است (۱۱). دارای طیف گسترده‌ای از اثر ضد باکتریایی در برابر گرم مثبت و گرم منفی میکروارگانیسم‌ها است (۱۲).

اشرشیاکلی باسیلی گرم منفی و یکی از مهمترین باکتری‌های خانواده‌ی آنتروباکتریاسه و عامل عفونت‌های بسیاری مانند: سپیس یا انتشار عمومی عفونت از راه خون، گاستروانتریت، مننژیت نوزاد، عفونت کیسه‌ی صفرا و مجاری صفراوی، عفونت زخم، پنومونی، پریتونیت و به خصوص عفونت‌های ادراری می‌باشد و از آن مهمتر به عنوان نارسایی کلیه در کودکان به شمار می‌رود (۱۳-۱۴). هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره-های مختلف گیاه چریش بر روی اشرشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک است.

مواد و روش کار

تهیه نمونه: گیاه مورد استفاده در این تحقیق از شهرستان سرباز (سیستان و بلوچستان) جمع‌آوری و در هر باریوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت تعیین گونه شد. پس از جمع‌آوری گیاهان، برگ‌ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره با آسیاب خرد شد.

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده شد. به این صورت که پس از خرد کردن برگ، ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در اتانول، هگزان، استون و متانول خیسانده شده و پس از گذشت این مدت زمان با کاغذ صافی صاف گردید. بعد از اتمام عملیات عصاره‌گیری، عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری تقطیر خلا (شرکت طیف آزما طب، ایران) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و در دمای ۴۰ درجه به مدت ۲ روز خشک گردید.

جداسازی و شناسایی اشرشیاکلی

جدایه‌های مختلف اشرشیاکلی مورد استفاده در این تحقیق از نمونه‌های مدفوع در شهرستان زابل جداسازی و بر روی محیط‌های کشت نوترینت آگار کشت داده شدند. جدایه‌های باکتریایی جدا شده به وسیله تنوعی از واکنش-های بیوشیمیایی، باکتریولوژیک آزمون‌های رشد (اکسیداز، کاتالاز، حرکت باکتری، آزمون‌های قندی از قبیل تخمیر لاکتوز، سوکروز، گلوکز) و همچنین آزمون‌های استاندارد از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی اسید فاست، مورفولوژی رنگ کلنی قابل شناسایی هستند که در تحقیق حاضر بعد از مشاهده گرم منفی و همچنین آزمون‌های اکسیداز جهت شناسایی استفاده شد. در مرحله بعد، با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی کشت بر روی مکانکی آگار و انکوباسیون در حرارت‌های ۳۷ درجه و ۴۲ درجه سانتی‌گراد، آزمون سیترات، آزمون حرکت و کشت بر روی محیط of (تخمیر و اکسیداسیون) حاوی قند گلوکز، تشخیص قطعی باکتری‌ها صورت گرفت.

آزمون ضد میکروبی عصاره

حساسیت جدایه‌های باکتری دارای مقاومت چند گانه نسبت به عصاره برگ چریش با استفاده از روش رقت‌سازی در چاهک بررسی شد. به هفت چاهک از پلیت‌های میکروتیتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده عصاره اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه کرده و بدین‌ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام داده شد از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت خارج کرده مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^8 واحد در میلی‌لیتر معادل ۰/۵ مک-فارلند اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین لوله‌ای که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده است به عنوان (MIC) در نظر گرفته شده و برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده نشان داده می‌شود.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی چریش در برابر اشرشیاکلی ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۲ سویه در این غلظت مهار شده‌اند در حالی که بیشترین غلظت مهارکنندگی ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۴ سویه در این غلظت مهار شده است. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره استونی چریش برابر با ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که یک سویه در این غلظت مهار شده است و بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۵ میلی‌گرم بر میلی-لیتر بوده که ۵ سویه در این غلظت مهار شده است در حالی که کمترین و بیشترین غلظت مهارکنندگی در برابر اشرشیاکلی برابر با ۱/۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که ۱ و ۳ سویه در این غلظت مهار شده است (جدول۱).

جدول ۱- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره گیاه چریش

سویه باکتری	اتانول MIC/MBC	استون MIC/MBC	متانول MIC/MBC
۱	۱۰-۲۰	۵-۱۰	۲/۵-۵
۲	۵-۱۰	۰/۶۲-۱/۲۵	۵-۱۰
۳	۲/۵-۵	۵-۱۰	۵-۱۰
۴	۵-۱۰	۲/۵-۵	۲/۵-۵
۵	۱۰-۲۰	۱/۲۵-۲/۵	۱۰-۲۰
۶	۵-۱۰	۵-۱۰	۱/۲۵-۲/۵
۷	۱۰-۲۰	۱/۲۵-۲/۵	۱۰-۲۰
۸	۲/۵-۵	۵-۱۰	۲/۵-۵
۹	۵-۱۰	۱/۲۵-۲/۵	۲/۵-۵
۱۰	۱۰-۲۰	۵-۱۰	۱۰-۲۰

بحث

ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک تهدیدی برای سلامت عمومی است (۱۵). به دلیل افزایش عوارض، بار اقتصادی و مرگ و میر زیادی را تحمیل می‌کند (۱۶-۱۷). از سوی دیگر، بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های جدید گران هستند و عوارض جانبی تهدید کننده‌ای دارند. تحقیقات برای شناسایی موثر و جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌های فعلی از منابع گیاهی در حال انجام است (۱۸).

Tirumalasetty و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داده‌اند که عصاره متانولی چریش دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی دارد (۱۴).

نتایج مشابهی نیز توسط Autade و همکاران نشان دادند که عصاره استونی برگ چریش مهار کننده رشد باکتری‌ها است (۱۵).

Mamman و همکاران نشان دادند که عصاره‌های آبی و متانولی برگ چریش دارای اثرات مهاری بر باکتری اشرشیاکلی، سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد (۱۶). در مطالعه Rasool و همکاران نشان دادند که عصاره اتانولی برگ چریش مهار کننده رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، سالمونلاتیفی‌موریوم، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس است (۱۷).

در مطالعه Maleki و همکاران که فعالیت ضد میکروبی برگ چریش بررسی کردند نتایج نشان داد که عصاره متانولی مهار کننده رشد سویه استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا است. عصاره اتانولی و اتیل استات مهار کننده بالینی و استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس است (۱۸).

عصاره چریش مهار کننده رشد انتروکوکوس فیکالیس و استرپتوکوکوس موتانس در مطالعات قبلی می‌باشد (۱۹-۲۰-۲۱) در مطالعه Fabry عصاره *Azadirachta indica* (پوست ساقه و برگ) را در برابر ۱۰۵ سویه باکتری از هفت جنس (*Staphylococcus Escherichia, Pseudomonas, Enterococcus, Mycobacterium Salmonella, Klebsiella,*) آزمایش کردند. حداقل غلظت بازدارندگی به ۵۰٪ (MIC50%) و ۹۰٪ (MIC90%) از سویه‌ها برای عصاره *A. indica* (پوست ساقه) بین ۰,۲۵-۲ mg/ml و از ۰,۵ تا ۲ mg/ml به ترتیب بود (۲۲).

همچنین عصاره قسمت خوراکی (گل) چریش نیز فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیاکلی و سالمونلا اینفانتیس نشان داد (۲۳).

به دلیل این نقش حیاتی *A.indica* در فعالیت ضد باکتریایی، مطالعات بیشتری انجام شده است و نشان می‌دهد که عصاره‌های متانولی و استونی در مقایسه با عصاره آبی در برابر باکتری‌ها موثرتر هستند (۲۴).

Prashant و همکاران نشان دادند که عصاره چوب چریش حداکثر قطر هاله مهاری در برابر استرپتوکوکوس موتانس در غلظت ۵۰ درصد ایجاد کرده است (۲۵).

Bohora و همکاران نشان دادند که عصاره برگ چریش دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی بر علیه کاندیدآ البیکنس و انتروکوکوس فیکالیس می‌باشد (۱۹). چریش حاوی ترکیبات گیاهی مختلف از جمله آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، ترپنوئیدها، استروئیدها و تانن است (۲۵). در مطالعه دیگری ارزیابی فیتوشیمیایی و آنتی‌باکتریال فعالیت عصاره برگ *Azadirachta indica* علیه اشریشیاکلی بررسی گردید. نتایج نشان داد که آنالیز فیتوشیمیایی برگ‌های چریش شامل فنول‌ها و تانن‌ها در اتانول و عصاره آبی. ساپونین‌ها فلاونوئیدها و آلکالوئیدها فقط در عصاره آبی موجود بودند. در حالی که استروئید فقط در عصاره اتانولی وجود داشت. عصاره آبی و اتانولی برگ چریش مهار کننده باکتری اشرشیاکلی می‌باشد و حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی و اتانولی برابر با ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (۲۶)

عصاره آبی چریش با سایر تیمارها با مهار ۹۹,۴۸ تا ۱۰۰ درصدی در برابر باکتری‌های گونه‌های *Enterobacter aerogenes, Acinetobacter baumanni Staphylococcus aureus* و *Micrococcus sp* تفاوت معنی‌داری نشان نداد. سویه‌های *Bacillus subtilis* و *Stenotrophomonas maltophilia* به ترتیب مقاوم‌ترین سویه‌هایی که با شوینده آنزیمی و ضدعفونی کننده مهار شدند.

در مطالعه دیگری که فعالیت ضد میکروبی عصاره چریش بر روی اشرشیاکلی بررسی کردند نتایج نشان داد که عصاره چریش مهار کننده باکتری اشرشیاکلی است (۲۷). عصاره آبی شاخه‌های چریش رشد ارگانیسم‌های پوسیدگی دندانی *Streptococcus mutans S.salivarius,S. mitis* و *S. sanguis* را مهار کرد (۲۸)

مکمل‌ها و عصاره‌های چریش بسیاری از پاتوژن‌های باکتریایی را مهار می‌کنند. عصاره کلروفرمی چریش رشد

لیستریا مونوسیتوژنز را مهار می‌کند در حالی کـه عصـاره-های اتانولی مهار بیشتری برای اسـتافیلوکوکوس اورئـوس نشان می‌دهد (۲۹).

یـک گلیکولیپیـد محلـول در آب، سولفونوکینووسـیل دی‌آسیل گلیسرید، جـدا شـده از بـرگ چـریش، فعالیـت بازدارنده‌ای را در برابر سالمونلا تیفـی، شـیگلا دیسـانتری، اشرشیاکلی و ویبریوکلرا نشان داده است (۳۰).

Aquaneem، محصـول امولسـیون شـده از هسـته چـریش، پـاتوژن‌هـای مـاهی (آئروموناس هیـدروفیلا-اشرشیاکلی-پسـودوموناس فلوئورسـنت) را مهـار مـی‌کنـد (۳۱).

در مطالعه دیگری که قطر هالـه مهـاری عصـاره بـرگ چریش در رقت‌های مختلف ۰/۵٪، ۱٪، ۱/۵٪ و ۲٪ درصـد در برابر سالمونلا برابر با ۱/۸-۲/۲-۲ و ۲/۱ میلی‌متر بـوده است در حالی که قطر هاله مهـاری در همـین رقـت‌هـا در برابر اشرشیاکلی برابر با ۲- ۲/۲- ۲/۴ و ۲/۱ میلی‌متر بوده است (۳۲).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصـاره بـرگ چریش مهار کننده رشـد بـاکتری اشرشـیاکلی مقـاوم بـه آنتی‌بیوتیک است که می‌توان در درمان عفونت‌های ناشـی از این باکتری استفاده نمود.

References

1- Nenaah EG, Ahmed ME. Antimicrobial activity of extracts and latex of Calotropis procera (Ait.) and synergistic effect with reference antimicrobials. Research Journal of Medicinal plants. 2011;5(6):16-706.

2- Kaura SK. Plant Food for Human Nutrition. Botanica.1998;52(4):293.

3- Kumar J, Parmar BS. Compounds of medicinal Importance in Neem Tree. Journal of Agricultural and Food Chemistry.1996;44(8):2137- 2143

4- Dastagir G, Haq IU. Testing Wood powder from Different plants on Human Teeth. Journal of Science and Technology.1997; 21(&): 57.

5- Biswas K, Ishiha CY and Rankjit K. Biological Activities and Medicinal Properties of neem (A. indica) Current Science.2002; 5: 1-1336.

6- Ahmed MF, Rao AS. Simultaneous determination of phenolic compounds in melia azedarach. Linn leaves by high-performance liquid chromatography. Indian J Appl Res. 2011;3(11):31-429.
doi: 10.15373/2249555x/nov2013/137

7- Jafari S, Saeidnia S, Hajimehdipoor H, Ardekani MR, Faramarzi MA, Hadjiakhoondi A, et al. Cytotoxic evaluation of Melia azedarach in comparison with, Azadirachta indica and its phytochemical investingation. Daru. 2013;21(1):37.
doi: 10.1186/2008-2231-21-37. [PubMed: 23679992].

8- Zargari A. Treatment with plants, Pharmacogenosis [In Persian]. Tehran: Tehran University Publications. 1990; 67.

9- Packer J, Naz T, Yaegl Community E, Harrington D, Jamie JF, Vemulpad SR. Antimicrobial activity of customary medicinal plants of the Yaegl Aboriginal community of northern New South Wales, Australia: a preliminary study. BMC Res Notes. 2015;8:276.
doi: 10.1186/s13104-015-1258- x. [PubMed: 26122212].

10- Chanda S, Nair R. Activity of some medicinal plants against certain pathogenic bacterial strains. Indian J Pharmacol. 2006; 38(2):4-142.
doi: 10.4103/0253-7613.24625

11- Sharma C, Vas AJ, Goala P, Gheewala TM, Rizvi TA, Hussain A. Ethanolic Neem

18- Theuretzbacher U. Global antibacterial resistance: The neverending story. J Glob Antimicrob Resist. 2013; 1(2): 9-63. doi: 10.1016/j.jgar.2013.03.010. [PubMed: 27873580].

19- Tirumalasetty J, Anuradha B, Praveena A. Antimicrobial activity of methanolic extracts of Azadirachta indica, Rosmarinus officinalis and Lagenaria siceraria leaves on some important pathogenic organisms. J Chem Pharm Res. 2014; 6: 70-766.

20- Autade RH, Saini S, Reddy PG, Deorukhkar SC, Padmajakshi G. Effect of Neem extract against opportunistic bacterial and fungal pathogens associated with AIDS. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2015; 4: 99-988.

21- Mamman PH, Mshelia WP, Susbatrus SC, Sambo KW. Antibacterial effects of crude extract of Azadirachta indica against Escherichia coli, salmonella spp and Staphylococcus aureus. Int J Med Sci. 2013; 5(14-8).

22- Rasool M, Malik A, Arooj M, Alam MZ, Alam Q, Awan M. Evaluation of antimicrobial activity of ethanolic extracts of Azadirachta indica and Psidium guajava against clinically important bacteria at varying pH and temperature. Biomed Res. 2017; 28: 9-134.

23- Maleki L, Sadeghian-Rizi T, Ghannadian M, Hossein Sanati M, Shafizadegan S and Sadeghi-Aliabadi .H Antibacterial Activity of Azadirachta indica Leaf Extracts Against Some Pathogenic Standards and Clinical Bacterial Isolates. Avicenna J Clin Microb Infec. 2018 February; 5(1): e12987.

24- Bohora A, Hegde V, Kokate S. Comparison of antibacterial efficiency of neem leaf extract and 2% sodium hypochlorite against E. faecalis, C. Albicans and mixed (Azadirachta indica) Leaf Extract Prevents Growth of MCF-7 and HeLa Cells and Potentiates the Therapeutic Index of Cisplatin. J Oncol. 2014; 2014: 321754. doi: 10.1155/2014/321754. [PubMed: 24624140].

12- Banna QR, Parveen F, Iqbal J. Growth inhibitory effect of ethanolic neem leaves extract on Staphylococcus aureus. Bangladesh J Pharmacol. 2014; 9(3): 50-347. doi: 10.3329/bjp.v9i3.19454.

13- Alizadeh Taheri P, Navabi B, Shariat M. Neonatal urinary tract infection: clinical response to empirical therapy versus in vitro susceptibility at Bahrami Children's Hospital-Neonatal Ward: 2001-2010. Acta Med Iran. 2012; 50(5): 52-348.

14- Khalesi N, Sharaky T, Haghighe M. Prevalence of urinar tract infection in neonates with prolonged jaundice referred to Aliasghar Hospital in Zahedan (2005). J Qazvin Univ Med Sci. 2007; 11(3): 8-14.

15- Uttamkumar B, Bhubaneswari A, Tejasri MVV. Comparative antibacterial activeities of the combined crude leaf extract of bixa orellana, azadirachta indica and ocimum scantum. Int Res J Pharm. 2016; 4(4):93-189. doi: 10.7897/2230-8407.04437

16- Barriere SL. Clinical, economic and societal impact of antibiotic resistance. Expert Opin Pharmacother. 2015; 16(2): 3-151. doi: 10.1517/14656566.2015.983077. [PubMed: 25483564].

17- Cassell GH. Emergent antibiotic resistance: health risks and economic impact. FEMS Immunol Med Microbiol. 1997; 18 (4):4-271. doi: 10.1111/j.1574-695X.1997.tb01055.x. [PubMed: 9348162].

Escherichia coli. Pharmacology & Pharmacy. 2022; 13, 1-10.

32- Ravva S, Korn A. Effect of Neem (*Azadirachta indica*) on the Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Dairy Manure. Int J Environ Res Public Health. 2015 Jul; 12 (7): 7794-7803.

33- Chava VR, Manjunath SM, Rajanikanth AV, Sridevi N. The efficacy of neem extract on four microorganisms responsible for causing dental caries viz *Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis* and *Streptococcus sanguis*: An *in vitro* study. *J. Contemp. Dent. Pract.* 2012;13:769–772.

34- Mahfuzul Hoque MD, Bari ML, Inatsu Y, Juneja VK, Kawamoto S. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Foodborne Pathog. Dis.* 2007; 4: 481-488.
doi: 10.1089/fpd.2007.0040

35- Bharitkar YP, Bathini S, Ojha D, Ghosh S, Mukherjee H, Kuotsu K, Chattopadhyay D, Mondal NB. Antibacterial and antiviral evaluation of sulfonoquinovosyldiacylglyceride: A glycolipid isolated from *Azadirachta indica* leaves. *Lett. Appl. Microbiol.* 2014;58:184-189.
doi: 10.1111/lam.12174.

36- Das BK, Mukherjee SC, Sahu BB, Murjani G. Neem (*Azadirachta indica*) extract as an antibacterial agent against fish pathogenic bacteria. *Indian J. Exp. Biol.* 1999;37:1097–1100.

37- Panchal P, Bajaj H, Maheshwari S. Azadirachta indica (NEEM): antibacterial effects against Escherichia coli and Salmonella. Guru Drone Journal of Pharmacy and Research, Oct-Dec 2013;1(1):18-21.

culture. *Endodontology.* 2010; 22: 3-10. [Google Scholar]

25- Dhanya Kumar NM, Sidhu P. The antimicrobial activity of *Azadirachta Indica, Glycyrrhiza glabrat, Cinnamum zeylanicum, Syzygium aromaticum, Acacia nilotica* on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*: An *in vitro*study. *Endodontology.* 2011; 23: 18–25.

26- Prashant GM, Chandu GN, Murulikrishna KS, Shafiulla MD. The effect of mango and neem extract on four organisms causing dental caries: *Streptococcus mutans, Streptococcus salivavius, Streptococcus mitis,* and *Streptococcus sanguis*: An *in vitro* study. *Indian J Dent Res.* 2007; 18: 51-148.

27- Fabry W, O Okemo P and Ansorg R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. Journal of ethnopharmacology.1998; 60(1): 79-84.

28- Alzoreky NS and Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International journal of food microbiology.2003; 80(3): 223-230.

29- Sinaga M, Ganesan K, Kumar P Nair S and Banu Gani S. PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND IN VI-TRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BARK AND SEEDS OF ETHIOPIAN NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS).2016.

30- Prabhat, Ajaybhan, Navneet, Chauhan A. Evaluation of antimicrobial activity of six medicinal plants against dental pathogens. *Rep Opin.* 2010; 2: 37-42.

31- Hikaambo CN, Kaacha L, Mudenda S, Nyambe MN, Chabalenge B, Phiri M, Biete LL, Akapelwa TM, Mufwambi W, Chulu M, Kampamba M. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Azadirachta indica Leaf Extracts against

Vol.2/No.3/Winter 2023/Pages 10-17 https://www.qafj.iauk.ac.ir

Investigating the Antimicrobial Activity of Different Extracts of *AzadirachtaIndica* Plant on Antibiotic Resistant Escherichia Coli

RezaRouhani[1], Batol Heydari Sadegh[2], Saeide Saeidi[*3]

1- Assistant Professor, Department of Neurosurgery, Amir al Mominin Zabol Hospital, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

2- Assistant Professor, Emergency Medicine, Amir al Mominin Zabol Hospital, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

3- M.S., Agricultural Biotechnology Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

* Corresponding Author: S.saeedi12@yahoo.com

Received: 30/12/2022, Accepted: 6/2/2023

Abstract

Neem (*Azadirachta indica*) is known as a medicinal plant due to its antibacterial, antimalarial, antiviral and antifungal properties. The aim of this study is to investigate the antimicrobial activity of neem medicinal plant prepared with different solvents on antibiotic resistant *Escherichia coli.* Neem medicinal plant leaves were collected from Sistan and Baluchistan region, extracted in dry shade and using different solvents, and minimum inhibitory concentration and minimum lethal concentration were determined by microdilution method. The results of this study showed that the lowest inhibitory concentration of ethanol extract of neem against Escherichia coli was 2.5 mg/ml, and 2 strains were inhibited at this concentration, while the highest inhibitory concentration was 10 mg/ml. 4 strains were inhibited in this concentration. The lowest inhibitory concentration of neem acetone extract is 0.62 mg/ml, and one strain is inhibited at this concentration, and the highest inhibitory concentration is 5 mg/ml, and 5 strains are inhibited at this concentration. While the lowest and highest inhibitory concentrations against Escherichia coli were 1.25 and 10 mg/ml, and 1 and 3 strains were inhibited at this concentration. The results showed that *Azadirachta indica* extract had a good inhibitory effect on Escherichia coli at low dilutions.

Keywords: Azadirachta Indica, Escherichia Coli, Different Solvents, Minimum Inhibitory Concentration