بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره های الف ، جوشن ، همیشه سبز و سماق لری بر روی تعدادی از باکتریهای گرم مثبت وگرم منفی

دکتر غلامرضا طالعی✦ دکتر محمد هادی مشکوه السادات ✦✦ دکتر بهرام دلفان ✦✦✦

یافته / سال پنجم / شماره ۱۸

چکیده

مقدمه : با توجه به افزایش روز افزون مقاومت باکتریها نسبت به آنتی بیوتیکها و عوارض جانبی آنها استفاده از گیاهان داروئی و عصاره های گیاهی مورد توجه زیادی قرار گرفته اند . در این پژوهش اثرات آنتی باکتریال عصاره های سماق لرستان ، الف و درمنه (جوشن) و همیشه سبز بر روی شش باکتری گرم منفی و گرم مثبت استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند ،

مواد و روشها : برای انجام این پژوهش آزمایشی ابتدا برگ یا میوه تازه گیاه در سایه خشک و تبدیل به پودر شد، سپس در چند مرحله عصاره آن درحلالهای آلی بدست آمد. با تبخیر نمودن حلال ، عصاره در سرم فیزیولوژی استریل بازسازی شده آزمایش دیسک دیفیوژن (DD) و تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) به روش برات میکرودایلوشن انجام گرفت. پس از آماده شدن حداقل غلظت کشندگی باکتریها (MBC)، مورد استفاده قرار گرفتند .

یافته ها : نتایج نشان داد که عصاره سماق لری (وحشی لرستان) اثر قوی آنتی باکتریال دارد؛ بطوریکه در رقت بسیار پایین (MIC=۵ µg/ml) رشد باسیلوس سروس رامتوقف نمود و در غلظت MBC =۷۸µg/ml موجب مرگ این باکتری شد . اثر عصاره سماق بر باکتریهای گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود؛ به عنوان مثال اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال این عصاره بر روی انتروکک فکالیس برابر باMBC=MIC=۳۰ µg/ml بود .در حالیکه همین اثر برای سودوموناس و اشرشیاکلی µg/ml ۶۰۰ یا بیشتر بود. همچنین عصاره گیاه الف در غلظت های پائین برباسیلوس سروس اثر آنتی باکتریال داشت و در غلظت ۶۰۰µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس و اشرشیاکلی موثر بود .اثر آنتی باکتریال عصاره همیشه سبز بر باکتریهای مورد آزمایش بسیار کم و یا در غلظت مورد آزمایش بی اثر بود . عصاره گیاه جوشن نیز به همین ترتیب بر بعضی از باکتریهای مورد آزمایش موثر بود .

نتیجه گیری : با توجه به نتایج فوق می توان امیدوار بود که عصاره سماق را می توان در درمان بعضی از باکتریهای مقاوم مانند انتروکک فکالیس استفاده نمود .همچنین در صنایع غذائی نیز بعنوان محافظت کننده مواد غذائی قابل استفاده می باشند .

واژه های کلیدی: آنتی باکتریال ، گیاهان داروئی ، عصاره گیاهی

✦ استادیار میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی لرستان
✦✦ استادیار گروه شیمی ، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه لرستان ، خرم آباد
✦✦✦ استادیار فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-05-27]

مقدمه

علم شناسایی واستفاده از گیاهان دارویی به قدمت عمر انسان است. بشر هنگامی که از گیاهان به عنوان غذا استفاده می کرد متوجه برخی از اثرات ویژه از جمله اثر درمانی یا اثرسمی آنها شد. سپس این اطلاعات از نسلی به نسلی دیگر انتقال یافتند. تا همین یک قرن پیش، گیاه درمانی، بخش مهمی از طب معمول بود (۱،۲) و در بیشتر کشورهای جهان، درمان تقریبا با استفاده از منابع طبیعی و به طور عمده گیاهان انجام می گرفت. در ایران، بعلت تنوع آب و هوایی بین ۶ تا۸ هزار گونه گیاهی روییده می شود که معادل تقریبا ۶۰ درصد گونه های گیاهی منتشر در سراسر دنیا می باشد (۱،۳).

از آنجا که بیماریهای عفونی و میکروبی دسته بزرگی از بیماریها را تشکیل میدهند و از طرفی شمار سوشهای میکروبی مقام به آنتی بیوتیکها هر روز بیشتر میشوند (۴،۵)، لذا نیاز به مواد ضد باکتریایی جدید و کم ضرر هر روز بیشتر نمایان می گردد. از این رو، بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان طبیعی می تواند راه را برای بدست آوردن آنتی بیوتیکهای جدید هموار سازد.

برای رسیدن به چنین اهدافی در این پژوهش اثرات ضد میکروبی عصاره های چهار گیاه سماق[1]، همیشه سبز[2]، الف[3] و جوشن[4] (درمنه) مورد ارزیابی قرار گرفته اند . درمنه در طب قدیم داروی ضد سرفه ، اشتها آور و ضد انگل معرفی شده است (۲) . همیشه سبز بشکل ضماد در زخمهای پوستی و یا در موارد برونشیت و خلط خونی بکار میرفته است . سماق بعنوان قابض در درمان اسهال و بند آورنده خونریزی و برای تقویت معده مصرف می شد است (۱،۲) .

مواد و روشها

گیاه الف از ارتفاعات گرین لرستان جمع آوری شد .گیاه جوشن از ارتفاعات سراب کهمان در نزدیکی شهر الشتر جمع آوری می شد و گیاه همیشه سبز یا ریش بز در نواحی مختلف استان لرستان بخصوص شرق و غرب خرم آباد می روید. گیاه سماق در ارتفاعات لرستان از جمله اشترانکوه ، دامنه های سفید کوه و کوه میل می روید .

برای تهیه عصاره ، برگ تازه گیاهان در سایه خشک و سپس پودر شد . ابتدا به مدت ۴۸ ساعت در هگزان خیسانده و با صاف کردن و تبخیر حلال در فشار کم ماده غلیظی بدست آمده که با اضافه کردن حلال جدید و بهم زدن شدید به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۵- درجه سانتیگراد نگهداری شد . بعد از خارج کردن رسوبات با سانتریفوژ و تبخیر حلال عصاره خالص بدست آمد . این عصاره برای تهیه دیسک دیفیوژن (DD)[5] و پس از تبخیر و باز سازی در سرم فیزیولوژی استریل برای انجام آزمایشات حداقل غلظت باکتریو استاتیک (مهار کنندگی) (MIC)[6] و حداقل غلظت کشندگی (MBC)[7] استفاده گردید .

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش برات میکرو دایلوشن[8] انجام گرفت (۶). به این ترتیب که ابتدا از محیط کشت مولرهینتون برات (مرک آلمان) ۱۰۰µl داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد؛ سپس به اولین چاهک یک ردیف ۱۰۰µl عصاره اضافه شد و از خانه دوم به سوم و به همین ترتیب تا خانه دهم رقیق شد. در ردیف دیگری هم ۱۰۰µl از یکی از آنتی بیوتیکهای سیپروفلوکساسین ، جنتامایسین و تتراسایکلین مناسب با حساسیت باکتری مورد آزمایش اضافه وطبق روش بالا رقیق کردیم . در آخر به همه چاهک ها ، µl ۱۰۰ سوسپانسیون میکروبی رقیق شده معادل لوله نیم مک فارلند[9] اضافه کردیم (۶). بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ، بوسیله پایه پلیت tray-reading stand که به همین منظور ساخته شد، کف پلیت را زیر نور در آینه مشاهده کردیم . وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود را در جدول مخصوص یادداشت کردیم . طبق تعریف غلظت آخرین (رقیق ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در

1. Rhus Coriaria
2. Ephedra Intermedia
3. Daphne Mucoronate
4. Artemisia Persica
5. Disk Diffusion test (DD)
6. Minimal inhibitory concentration (MIC)
7. Minimum Bactericidal concentration (MBC)
8. Broth microdilution test
9. Mc Farland 0.5 Standard

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-05-27]

آن ایجاد نشده بود معادل MIC قرار داده شد . کنترل عصاره، محیط کشت و میکروب نیز جداگانه منظور گردید .

برای تعیین MBC ، ۱۰۰µl از سه خانه ما قبل خانه MIC را جداگانه روی محیط مولر هینتون آگار(مرک آلمان) کشت دادیم . پس از ۲۴ ساعت ، کمترین غلظتی از عصاره آنتی بیوتیک که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش کردیم (۶) .جهت آزمایش DD ، باکتریها را روی محیط ایزوسنسی تست آگار[1] کشت داده، دیسک های حاوی عصاره و دیسک های آنتی بیوتیک را روی آن قرار دادیم . پس از ۲۴ ساعت، انکوباسیون در ۳۷ درجه قطر هاله عدم رشد را از پشت پلیت با خط کش اندازه گیری کردیم و نتایج حاصل از آنتی بیوتیکها را با جداول NCCLS[2] مقایسه کردیم . بجز یک مورد ، همه باکتریهایی مورد استفاده در این آزمایش ها ، باکتریهایی استاندارد دارای کداز ATCC[3] بودند . همه آزمایش ها سه بار تکرار شدند و نتایج بصورت متوسط آنها ارائه گردیدند .

یافته ها

عصاره سماق در غلظت بسیار پائین ۵µg/ml بر باسیلوس سروس و در غلظت ۳۰ µg/ml بر انتروکک فکالیس (سابقا استرپ فکالیس) اثر باکتریواستاتیک نشان داد (جدول ۱، ۲).

جدول ۱: تعیین متوسط (n=3) غلظتMBC و MIC عصاره میوه سماق و برگ گیاهان الف، درمنه و همیشه سبز بر کوکسی های گرم مثبت (میکروگرم در میلی لیتر)

عصاره	باکتری	استاف ارئوس ATCC 25923		استاف اپیدرمیدیس ATCC 1228		انتروکک فکالیس ATCC 29212	
		MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
سماق		۵۰۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۳۰	۳۰
همیشه سبز		>۶۰۰*	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰
الف		>۶۰۰	>۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۴۰
درمنه		>۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۱۵۰	۶۰۰	۱۵۰
سیپروفلو کساسین		۲/۵	۰/۵	۱۲	۴	۲	۵

*غلظت بیشتر از ۶۰۰ میکروگرم در میلی لیتر آزمایش نگردید

جدول ۲ : تعیین متوسط (n=3) MBC وMIC عصاره سماق، الف و درمنه ، همیشه سبز بر باسیلهای گرم منفی و گرم مثبت (میکروگرم در میلی لیتر)

عصاره	باکتری	اشرشیاکلی ATCC 25923		سودوموناس ائروژینوزا ATCC 1228		باسیلوس سروس	
		MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
سماق		۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰	>۵۰۰	۷۸	۵
همیشه سبز		>۶۰۰*	>۶۰۰	>۶۰۰	>۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰
الف		>۶۰۰	۶۰۰	>۶۰۰	>۶۰۰	۱۵۰	۱۵۰
درمنه		>۶۰۰	۶۰۰	>۶۰۰	۶۰۰	۱۵۰	۴۰
سیپروفلوکساسین		۵	۱	-	-	۱	۱
جنتامایسین		-	-	۲	۲	-	-

*غلظت بیشتر از ۶۰۰ میکروگرم در میلی لیتر آزمایش نگردید .

همچنین در غلظت ۱۵۰ µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس و استاف ارئوس و در غلظت ۱۲۵ µg/ml بر اشرشیاکلی اثر باکتریواستاتیک داشت .اثر MBC این عصاره در غلظت ۷۸ µg/ml بر باسیلوس سروس و در غلظت ۳۰µg/ ml بر انتروکک فکالیس و در غلظت۱۵۰µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس مشاهده شد. در روش DD قطرهاله عدم رشد اطراف دیسک عصاره برای استاف ارئوس ۱۲ mm ، استاف اپیدرمیدیس ۱۰ mm، انتروکک فکالیس ۸ mm ، اشرشیاکلی، سودوموناس وباسیلوس سروس ۱۱ mm بود (جدول ۳، ۴).

جدول ۳ : متوسط (n=3) قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک عصاره های گیاهی و کنترل آنتی بیوتیک (برحسب میلیمتر) در کشت کوکسی های گرم مثبت

عصاره	غلظت (میکرو گرم)	استاف ارئوس ATCC 25923	استاف اپیدرمیدیس ATCC 1228	انتروکک فکالیس ATCC 29212
سماق	۲۰۰	۱۲	۱۰	۸
	۱۰۰	۸	۶	۵
همیشه سبز	۲۰۰	<۵	<۵	<۵
	۱۰۰	<۵	<۵	<۵
الف	۲۰۰	<۵	<۵	<۵
	۱۰۰	<۵	<۵	<۵
درمنه	۲۰۰	<۵	<۵	<۵
	۱۰۰	<۵	<۵	<۵
کانامایسین	۳۰	<۵	<۵	<۵
جنتامایسین	۱۰	۲۰	۱۵	۱۱
تتراسایکلین	۳۰	<۵	<۵	<۵

قطر دیک مورد استفاده ۴/۵ میلیمتر بود . هاله کمتر از ۵ میلیمتر منفی فرض میشود .

1. Isosensitest agar
2.National Committee for Clinical Laboratory Standards
3. American Type and Culture Collection

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-05-27]

جدول ۴- متوسط (n=3) قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک عصاره های گیاهی و کنترل آنتی بیوتیک (برحسب میلیمتر) در کشت باسیلهای گرم منفی و گرم مثبت

باکتری / عصاره	غلظت (میکروگرم)	اشرشیاکلی ATCC 25923	سودوموناس ائروژینوزا ATCC 27853	باسیلوس سروس
سماق	۲۰۰	۱۱	۱۱	۱۱
	۱۰۰	<۵	۶	۷
همیشه سبز	۲۰۰	<۵	<۵	<۵
	۱۰۰	<۵	<۵	<۵
الف	۲۰۰	<۵	<۵	۸
	۱۰۰	<۵	<۵	۶
درمنه	۲۰۰	۶	<۵	۱۰
	۱۰۰	<۵	<۵	۶
کانامایسین	۳۰	<۵	<۵	۳۰
جنتامایسین	۱۰	۱۸	۲۰	۲۸
تتراسایکلین	۳۰	۱۸	<۵	۲۵

قطر دیک مورد استفاده ۴/۵ میلیمتر بود . هاله کمتر از ۵ میلیمتر منفی فرض میشود .

عصاره گیاه الف ، در غلظت پائین ۴۰ µg/ml بر باسیلوس سروس هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال داشت (جدول ۱، ۲). در غلظت ۶۰۰µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس و اشرشیاکلی اثر باکتریوسیدال نشان داد؛ ولی اثر باکتریوسیدال عصاره فوق بر باکتریهای ذکر شده در غلظت مورد آزمایش مشاهده نگردید .بجز برای باسیلوس سروس که در غلظت g/ml µ ۱۵۰ اثر باکتریوسیدال مشاهده گردید. در روش DD هم قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک ، برای باسیلوس سروس ۸mm بود که تایید کننده نتیجه آزمایشات MIC و MBC عصاره الف بر باسیلوس سروس می باشد (جدول ۳، ۴).

عصاره جوشن در غلظت۴۰ µg/ml بر باسیلوس سروس و در غلظت۱۵۰µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس و انتروکک فکالیس اثر باکتریواستاتیکی نشان داد (جدول ۱، ۲). اثر باکتریو سیدال این عصاره هم بر باسیلوس سرووس در غلظت ۱۵۰ µg/ml و هم بر استاف اپیدرمیدیس و انتروکک فکالیس در غلظت ۶۰۰ µ/ml مشاهده گردید. قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک این عصاره برای استاف ارئوس ۶ mm و استاف اپیدرمیدیس ۸mm ، استرپ فکالیس ۹mm ، اشرشیاکلی mm ۶ و باسیلوس سروس ۱۰mm بود (جدول ۳، ۴).

عصاره گیاه همیشه سبز در غلظت ۶۰۰µg/ml بر استاف اپیدرمیدیس ، انتروکک فکالیس و باسیلوس سروس اثر باکتریواستاتیک و در همین غلظت بر استاف اپیدرمیدیس و انتروکک فکالیس نیز اثر باکتریوسیدال داشت (جدول ۱، ۲)

بحث

عصاره سماق لری در غلظت بسیار پائین بر رشد باسیلوس سروس و انتروکک فکالیس اثر مهار کنندگی و کشندگی داشت که نشان دهنده اثر آنتی باکتریال قوی این عصاره بر این دو باکتری گرم مثبت و احتمالا سایر خانواده های باکتریهای گرم مثبت می باشد . عصاره سماق بر استاف اپیدرمیدیس هم اثر باکتریوسیدال و هم باکتریواستاتیک داشت که اعداد نزدیک بهم MBC و MIC نیز نشاندهنده اثر قوی باکتریوسیدال عصاره این گیاه بر این باکتریهاست . به طور کلی می توان نتیجه گرفت که احتمالا اثرات آنتی باکتریال عصاره سماق لری بر کوکسی ها و باسیلهای گرم مثبت نسبت به باسیلهای گرم منفی بیشتر است .

عصاره همیشه سبز در غلظت بالا بر استاف اپیدرمیدیس و انتروکک فکالیس اثر باکتریواستاتیک داشت . این موضوع شاید نشان دهنده این است که عصاره خام این گیاه اثرات آنتی باکتریال قوی ندارد و جهت رسیدن به اطمینان باید مواد خالص تر را از عصاره استخراج و بررسی کرد . عصاره الف در غلظت پائین بر انتروکک فکالیس موثر بود و نشاندهنده اثر قوی آنتی باکتریال این عصاره بر انتروکک فکالیس و احتمالا خانواده باکتریهای استرپتوکوکا[1] و انترکوک ها می باشد . در مورد باسیلوس سروس عصاره الف اثر باکتریوسیدال داشت و به طور کلی عصاره الف بر باکتریهای گرم مثبت موثرتر بود در حالیکه بر باسیلهای گرم منفی اثر کمتری داشت . عصاره گیاه جوشن در غلظت پائین بر باسیلوس سروس اثر باکتریواستاتیکی نشان داد که نشاندهنده اثر آنتی باکتریال این عصاره بر باسیلهای گرم مثبت است .

در بررسی مطالعات گذشته ، گزارشی از اثر آنتی باکتریال عصاره سماق و همیشه سبز ملاحظه نشده است . در مطالعه ایی

1. Strewptococui Entero cocci

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-05-27]

که در کره بر روی گیاه (Artemisia Princeps) صورت گرفته است تاناپارتولیدهای (tanapartholides) استخراجی از این گیاه توانسته است جلو رشد باکتریهائی که اسیدلاکتیک تولید نمی کنند مانند کلستریدیوم پرفرنژرز ، باکتروئیدس فراژیلیس و استافیلوکک ارئوس را بگیرد؛ در حالیکه بر رشد باکتریهای مانند اشرشیاکلی وبیفیدوباکتریوم اثر ضعیفی داشته است (۷) . در مطالعه دیگری استخراج عصاره از ریشه گیاه الف (Daphne gnidium) اثر آنتی باکتریایی بر اشرشیاکلی و باسیلوس لنتوس (B. lentus) مشاهده شده است اما این اثر بر قارچها مشاهده نشده است (۸).

در پایان می توان نتیجه گیری نمود که از عصاره سماق می توان در صنایع غذائی بعنوان محافظت کننده استفاده نمود. همچنین اثرات آنتی باکتریال این عصاره بر باکتری مقاوم انتروکک فکالیس را نیز بایستی مورد بررسی و آزمایش بالینی قرار داد تا بتوان در درمان عفونتهای این باکتری مورد استفاده قرار گیرد .

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری خانمها مهین بهزادی، دکتر آرمیتی روناسی و دکتر شیرین بخشی تشکر و قدردانی می گردد.

References

۱- زمان، م: گیاه دارویی، روشهای کشت و برداشت، تهران، انتشارات ققنوس، ۱۳۷۳، صص ۵-۳

۲- شفیع زاده، ف: گیاهان دارویی لرستان، خرم آباد، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی لرستان، موسسه فرهنگی انتشاراتی حیان، صص ۸۲

۳- دیابتی، ب: تحقیقات گیاهان دارویی، تهران، انتشارات موسسه جنگلها و مراتع، جلد (۱)، ۱۳۷۷، صص: ۱۸-۱۴

۴- بخشی، ش: بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره گیاهان الف و جوشن بر روی تعدادی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی. پایان نامه برای کسب درجه دکترای پزشکی دانشگاه علوم پزشکی لرستان سال ۱۳۸۲

۵- رناسی، آ: بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره گیاهان سماق و همیشه سبز بر روی تعدادی از باکتریهای گرم مثبت و منفی. پایان نامه برای کسب درجه دکترای پزشکی دانشگاه علوم پزشکی لرستان سال ۱۳۸۲

6. Mahon C R, Manoselis G, Textbook of Diagnostic Microbiology, Chapter 3, 2nd edition WB. Saunders Company, 2000; PP: 62-95
7. Moellering RC. Antibbiiotic resistance: lessons for the future. Clin Infect Dis1998; 27: S 135-140
8. Cohen ML Changing patterns of infectious disease. Nature, 2000; 406: 762-767
9. Cho. SH, Na YE, Ahn YJ. Growth-inhibition effects of seco– tanapartholides identified from Artemisia princeps var: orientalis whole plant on human intestinal bacteria. J Appl Microbiol, 2003; 95: 7-12
10. Cottiglia F, Loy G, Gara D, et al. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoides from stem of Daphne gnidium L. Phytomedicine, 2001; 8: 302-305

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-05-27]