

فصلنامه علمی - پژوهشی طب مکمل، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷

تأثیر عصاره الکلی گیاهان بارهنگ و برگ‌بو بر خواص ضد باکتری برخی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی

شیوا میرکلانتری*^۱، کوثر فاتح^۲، اعظم فتاحی^۴

۱. استادیار، دکترای میکروبی‌شناسی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.
۲. استادیار، دکترای میکروبی‌شناسی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۳. دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.
۴. استادیار، مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۹

چکیده

مقدمه: خواص ضد میکروبی روغن‌ها و عصاره‌های گیاهی بر میکروارگانیسم‌های مختلف در مناطق مختلف گزارش شده است. در این تحقیق، تأثیر عصاره گیاهان برگ‌بو و بارهنگ - جمع‌آوری شده از استان سمنان - بر تعدادی از باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه از نوع تجربی است. عصاره الکلی گیاهان بارهنگ و برگ‌بو به روش سوکسله تهیه شد. اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار در چاهک بررسی شد. میانگین هاله عدم رشد پس از سه بار آزمون، اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی آن به روش رقیق‌سازی در چاهک بررسی شد. از نرم افزار Spss جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. نتایج به صورت فراوانی و درصد و میانگین و انحراف معیار بیان شده‌اند.

یافته‌ها: بالاترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بارهنگ بر باکتری‌های گرم مثبت انتروکوک فاسیوم و استافیلوکوک اورئوس بود و عصاره برگ‌بو بیشترین تأثیر را بر باکتری استافیلوکوک اورئوس داشت. کمترین غلظت عصاره الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ که باعث توقف رشد استافیلوکوک اورئوس شد برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که قطر هاله‌ای برابر با ۱۳ میلی‌متر را ایجاد کرد.

نتیجه‌گیری: بیشترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره بارهنگ علیه استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فاسیوم بود و بیشترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ‌بو علیه باکتری استافیلوکوک اورئوس بود.

کلیدواژه‌ها: بارهنگ؛ برگ‌بو؛ اشرشیاکلی؛ کلبسیلا پنومونیه؛ استافیلوکوک اورئوس؛ انتروکوک فاسیوم؛ سوکسله؛ عصاره الکلی گیاهی.

*نویسنده مسئول: E.mail: shivamirkalantari@yahoo.com

مقدمه

کشورهای توسعه یافته نیز تقاضا برای داروهای گیاهی و محصولات پزشکی گیاهی در حال افزایش است. لذا یافتن ماده ضد میکروبی جدید با منشأ گیاهی از اهمیت خاصی برخوردار است. گیاه برگ‌بو با اسم لاتین *Laurus nobilis* متعلق به جنس *Laurus* و خانواده *Lauraceae* بوده و بومی نواحی مدیترانه‌ای است. ظاهر آن به شکل درختچه یا درخت با طول ۱۰ تا ۱۸ متر است. در تمام فصول سال سبز است. در گذشته از خردشده آن برای جلوگیری از بروز عفونت‌های موضعی و درمان آن‌ها استفاده می‌شد. راموس و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۱۲ استفاده از روغن برگ‌بو به عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی را کارآمد گزارش کردند (۱۰). در حال حاضر از روغن برگ‌بو به عنوان ماده نگه‌دارنده و ادویه در صنایع غذایی از جمله تهیه ترشی و خیارشور استفاده می‌شود. گیاه بارهنگ با نام علمی *Plantago major* L از تیره *Plantaginaceae* است که به صورت علفی و پایاست، ریشه‌ای کوتاه دارد، مخصوص مناطق پرآب است و در بیشتر مناطق ایران می‌روید. برگ‌های پهن و طوقه‌ای با دم‌برگ‌های بلند و گل‌آذین خوشه‌ای دارد (۱۱-۱۳). در طب قدیم برگ تازه بارهنگ در درمان و التیام زخم‌ها مؤثر بود. این گیاه نه تنها از آلودگی زخم‌ها محافظت می‌کند بلکه به سرعت در درمان هم کمک می‌کند. اثر ضدقارچی این گیاه در سال ۲۰۰۸ به وسیله استانی ساولجویک و همکاران گزارش شد (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر، اثربخشی این عصاره بر کلونیزاسیون پلاک و پاتوژن‌های پری‌دونتال بررسی شد (۱۵). خواص ضد میکروبی روغن‌ها و عصاره‌ها بر میکروارگانیسم‌های مختلف در مناطق مختلف گزارش شده است. با توجه به سابقه استفاده درمانی از این گیاهان در گذشته، هدف این تحقیق بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ (جمع‌آوری شده از پوشش بومی استان سمنان) بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی با دو روش میکروتیتراسیون و انتشار از چاهک است.

بررسی آثار به‌جامانده از دوران باستان نشان‌دهنده قدمت طولانی استفاده از گیاهان به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌هاست. انسان‌های اولیه با مصرف گیاهان به‌عنوان غذا متوجه آثار ویژه درمانی و سمی آن‌ها شدند و این اطلاعات نسل به نسل منتقل شد تا اینکه در صد سال پیش گیاهان دارویی به‌عنوان شاخه‌ای از طب سنتی در درمان بیماری‌ها معرفی شدند و از آن زمان به بعد در بیشتر کشورهای جهان از این گیاهان در درمان بیماری‌ها استفاده شد. با پیدایش داروهای شیمیایی و صنعتی توجه محققان به این فراورده‌ها معطوف شد و به تدریج نقش داروهای گیاهی کم‌رنگ شد. البته داروهای شیمیایی و سنتزی به‌رغم اثربخشی محدود در درمان، دارای عوارض بوده و در ایجاد مقاومت دارویی دخیل هستند (۱-۵). یکی از مهم‌ترین چالش‌های درمان، مقابله با بیماری‌های عفونی به دلیل شیوع و گسترش بالای آن‌هاست. پس از شناسایی آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه ۴۰ میلادی و گسترش استفاده از آن‌ها در درمان، هر روز آنتی‌بیوتیکی جدید برای درمان عفونت‌ها ارائه شد. استفاده بی‌رویه از این داروهای ضد میکروبی باعث افزایش مقاومت دارویی علیه آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت در اکثر باکتری‌ها شد (۶ و ۷). بنابراین دیری نپایید که عوارض و ناکارآمدی این داروها دانشمندان را مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها کرد. امروزه اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها به‌خوبی شناخته شده و آثار ضدقارچی و ضدباکتریایی بسیاری از آن‌ها نیز به اثبات رسیده است. در ایران به دلیل تنوع آب و هوایی، بین ۶ تا ۸ هزار گونه گیاهی می‌روید که معادل تقریباً ۶۰٪ گونه‌های گیاهی سراسر دنیاست. همین موضوع یکی از دلایل استفاده فزاینده از گیاهان به‌عنوان مواد طبیعی کم‌خطر، در دسترس و ارزان قیمت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های صنعتی در درمان عفونت‌های باکتریال است (۵، ۸-۱۰). داروهای گیاهی نزد مردم ایران مقبولیت دارد. در حال حاضر نه تنها در ایران بلکه در

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه علوم پزشکی سمنان انجام شد.

تهیه سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه از باکتری‌های گرم مثبت انتروکوک فاسیوم و استافیلوکوک اورئوس و باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی استفاده شد.

تهیه عصاره الکلی گیاهان بارهنگ و برگ‌بو

برگ‌های جوان گیاهان برگ‌بو و بارهنگ از باغچه جهاد کشاورزی شهرستان سمنان تهیه و با دستگاه خردکننده کاملاً آسیاب شد. از ۶۰ گرم پودر برگ آسیاب شده استفاده شد. با استفاده از روش سوکسیله عصاره‌گیری شد. شصت گرم پودر برگ گیاه بارهنگ در ۳۰۰ میلی لیتر الکل اتانول ۷۰٪ در داخل بالن قرار داده شد و در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. اولین قطره عصاره که ماده‌ای سبزرنگ بود در ۳۵ دقیقه به دست آمد. سپس برای عصاره‌گیری کامل، دستگاه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. از گیاه برگ‌بو نیز به همین ترتیب عصاره‌گیری شد با این تفاوت که به دلیل خشک بودن برگ‌بو در موقع آسیاب، عصاره بیشتری به دست آمد. عصاره خالص و بدون حلال با استفاده از دستگاه آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک هفته تهیه شد.

بررسی اثر ضدباکتریال

جهت بررسی آثار ضد میکروبی از روش انتشار در آگار استفاده شد. از روش میکروداپلوشن جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

روش انتشار در ژل: برای تست انتشار در آگار از باکتری‌های موردنظر، از نیم مک‌فارلند $\times 108 \text{ cfu/ml}$ 5/1

سوسپانسیون میکروبی در محیط نوترینت‌براث استفاده شد. سپس برای کشت چمنی از ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. با استفاده از پیت پاستور ۵

چاهک به قطر ۶ میلی لیتر و به فاصله ۲ سانتی‌متر در سطح پلیت ایجاد شد. رقت‌های ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره برگ‌بو و بارهنگ، در ۳ حلال دی‌متیل سولفوکساید، متانول و اتانول تهیه شد. عصاره‌های موردنظر در حلال‌های مختلف به روش انتشار از چاهک در آگار بررسی شدند. آثار ضدباکتریایی عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت شامل انتروکوک فاسیوم و استافیلوکوک اورئوس و باکتری‌های گرم منفی کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی مطالعه شد (۱۶).

جهت مقایسه نتایج آزمون حساسیت باکتریایی از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۶). غلظت‌های مختلف عصاره، در چاهک‌های کنده شده بر روی محیط مولر هینتون ریخته شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. ناحیه عدم رشد، پس از انکوبه‌گذاری با استفاده از خط‌کش با دقت اندازه‌گیری شد و هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر گزارش شد. جهت حذف اثر ضدباکتریایی حلال، از کنترل منفی (حلال به تنهایی) استفاده شد و قطر هاله عدم رشد عصاره از همان حلال کسر شد (۱۶).

ارزیابی MIC و MBC عصاره الکلی گیاهان

برای ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی رشد عصاره‌ها از روش براث میکروداپلوشن و از پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل استفاده شد و ایجاد رقت متوالی از عصاره‌ها به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون براث و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت 105 cfu/ml در هر چاهک و انکوبه کردن آن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد (۱۷). برای هر باکتری از محیط و سوسپانسیون باکتری بدون عصاره به عنوان کنترل منفی در یک چاهک و برای مقایسه قدرت مهارکنندگی آن با عصاره‌ها از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین استفاده شد. عصاره الکلی گیاهان استوک با غلظت ۴۰۰ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شد. دوپست میکرولیتر از این

کرد. هاله عدم رشد انتروکوک فاسیوم در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های برگ‌بو و بارهنگ، به ترتیب، برابر با ۱۴ و ۱۲ میلی‌متر بود. چاهک‌های کنترل، اثر مهارى بر باکتری‌های مورد آزمایش نداشتند.

در بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی برگ‌بو و بارهنگ به روش میکروتیتراسیون مشخص شد این عصاره‌ها در محیط مایع نیز آثار مهارکنندگی رشد دارند؛ نتایج به دست آمده با کشت محتویات چاهک‌های حاوی رقت‌های مذکور در یک محیط مغذی نوترینت آگار تأیید شد.

MIC و MBC به‌عنوان کمترین غلظت عصاره‌های برگ‌بو و بارهنگ که باعث توقف رشد و کشندگی باکتری می‌شوند، نیز بررسی شدند (جدول شماره ۲).

MIC عصاره گیاهی برگ‌بو و بارهنگ بر روی استافیلوکوک اورئوس ۱۲/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MIC 25 و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب با عصاره الکلی گیاهان بارهنگ و برگ‌بو علیه انتروکوک فاسیوم به دست آمد. MIC به‌دست‌آمده از عصاره گیاهان برگ‌بو و بارهنگ علیه کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. میزان MBC حداقل غلظت عصاره - که از رشد ۹۹/۹٪ باکتری‌ها جلوگیری می‌کند - جهت عصاره الکلی برگ‌بو علیه باکتری‌های اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و انتروکوک فاسیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. کمترین غلظت MBC متعلق به عصاره الکلی برگ‌بو علیه استافیلوکوک اورئوس با مقدار ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MBC به‌دست‌آمده از واکنش باکتری‌های اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه در برابر عصاره بارهنگ به‌مانند عصاره برگ‌بو ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود در صورتی که MBC انتروکوک فاسیوم و استافیلوکوک اورئوس در برابر عصاره گیاهی بارهنگ ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

بحث

مقاومت دارویی چندگانه در بین میکروارگانیسم‌ها به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است. در حال حاضر، شرکت‌های داروسازی در جست‌وجوی

غلظت در چاهک اول ریخته شد. در هر کدام از ۸ چاهک بعدی ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون‌براث ریخته شد و سپس با روش رقیق‌سازی متوالی، رقت‌های ۱/۲ از غلظت اولیه تهیه شد. تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش مشاهده‌ای بررسی شد. آخرین لوله‌ای که هیچ کدورت رشدی در آن دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی رشد در نظر گرفته شد (۱۸).

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها، تمام لوله‌های فاقد کدورت رشد بر روی پلیت نوترینت آگار کشت داده شدند. به این ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از هر چاهک فاقد رشد باکتری برداشته شد و بر روی پلیت نوترینت آگار به روش پخش بر روی پلیت کشت داده شد. سپس جهت اطمینان از رشد یا عدم رشد باکتری‌ها، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. آخرین غلظت از عصاره‌ها که قادر به از بین بردن ۹۹/۹٪ باکتری‌ها بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شد. از نرم افزار Spss جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. نتایج به صورت فراوانی و درصد و میانگین و انحراف معیار بیان شده اند.

یافته‌ها

آثار ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ به روش میکروتیتراسیون و انتشار در آگار، علیه ۴ باکتری مختلف بعد از ۲۴ ساعت بررسی شد.

نتایج تست‌های انتشار از چاهک (جدول شماره ۱) و تأثیر عصاره الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌ها، نشان داد بالاترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بارهنگ بر باکتری‌های گرم مثبت انتروکوک فاسیوم و استافیلوکوک اورئوس بود و عصاره برگ‌بو بیشترین تأثیر را بر باکتری استافیلوکوک اورئوس داشت. این در حالی است که کمترین غلظت استافیلوکوک اورئوس که نسبت به عصاره الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ حساسیت نشان داد برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که قطر هاله‌ای برابر با ۱۳ میلی‌متر را ایجاد

اثر ضدباکتریال عصاره برگ باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اثر ژینوژا بود. در این بین، نتایج ضدباکتریال عصاره‌های منطقه فسا از عصاره‌های منطقه سپیدان بهتر بود (۲۲). در مطالعه دالیگو و همکاران و نیز حسینی و همکاران عصاره برگ‌بو بیشترین تأثیر را بر باکتری انتروباکتر نشان داد (۲۳). در مطالعه ملندز و همکاران برگ‌بو نتوانست رشد هیچ‌یک از باکتری‌ها از جمله استافیلوکوک اورئوس را متوقف کند (۲۴). در صورتی که در مطالعه حاضر عصاره گیاه برگ‌بو اثر خوبی را نسبت به باکتری مذکور نشان داد؛ می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت ضدباکتریایی گیاهان تحت تأثیر عواملی همچون میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه، بارندگی، ارتفاع و دماست.

برگ‌بو گیاهی اروماتیکی است که از زمان‌های قدیم به‌عنوان ادویه در غذاهای مدیترانه‌ای و جزء داروهای سنتی برای درمان چندین بیماری عفونی استفاده می‌شد (۲۴).

عصاره الکلی برگ‌بو به روش انتشار در آگار، اثر ضدباکتریایی کمتری در مقایسه با عصاره الکلی گیاه بارهنگ دارد و بیشترین تأثیر را بر استافیلوکوک اورئوس دارد.

طبق بررسی‌ها تأثیر ضدباکتریایی اکثر عصاره‌های گیاهی با کم شدن غلظت عصاره کاهش می‌یابد؛ به طوری که عصاره با غلظت بالاتر اثر ضد میکروبی بارزتری دارد. در تحقیق شهیدی و همکاران گزارش شد که با رقیق شدن عصاره اثر ضدباکتریایی آن کاهش می‌یابد (۲۵). در مطالعه حاضر نیز تهیه رقت‌های مختلف از عصاره الکلی گیاهان برگ‌بو و بارهنگ و بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها بر سویه‌های مختلف باکتریایی نشان داد هرچه رقت عصاره‌ها بیشتر می‌شود میزان حساسیت باکتری‌ها به عصاره‌ها کاهش می‌یابد. حلال عصاره (اتانول) که به‌عنوان شاهد در روش دیسک و چاهک استفاده شد بر هیچ‌یک از باکتری‌ها خاصیت ضد میکروبی نداشت.

داروهایی از منابع دیگر حیوانی و گیاهی هستند. گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی ضدباکتریایی و نیز اثر سمیت پایین در مرکز توجه محققان قرار گرفته‌اند (۳، ۲).

کارآمدی و تأثیر ضدباکتریایی گونه‌های گیاهی بر اساس ناحیه جغرافیایی گیاه، قسمت مورد استفاده گیاه و نیز روش استخراج، بسیار متفاوت و متنوع است. از بارهنگ در بین عوام به صورت گسترده برای درمان زخم باز استفاده می‌شده است. و از دیرباز استفاده از آن جهت جلوگیری از بروز عفونت رایج بوده است. در مطالعه استانی ساولجوبیک و همکاران فعالیت ضدباکتریایی عصاره الکلی برگ‌های گیاه علیه سویه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها بررسی شد؛ نتایج حاکی از اثربخشی بر ساکاروماپسس سرویسیه بود (۱۳). در مطالعه حاضر، تأثیر عصاره الکلی برگ‌های بارهنگ بر سویه‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوک اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و انتروکوک فاسیوم بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره بارهنگ اثر ضدباکتریال خوبی در محیط آزمایشگاه علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فاسیوم داشت و با تشکیل هاله بر روی محیط کشت از رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فاسیوم جلوگیری کرد. همچنان که در مطالعات قبلی نیز مشخص شد بارهنگ اثر خوبی بر دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت مختلف دارد (۱۹). عصاره الکلی گیاه بارهنگ اثر ضد میکروبی مشابهی با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین داشت. کلبسیلا پنومونیه در هر ۳ بار آزمایش هیچ‌گونه حساسیتی نسبت به عصاره الکلی بارهنگ نشان نداد. دولگر و همکاران و نیز چاینگ و همکاران اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بارهنگ را بر باکتری‌های مختلف بررسی کردند. هر دو مطالعه، اثربخشی قابل توجه عصاره برگ باکتری استافیلوکوک اورئوس را گزارش کردند (۲۰، ۲۱). چندین مطالعه در مورد تأثیر عصاره گیاه برگ‌بو بر باکتری‌های مختلف انجام شده است. در مطالعه ذاکرین و همکاران تأثیر عصاره گیاه برگ‌بوی منطقه فسا و سپیدان بر تعدادی باکتری بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده

با توجه به تأثیر بیشتر عصاره‌های الکلی بارهنگ و برگ‌بو بر باکتری‌های گرم مثبت می‌توان این‌گونه احتمال داد که هدف عملکرد عصاره‌های این گیاهان دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت است و با توجه به اینکه این عصاره‌ها ترکیبات فنولیک دارند می‌توان تأثیر احتمالی این داروها را بر غشای سلولی و سطح دیواره سلولی در نظر گرفت که باعث آسیب ساختاری و عملکردی سلول باکتریایی می‌شود (۲۶، ۲۷).

در این مطالعه باکتری‌های گرم مثبت و منفی نسبت به عصاره‌های گیاهی حساس بودند ولی باکتری‌های گرم منفی به دلیل ماهیت غشاء سلولی که به علت داشتن لیپوپلی ساکارید دارای سطح هیدروفوبیک است مانع تجمع ترکیبات و عصاره‌های گیاهی در غشای سلولی شدند و نفوذ کمتری داشتند (۲۸-۳۰). بنابراین به تحقیقات بیشتری نیاز است تا ترکیبات این عصاره‌های گیاهی به صورت خالص تهیه و آثار ضدباکتریایی هر کدام از ترکیبات مشخص شود تا ترکیب موردنظر در صنایع دارویی استفاده شود.

نتیجه‌گیری

دو عصاره الکلی برگ‌بو و بارهنگ آثار ضدباکتریایی متفاوتی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارند. نتایج، نشان‌دهنده اثربخشی این عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس و انتروکوک فاسیوم است که بیانگر امکان انتخاب آن‌ها در درمان عفونت‌هاست. بنابراین جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات مؤثر گیاه و بررسی دقیق‌تر تأثیر آن‌ها بر تعداد بیشتری از سویه‌های باکتریایی و بررسی سمیت سلولی و بافتی گیاهان می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری را در این زمینه فراهم کند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با شماره ۱۱۰۸ در دانشگاه علوم پزشکی سمنان انجام شد. نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به‌خاطر حمایت مالی این طرح تشکر می‌کنند.

جدول شماره (۱) میانگین و انحراف معیار (SD) قطر هاله عدم رشد (mm) عصاره‌های الكلى گیاه برگ‌بو و بارهنگ با حلال اتانول ۷۰٪ علیه استافیلوکوک اوروئوس، انتروکوک فاسیوم، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی

عصاره mg/ml	اشرشیاکلی	کلبسیلا پنومونیه	انتروکوک فاسیوم	استافیلوکوک اوروئوس
۴۰۰ برگ‌بو	۰±۱۳/۵	۰±۱۲/۶	۰±۱۵/۱	۱±۱۸
۴۰۰ بارهنگ	۰±۱۲/۵	R	۰±۱۵/۳	۱۷/۱±۷
۲۰۰ برگ‌بو	۰±۱۱/۳	۰±۱۱/۴	۰±۱۴/۵	۰±۱۵/۳
۲۰۰ بارهنگ	۰±۱۰/۳	R	۰±۱۲/۴	۰±۱۶/۵
۱۰۰ برگ‌بو	۰±۱۰/۱	۰±۹/۵	۰±۱۴/۰	۰±۱۳/۰
۱۰۰ بارهنگ	R	R	۰±۱۲/۵	±۱۳-۰/۱
۵۰ برگ‌بو	R	R	۱۲/۰±۵/۱	۰±۹/۰
۵۰ بارهنگ	R	R	۰±۱۱/۱	R
۲۵ برگ‌بو	R	R	۰±۱۰/۲	۰±۹/۵
۲۵ بارهنگ	R	R	R	R
۱۲/۵ برگ‌بو	R	R	R	R
۱۲/۵ بارهنگ	R	R	R	R
جنتامایسین	۱±۱۵/۱	۰±۱۳/۱	۰±۱۹/۱	۰±۱۸/۵

جدول شماره (۲) نتایج MIC و MBC به دست آمده از تأثیر عصارة الكلى گیاهان برگ‌بو و بارهنگ علیه باکتری‌ها به روش میکروتیتراسیون

برگ‌بو		بارهنگ		عصاره
MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	غلظت عصاره
۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۵۰	اشرشیاکلی
۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۵۰	کلبسیلا پنومونیه
۱۰۰	۵۰	۵۰	۲۵	انتروکوک فاسیوم
۲۵	۱۲/۵	۵۰	۱۲/۵	استافیلوکوک اوروئوس

References

- Ekren S, Yerlikaya O, Tokul HE, Akpınar A, Accedil M. Chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant capacity of some medicinal and aromatic plant extracts. *African Journal of Microbiology Research*. 2013;7(5):383-8.
- Benli M, Güney K, Bingöl Ü, Geven F. Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African journal of biotechnology*. 2007;6(15):1774-78.
- Lee JH, Cho S, Paik HD, Choi CW, Nam KT, Hwang SG, et al. Investigation on antibacterial and antioxidant activities, phenolic and flavonoid contents of some thai edible plants as an alternative for antibiotics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2014;27(10):1461-68.
- Fabricant DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*. 2001;109 (1):69-75.
- Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, et al. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA*. 1998;280(18):1569-75.
- Jazayeri Moghadas A, Kalantari F, Sarfi M, Shahhoseini S, Mirkalantari S. et al. Evaluation of Virulence Factors and Antibiotic Resistance Patterns in Clinical Urine Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Semnan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2018 ;11(7):e63637. doi: 10.5812/jjm.63637.
- Mirkalantari S, Jazayeri Moghadas A. Diversity Determination of CTX-M1 Producing *Klebsiella pneumoniae* Using Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis, Semnan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2018 ;11(7):e63131. doi: 10.5812/jjm.63131.
- Metiner K, Ozkan O, Ak S. Antibacterial effects of ethanol and acetone extract of *Plantago major* L. on Gram positive and Gram negative bacteria. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2012;18(3):503-5.
- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):564-82.
- Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 2000;88(2):308-16.
- Ramos C, Teixeira B, Batista I, Matos O, Serrano C, Neng NR, et al. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research*. 2012;26(6):518-29.
- Karima S, Farida S, Mohamed Z. Antioxident and antimicrobial

- activities of *Plantago major*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015;7(5):58-64.
13. Millezi AF, Caixeta DS, Rossoni DF, Cardoso MdG, Piccoli RH. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils thymus vulgaris, cymbopogon citratus and laurus nobilis against five important foodborne pathogens. Food Science and Technology (Campinas). 2012;32(1):167-72.
 14. Stanisavljević IT, Stojičević SS, Veličković DT, Lazić ML, Veljković VB. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from plantain (*Plantago major* L.) leaves. Separation Science and Technology. 2008;43(14):3652-62.
 15. Sharma H, Yunus GY, Mohapatra AK, Kulshrestha R, Agrawal R, Kalra M. Antimicrobial efficacy of three medicinal plants *Glycyrrhiza glabra*, *Ficus religiosa*, and *Plantago major* on inhibiting primary plaque colonizers and periodontal pathogens: An in vitro study. Indian Journal of Dental Research. 2016;27(2):200-4.
 16. Karman I, Sahin F, Gulluce M, Oqeutcu H, Sengul M, Adiguzel A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. Journal of Ethnopharmacology. 2003;85:237-235
 17. Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. Food Microbiology. 2001;18(3):261-8.
 18. Rasoul N, Moghaddam M. Investigation of antibacterial properties of ethanolic extracts of four native medicinal plants of Ardebil province by two methods of disk diffusion and well diffusion. Research on medicine. 2016;40 (3):149-54.[persian]
 19. Sharifa A, Neoh Y, Iswadi M, Khairul O, Abdul Halim M, Jamaludin M, et al. Effects of methanol, ethanol and aqueous extract of *Plantago major* on gram positive bacteria, gram negative bacteria and yeast. Annals of Microscopy. 2008;8:42-4.
 20. Dulger B, Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. Asian Journal of Plant Sciences. 2004;3(1):104-7.
 21. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Ng LT, Lin CC. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. Antiviral research. 2002;55(1):53-62.
 22. Zakerin A, Ahmadi E, Fasihi-Ramandi M, Abdollahi S, Molazadeh A, Jafari S, et al. The Effects of Ecologic Condition on Antimicrobial Activity of Endemic Herbal Extracts in Fars Province. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2015; 5 (1):111-19.[persian]

23. Dadalioglu I, Evrendilek GA. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(26):8255-60.
24. Ouibrahim A, Tlili-Ait-kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi AG, Djebar MR. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*. 2013;7(42):4968-73.
25. Bonjar S. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;94(2-3):301-5.
26. Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y, Li X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 2008;106(2):804-10.
27. Karakaş FP, Yildirim A, Türker A. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkish Journal of Biology*. 2012;36(6):641-52.
28. Bendif H, Boudjeniba M, Djamel Miara M, Biqiku L, Bramucci M, Caprioli G, et al. *Rosmarinus eriocalyx*: An alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*. 2017;218:78-88.
29. Dadalioglu I, Evrendilek GA. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(26):8255-60.
30. Briskin DP. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiology*. 2000;124(2):507-14.

The Effect of Plant Extracts of *Plantago major* and *Laurus nobilis* on the Antimicrobial Properties of some of Gram-positive and Gram-negative Bacteria

Mirkalantari Sh^{*1,2}, Fateh K³, Azam Fatahi⁴

1. Assistant professor, PhD of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
2. Assistant professor, PhD of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Student of Bachelor of Laboratory Medicine, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
4. Assistant Professor, Center for Research and Training in Skin Disease and Leprosy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 15 April, 2018; Accepted: 31 October, 2018

Abstract

Introduction: Antimicrobial activity of oils, plant extracts on various microorganisms has been reported from different areas. In the present study, we tried to exam the activity of *Plantago major* and *Laurus nobilis* extracts collected from Semnan province on some of gram-positive and gram-negative bacteria.

Methods: This is an experimental study. *Plantago major* and *Laurus nobilis* extracts were prepared by soxhlet method. Antibacterial activity was evaluated by agar well diffusion. Average of inhibition zone diameter was recorded after triplicate repeat. Microplate titration was used for investigation of Minimum inhibitory concentration and Minimum bactericidal concentration. Spss software used for data analysis. Data are presented as frequency and percentage and mean and standard deviation .

Results: The highest antibacterial activity of plant extract on gram positive bacteria was on *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus*, and *Laurus nobilis* extract had the most effect on *Staphylococcus aureus* bacteria. The lowest concentration of alcoholic extract of *Laurus nobilis* and *Plantago* plants that stop the growth of *Staphylococcus aureus* was 100 mg / ml, with a halo diameter of 13 mm.

Conclusion: The most antibacterial activity of plant extract was detected against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* and the highest antibacterial activity of Leaf extract against *Staphylococcus aureus* was obtained.

Keywords: Enterococci, *Staphylococcus aureus*, extract plants, soxhlet, *Klebsiella pneumoniae*, *Plantago major*, *Laurus nobilis*.

*Corresponding author: E.mail: shivamirkalantari@yahoo.com