

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه ریحان بر اشریشیا کلای و سودوموناس آئروژینوزا

محمد داداش‌بیگی^{۱*}، وحید رضاخانی^۲، مروارید پشدار^۲، امیرحسین دارابی^۳، علیرضامسرور^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۴ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۶

چکیده

گسترش روز افزون مقاومت دارویی در بین باکتری‌ها سبب شده است تا توجه بیشتری به یافتن روش‌های پیشگیری از بروز مقاومت و نیز یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف گردد. از آنجایی که سویه‌های بیماری‌زای اشریشیا کلای در بیماری‌های گوارشی انسان و دام حائز اهمیت بسیار است. سودوموناس آئروژینوزا نیز باکتری فرصت‌طلبی است که در انسان و حیوانات باایمنی سرکوب شده و متعاقب سوختگی‌ها و درمان طولانی با آنتی‌بیوتیک‌های باطیف وسیع، عفونت‌های مختلفی را ایجاد می‌کند. گیاه ریحان از منطقه بندر کیشهر استان گیلان جمع‌آوری شده و پس از خشک کردن برگ آن و تهیه عصاره اتانولی و آبی در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌متر در ظروف مخصوص نگهداری گردید. باکتری‌های مورد نظر نیز از نمونه‌های بالینی جدا شده و پس از شناسایی آنها به روش استاندارد، در این غلظت‌ها به روش انتشار دیسک تعیین حساسیت شده و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و ثبت گردید. بر اساس یافته‌های این تحقیق جنتامایسین که بعنوان کنترل بکار گرفته شده بر هر دو باکتری مورد آزمایش در این طرح مؤثرتر از عصاره هانشان داده شد. مؤثرترین رقت برای فعالیت ضد باکتری نسبت به هر دو نوع باکتری اشریشیا کلای و سودوموناس آئروژینوزا رقت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. فعالیت ضد باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه عصاره اتانولی گیاه ریحان نسبت به عصاره آبی بیشتر بوده است.

واژگان کلیدی: عصاره گیاه ریحان، اشریشیا کلای، سودوموناس آئروژینوزا، ضد باکتریایی

مقدمه

بیش از ۵۰ سال است که از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل و درمان بیماری‌های عفونی می‌گذرد، ولی استفاده نادرست و مداوم از این مواد باعث بروز پدیده

مقاومت به آنتی‌بیوتیک و پیدایش سویه‌های مقاوم در باکتری‌ها شده و درمان بیماری‌ها در انسان و دام را با مشکل مواجه کرده است (۹).

گسترش روز افزون مقاومت دارویی در بین باکتری‌ها سبب شده است تا توجه بیشتری به یافتن روش‌های پیشگیری از بروز مقاومت و نیز یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف گردد و برای این منظور گیاهان دارویی مورد

۱- مربی گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت، ایران

۲- دامپزشک بخش خصوصی رشت، رشت، ایران

۳- کارشناس آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت،

رشت، ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: dadashbeigi@iaurasht.ac.ir

ایجاد سرطان می‌شوند، نقش اساسی دارند. گیاه ریحان در جلوگیری از تولید رادیکال آزاد می‌تواند مورد بررسی بیشتری قرار گیرد (۸).

ریحان گیاهی است علفی، یکساله، معطر، دارای ساقه منشعب از قاعده و به ارتفاع ۱۰ تا ۴۵ سانتیمتر که امروزه در غالب نواحی پرورش می‌یابد. برگ‌هایی متقابل، بیضوی نوک تیز با کناره دندانه دار و گل‌هایی معطر به رنگ‌های سفید، گلی و گاهی بنفش و مجتمع به صورت دسته‌های ۴ تا ۶ تایی در طول قسمت انتهایی ساقه دارد.

برگ و سرشاخه های جوان آن به مصرف تغذیه می‌رسد ولی اگر منظور، اسانس گیری از آن باشد، باید کلیه قسمت‌های گیاه تازه را مورد استفاده قرار داد. برای مصارف درمانی، برگ و سرشاخه‌های گلدار به کار می‌رود. از هر ۶۰۰ تا ۱۲۰۰ کیلوگرم ریحان، معادل یک کیلو گرم اسانس به دست می‌آید (۳).

محل اصلی رشد و تکثیر این گیاه نواحی استوایی قاره آفریقا است. امروزه بیشتر در کشورهای حوزه دریای مدیترانه در باغ‌ها و مزارع، کشت می‌شود. بعضی از محققین معتقدند که ریحان، بومی ایران، افغانستان و هند بوده، و از قدیم نیز به پرورش آن در مصر اقدام شده است. این گیاه در اغلب نواحی ایران کشت می‌شود. به علاوه به حالت نیمه وحشی نیز در بعضی نواحی دیده شده است (۵).

این گیاه در نزدیکی باغها که زمین آنها حاصلخیز، پوسیده و سست و محل آن خشک، گرم و آفتابگیر باشد، بهتر رشد می‌کند. قسمت مورد استفاده گیاه، برگ، دانه و سرشاخه های گلدار آن می‌باشد.

برداشت محصول یعنی چیدن سرشاخه های گیاه در فاصله ماه های خرداد تا مرداد می‌تواند انجام گیرد. برای اسانس گیری، قسمت های هوایی گیاه را به حالت تازه مورد استفاده قرار می‌دهند (۵).

برگ گیاه ریحان در دو نوع سبز و بنفش دیده می‌شود که به دلیل وجود آنتوسیانین نمایی بنفش رنگ

توجه خاص قرار دارند، به خصوص گیاهانی که در طب سنتی و متون علمی به اثرات درمانی آنها اشاره شده است و مورد مصرف خوراکی نیز دارند (۱۰).

امروزه باید متناسب با پیشرفت علم و تکنولوژی از گیاهان دارویی بهره گرفت. به طور مثال بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان می‌تواند راه را برای به دست آوردن داروهای ضد باکتریایی گیاهی و جدید هموار سازد (۲).

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها در انسان قدمتی طولانی دارد. تخمین زده می‌شود که بیشتر از ۱۰٪ از هزاران گونه گیاهی شناخته شده، کاربرد دارویی دارند. سازمان جهانی بهداشت (WHO (World Health Organization) برآورد کرده است که حدود ۸۰٪ جمعیت جهان از گیاهانی دارویی برای جنبه‌هایی از مراقبت های بهداشتی خود استفاده می‌کنند (۷).

نظر به اینکه گیاهان دارویی در کشور ما پراکندگی وسیعی دارد، مطالعات روی این گیاهان از نظر خواص ضد میکروبی آنها زمینه مناسبی را فراهم می‌کند که از نتایج این بررسی ها برای جایگزین نمودن داروهای با منشأ طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده نمود و این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آنها گردد (۱۱).

با توجه به موضوع مقاومت‌های میکروبی داروهای ضد باکتریایی معمول و عوارض جانبی سمی کمتر داروهای طبیعی مانند ریحان، امکان کاربرد عصاره اتانولی ریحان در مواجهه با باکتری‌ها در شرایط خارج از بدن (in vitro) ارزشمند به نظر می‌رسد (۱۲). روغن‌های اسانسی و ترکیبات آنها به دلیل سلامت نسبی و عامه پسند بودن، مورد توجه محققین نیز قرار دارد. خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی بسیاری از اسانس‌ها توسط محققین مختلف مطالعه شده است. رادیکال‌های آزاد، در پراکسیداسیون چربی‌ها که موجب تخریب و فساد میکروبی غذا و

فرمول باز آن توسط Van Ramburgh و محققین دیگر و جدا کردن ایزومرهای آن توسط Ohluf و همکاران (۱۹۶۴) صورت گرفته است (۳).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی استخراج شده از برگ گیاه ریحان (۱۹)

درصد	ترکیبات	منوترین‌ها
۱/۱۰	β -Pinene	
۷/۴۷	Cis -Ocimene	
۰/۹۴	Trans -Ocimene	
۰/۹۵	Camphor	
۶۸/۸۱	Eugenol	
۱۳/۲۱	Methyl -Eugenol	
۱/۶۹	Trans -Caryophyllene	سنرکوئی
۴/۲۵	D-Germacrene	ترین‌ها
۰/۸۵	α -Farnese	
۰/۷۳	β - Bisabolene	

اشیریشیاکلای باکتری معمول موجود در دستگاه گوارش پستانداران و پرندگان می باشد و سویه بیماریزای آن در بیماری های گوارشی انسان و دام ها حائز اهمیت بسیار است. این باکتری همچنین عامل بیماری تنفسی در طیور است که قادر است با بروز پستی سمی و عوارض عمومی، تلفات قابل ملاحظه‌ای بوجود آورد (۲۱، ۱۷، ۱۵). از طرفی اشیریشیاکلای باعث اسهال گوساله‌ها می‌شود که یکی از مهمترین بیماری‌هایی است که باعث خسارات اقتصادی فراوانی در گاوداری‌ها می‌گردد (۱۴). سودوموناس آئروژینوزا نیز از باکتری‌های فرصت طلبی است که مخصوصاً در انسان و یا حیواناتی که ایمنی آنها دچار اختلال گشته (ایمنی سرکوب شده)، همچنین متعاقب سوختگی ها و درمان طولانی با آنتی بیوتیک‌های با طیف وسیع، عفونت های مختلفی ایجاد می‌کند. در انسان این باکتری سبب ایجاد چرک متمایل به آبی در زخم ها و سوختگی‌ها می‌شود و گاهی ممکن است عوارض تنفسی از قبیل ذات الریه نکروزی و غیره ایجاد کند و

به برگ‌ها می‌دهد. ۵۰ گونه از گیاه ریحان وجود دارد (۱۶).

برگ ریحان برای معطر ساختن اغذیه بکار می‌رود همچنین به حالت خام مصرف می‌گردد. دم کرده ۲۰ تا ۵۰ در هزار آن، اثر ضد تشنج، نیروزا، مقوی و مدر دارد. مصرف آن برای رفع سردردهای یکطرفه، سردردهای عصبی، تقویت عمل دستگاه گوارش، از بین بردن نفخ، سرگیجه، دل پیچه‌ها، سرفه، آئزین و سیاه سرفه توصیه شده است. ریحان اثرافزایش دهنده‌گی شیر دارد و از این نظر، در گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفته است. جوشانده‌های غلیظ ریحان برای رفع آفت دهان مصرف می‌شود. دانه ریحان لعاب فراوان دارد و چون نرم کننده است در رفع التهاب کلیه و ترشحات زنانگی (ترشحات مهبل) مورد مصرف قرار می‌گیرد اسانس ریحان به مقدار ۵ تا ۶ قطره روی یک حبه قند، اثر قاطع در رفع تشنجات معدی و سردردهای با منشأ ضعف عمل دستگاه گوارش دارد (۳). سرشاخه‌ها محتوی اسانس روغنی، تانن‌ها، گلیکوزیدها و ساپونین هستند، که از آنها علیه دل دردها، نفخ و یبوست استفاده می‌کنند (۴). اسانس ریحان، مایعی به رنگ زرد و یا مایل به سبز است. بوی معطر دارد و در آب غیر محلول ولی در ۲ برابر حجم خود الکل ۸۰ درجه حل می‌شود. با اتر و کلروفرم، قابلیت انحلال ندارد. اسانس ریحان، مرکب از ۳۰ تا ۷۵ درصد استراگول (Stragol) یا متیل کایکول (Methyl Cavicol)، لینالول (Linalol)، سینئول (Cineol)، سینامات متیل (Methyl Cinamate)، اوژنول (Eugenol)، و غیره است. برگ ریحان دارای ماده‌ای به نام او سیمن (Ocimen) است. او سیمن، به فرمول $C_{10}H_{16}$ و به وزن ملکولی ۱۳۶/۲۳ است که حالت روغنی و بوی مطبوع دارد و به صورت مخلوطی از ایزومرهاست. اوسیمن دارای فرم‌های آلفا و بتا (α و β) است که هر یک دارای cis و trans می‌باشند. این ماده در آب غیر محلول ولی در الکل، کلروفرم، اتر و اسید استیک گلاسیال محلول می‌باشد. استخراج و تعیین

از ۲۵۰ گرم برگ آسیاب شده گیاه ریحان در یک بشر ۵۰۰ میلی لیتر ریخته و ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس محتویات با یک میله شیشه ای هم زده شد. ترکیب حاصل به روش خیساندن (Infusion method) به مدت ۳ ساعت در آزمایشگاه قرار گرفت. بعداً عصاره حاصل با فیلتر واتمن نمره ۱ صاف گردید. بدین ترتیب عصاره آبی بدست آمد. لازم به توضیح است که این عصاره در رقت های ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر جهت انجام تحقیقات آماده گردید و در یخچال با دمای 4°C نگهداری شد.

همچنین از ۲۵۰ گرم برگ آسیاب شده گیاه ریحان پس از فیلتر شدن توسط کاغذ واتمن نمره ۱ و با دستگاه سوکسله محلولی استخراج گردید. سپس ۵۰۰ میلی لیتر از اتانول ۶۰٪ بعنوان حلال به آن اضافه کرده و به مدت ۴۸ ساعت عصاره گیری ادامه یافت. عصاره الکلی بدست آمده در رقت های ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر در یخچال با دمای 4°C نگهداری شد.

باکتری های مورد استفاده اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا بوده که این سویه ها به ترتیب از نمونه های بالینی سگهای مبتلا به اسهال و تورم گوش از بیماران ارجاعی به کلینیک دامپزشکی آهو واقع در شهرستان رشت جدا شدند. این باکتریها با استفاده از روش استاندارد در آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی شهرستان رشت شناسایی و تأیید شده و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم کشاورزی منتقل گردید.

به منظور انجام تحقیق از دو باکتری اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا با آنس استریل تعدادی پرگنه برداشته و در آب مقطر استریل به میزان ۲ میلی لیتر حل گردید تا کدورت حاصله معادل مک فارلند با رقت ۰/۵ ایجاد شود. این کدورت معادل ۱۰۸ واحد تشکیل دهنده کلونی در هر میلی لیتر می باشد.

در مواردی نیز سبب منژییت و عفونت مجاری ادراری گردد. در حیوانات نیز علاوه بر عوارض چرکی ممکن است سبب بروز بیماری های پوستی و تنفسی شود (۱). در درمان عفونت های ناشی از این دو باکتری از آنتی بیوتیک های تجاری استفاده می شود که با گذشت زمان نسبت به این آنتی بیوتیک ها مقاومت ایجاد می گردد. گیاه ریحان یک گیاه دارویی رایج در تایلند، هند و ترکیه است. تحقیقات اخیر نشان می دهد که این گیاه را می توان به عنوان یک داروی ضد سرطان معرفی نمود (۸) که عوارض جانبی کمی برای آن گزارش شده است. تحقیقات آزمایشگاهی نشان می دهد که این گیاه دارای اثر ضد ویروسی، ضدباکتریایی و ضد حساسیت می باشد (۶). از این رو ضرورت دارد تا گیاهان دارویی دارای اثرات ضدباکتریایی شناسایی گردند که بتوان از آنها به عنوان جایگزینی برای مواد آنتی بیوتیک مصنوعی استفاده نمود.

مواد و روش کار

نمونه های تازه برگ گیاه ریحان (*Ocimum gratissimum*) از منطقه بندر کیشهر واقع در شمال شرقی شهرستان رشت در خرداد و مرداد و شهریور ماه سال ۱۳۸۸ بین ساعت ۸-۶ صبح جمع آوری شد. در هنگام جمع آوری دمای هوای منطقه 28°C بود. تمام نمونه ها در آزمایشگاه گیاه شناسی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت برای تعیین گونه گیاه مورد تأیید قرار گرفت.

برای انجام این تحقیق از گیاه ریحان عصاره اتانلی و آبی تهیه گردید. بدین ترتیب که برگ های تازه گیاه پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۵ دقیقه در آن در دمای 60°C برای متوقف شدن فعالیت آنزیمی برگ ها نگهداری گردید. سپس برگ ها در مجاورت هوا خشک شده و آسیاب گردیدند تا به شکل پودر درآیند. برای تهیه عصاره ها از آب مقطر و اتانول ۶۰ درصد استفاده شد.

قطر هاله ممانعت از رشد هر کدام از باکتری‌ها اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر گزارش گردید. آزمایش ۳ بار برای هر رقت تکرار شد و معدل نتایج حاصله در جداول ذکر گردید. برای کنترل، آزمایشات فوق با اتانول ۶۰٪ و آب مقطر نیز تکرار گردید. همچنین از دیسک حاوی ۱۰ میکروگرم جنتامایسین به عنوان کنترل و مقایسه استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی و آبی گیاه *ocimum gratissimum* را روی دو باکتری پاتوژن و گرم منفی اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا مطابق جداول ۲ الی ۵ باثبات می‌رساند.

برای بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه ریحان از آزمایش سنجش حساسیت به روش انتشار دیسک استفاده گردید. در این آزمایش ابتدا سوآپ استریل شده‌ای را داخل لوله های آزمایش حاوی هر کدام از باکتری‌ها با رقت ۰/۵ مک فارلند قرار داده و روی محیط آگار مولر هیتتون محصول شرکت مرک در تماس با سطح پلیت در دو جهت مختلف کشیده شد. سپس از عصاره آبی و الکلی رقت‌های ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌متر گیاه ریحان به میزان ۱۰ میکرولیتر روی دیسک‌های جداگانه‌ای ریخته و آنها را روی محیط مولر هیتتون در فواصل مناسب از هم جایگزین نموده و سپس محیط‌های مذکور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت. پس از این مدت

جدول ۲- اثر ضد باکتری عصاره الکلی (اتانولی) گیاه ریحان بر باکتری اشیریشیاکلای

جنتامایسین	شاهد (اتانول)	قطر هاله ممانعت از رشد (میلی گرم) و رقت های عصاره اتانولی گیاه (میلی گرم/میلی لیتر)				باکتری	گیاه
		۲۵ میلی گرم / میلی لیتر	۵۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر	۲۰۰ میلی گرم / میلی لیتر		
۲۰ میلی متر	-	۹ میلی متر	۵ میلی متر	-	-	اشیریشیا کلای	<i>Ocimum gratissimum</i>

جدول ۳- اثر ضد باکتری عصاره الکلی (اتانولی) گیاه ریحان بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا

جنتامایسین	شاهد (اتانول)	قطر هاله ممانعت از رشد (میلی گرم) و رقت‌های عصاره اتانولی گیاه (میلی گرم/میلی لیتر)				باکتری	گیاه
		۲۵ میلی گرم / میلی لیتر	۵۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر	۲۰۰ میلی گرم / میلی لیتر		
۲۳ میلی متر	-	۱۲ میلی متر	۸ میلی متر	۴ میلی متر	-	سودوموناس آئروژینوزا	<i>ocimum gratissimum</i>

جدول ۴- اثر ضد باکتری عصاره آبی ریحان بر باکتری اشیریشیاکلای

جنتامایسین	شاهد (آب)	قطر هاله ممانعت از رشد (میلی متر) و رقت‌های عصاره آبی گیاه (میلی گرم/میلی لیتر)				باکتری	گیاه
		۲۵ میلی گرم / میلی لیتر	۵۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر	۲۰۰ میلی گرم / میلی لیتر		
۱۸	-	۷ میلی متر	۲ میلی متر	-	-	اشیریشیا کلای	<i>ocimum gratissimum</i>

جدول ۵- اثر ضد باکتری عصاره آبی ریحان بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا

جنتامایسین	شاهد (آبی)	قطر هاله ممانعت از رشد (میلی متر) (ورقت های عصاره آبی گیاه (میلی گرم/میلی لیتر))				باکتری	گیاه
		۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵		
		میلی گرم/ میلی لیتر	میلی گرم/ میلی لیتر	میلی گرم/ میلی لیتر	میلی گرم/ میلی لیتر		
۲۲	-	۹	۴	-	-	سودوموناس آئروژینوزا	<i>ocimum gratissimum</i>
میلی متر		میلی متر	میلی متر				

۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر جای گذاشته است، این در حالی است که بیشترین و مؤثرترین رقت برای فعالیت ضد باکتری نسبت به هر دو نوع باکتری اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا رقت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است. اما اثر ضدباکتری داروی جنتامایسین بر هر دو باکتری مورد آزمایش در این طرح که به عنوان کنترل بکار گرفته شده بیشتر از عصاره های آبی و اتانولی گیاه ریحان می باشد. همچنین عصاره اتانولی گیاه ریحان نسبت به عصاره آبی توانایی بیشتر در تشکیل هاله ممانعت از رشد نشان داده است. بنابراین فعالیت ضد باکتری عصاره اتانولی گیاه ریحان نسبت به باکتری های گرم منفی مورد مطالعه بیشتر بوده است.

در مقایسه اثر ضد باکتری عصاره آبی و اتانولی گیاه ریحان بر دو باکتری اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا مشخص گردیده که عصاره اتانولی و آبی گیاه ریحان بر عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا مؤثر بوده ولی خاصیت ضدباکتری عصاره اتانولی این گیاه بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا از عصاره آبی آن بیشتر است.

بحث

اسانس و عصاره گیاهی بیش از هزاران سال است که در غذا، داروها و درمان های طبیعی و مکمل مورد استفاده قرار می گیرد (۱۸). عصاره های گیاهی منابع جدیدی از ترکیبات ضد باکتریایی در برابر باکتری های

همانطور که از جدول شماره ۲ بر می آید عصاره اتانولی گیاه ریحان در رقت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب به میزان ۵ و ۹ میلی متر هاله ممانعت از رشد نسبت به باکتری اشیریشیاکلای را نشان داده است که از این نظر اثر ضد باکتری خود را به اثبات می رساند. این عصاره در مقایسه با داروی جنتامایسین اثر ضدباکتریایی کمتری را از خود نشان می دهد. در جدول شماره ۳ اثر ضدباکتری عصاره اتانولی گیاه ریحان بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا در رقت های ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب به میزان ۴ و ۸ و ۱۲ میلی متر قطر هاله ممانعت از رشد را داشته است. این در حالی است که داروی جنتامایسین مؤثرتر از عصاره اتانولی گیاه ریحان بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا اثر ضدباکتریایی داشته است. در جدول شماره ۴ اثر ضد باکتری عصاره آبی گیاه ریحان بر باکتری اشیریشیاکلای در رقت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۲ و ۷ میلی متر مشاهده می شود که حاکی از اثر ممانعت از رشد نسبت به این باکتری دارد. در جدول شماره ۵ نیز عصاره آبی گیاه ریحان در رقت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بمیزان ۴ و ۹ میلی متر هاله ممانعت از رشد را بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا نشان داده است. بر اساس یافته های این تحقیق، عصاره آبی و اتانولی گیاه ریحان توانایی اثر ضدباکتریایی را باثبات رسانیده ولی اثر خود را برای ممانعت از رشد هر دو نوع باکتری اشیریشیاکلای و سودوموناس آئروژینوزا در رقت های

ریحان روی رشد باکتری‌ها *Bacillus subtilis*، *Klebsiella*، *Salmonella typhi*، *Staph.aureus*، *Pseudomonas aeruginosa pneumonia* که به روش انتشار دیسک در آگار کشت داده شده بودند نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه *Bryophyllum pinnatum* با غلظت ۳۶/۸۱ میلی گرم در میلی لیتر کمترین اثر مهارکنندگی را علیه *Bacillus subtilis*، *Staph.aureus* دارد. این در حالی است که عصاره آبی گیاه *Bryophyllum pinnatum* با غلظت ۰/۲۷۵ میلی گرم در میلی لیتر *Staph. aureus* و با غلظت ۰/۰۴۴ میلی گرم در میلی لیتر *Bacillus subtilis* را می‌تواند مهار کند. از طرفی عصاره آبی گیاه ریحان با غلظت ۰/۶۳۱ میلی گرم در میلی لیتر *Bacillus subtilis* و با غلظت ۰/۱۶۲ میلی گرم در میلی لیتر *Staph. aureus* و *Salmonella typhi* را مهار می‌کند (۱۵).

عصاره آبی و الکلی دو گیاه ریحان و *Piper quineese* اثر مهاری در رشد دو باکتری *E.coli* و *Staph.aureus* را با قطرهای ایجاد شده به میزان ۲ و ۱۰ میلی متر نشان داده است. عصاره الکلی بیشترین تأثیر را در توقف رشد این دو باکتری داشته است (۲۲). اثر ضد میکروبی اسانس گیاه ریحان در برابر ارگانیسیم‌های گرم مثبت (*S.aureus* و *Bacillus spp*) و ارگانیسیم‌های گرم منفی (*E.coli* و *typhi*، *Klebsiella*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Pneumonia* و *Proteus mirabilis*) و قارچ بیماری‌زا *Candida albicans* بررسی گردید و اثر ضد باکتری و ضد قارچی این اسانس به اثبات رسید (۱۹).

در تحقیقی دیگر عصاره گیاه ریحان بر دو باکتری *E.coli* و *Staph.aureus* و قارچ *Candida albicans* مورد آزمایش قرار گرفت و بیشترین اثر عصاره گیاه ریحان روی *E.coli* با ۰/۵ میلی متر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت و سپس *Candida albicans* با ۰/۳ میلی متر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت نشان داده شد در حالی که نسبت به *Staph. aureus* عصاره گیاه مقاوم بود (۲۴).

پاتوژن است و مطالعات آزمایشگاهی اثر عصاره گیاهی بر توقف رشد باکتری‌ها مشخص نموده است به طوریکه می‌توان این اثر را تحت ۳ عنوان قوی، متوسط و ضعیف طبقه بندی کرد (۱۸). یک ویژگی مهم عصاره‌های گیاهی مربوط به آب‌گریزی (Hydrophobicity) است که عصاره گیاهی را قادر می‌سازد تا با پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتریها و میتوکندری آنها باعث پاره شدن غشاء سلولی و خروج مولکول‌ها و یون‌های مهم باکتری به خارج از سلول و در نهایت مرگ باکتری می‌گردد (۱۸).

برگ گیاهان به دلیل رطوبت زیاد آن، تولید اسید کمتری نموده که می‌تواند رشد طیف وسیعی از میکروارگانیسیم‌ها را حمایت کند. این اثر در *Ocimum gratissimum* مشاهده شده است که میزان رطوبت در برگ تازه گیاه ریحان ۸۱/۳۵ درصد می‌باشد (۲۳).

گونه‌ها و وارسته‌های مختلف گیاه ریحان حاوی اوزنول، لیناؤل، متیل سینامات، کامفور و تیمول می‌باشد. اثر ضد باکتریایی، ضد کرم، ضد حشره یا توقف در رشد قارچ‌ها مربوط به اوزنول موجود در گیاه ریحان می‌باشد (۲۰).

Cimanga و همکاران در مطالعه‌ای اثر ترکیبی ۱۵ گیاه آروماتیک را مورد بررسی قرار دادند. بیشتر از ۱۵ عنصر سازنده موثر مشترک به مقدار ۰/۱٪ در همه این گیاهان تشخیص داده شد که شامل: β -pinene، 1/8-*limoneme*، *Myrcenec- α -cymen*، *cincole*، *terpinene*، *terpimeon* می‌باشد. این تحقیق نشان داد

که از بین این ۱۵ گیاه اثر روغن ریحان روی گروه باکتری‌های انتخابی کشت داده شده در محیط آگار لوله‌ای، هاله عدم رشد به قطر ۱۸-۱۰ میلی متر را تشکیل داده که مقدار این روغن به ازای هر پلیت، ۱۵ میلی گرم بود (۱۳).

در تحقیقی که در دپارتمان فارما کولوژی دانشگاه نیجریه انجام گرفت اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و عصاره متانولی دو گیاه *Bryophyllum pinnatum*

حساس و مقاوم به متی سیلین. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۳، شماره ۱، صفحه ۸۵-۷۳.

۳- زرگری، ع. (۱۳۷۶): گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، جلد چهارم ص ۵۱-۴۷.

۴- زمان، س. (۱۳۷۶): گیاهان دارویی، روشهای کشت، برداشت و شرح مصور رنگی. انتشارات ققنوس، چاپ سوم، ص ۲۴۰.

۵- صمصام شریعت، س.ه. (۱۳۸۲): پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، چاپ دوم، ص ۲۶۲-۲۶۱.

۶- صمصام شریعت، س.ه. (۱۳۸۳): گزینه گیاهان دارویی. انتشارات مانی، ص: ۱۷۴.

۷- قائمی، ع. (۱۳۸۵): تأثیر عصاره الکلی گیاه به لیمو بر زخم‌های جلدی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در مدل حیوانی. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۲، شماره ۳، صفحه ۲۴۹-۲۴۲.

۸- نجف پور نوایی، م. (۱۳۸۶): گیاهان دارویی ضد سرطان ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور، صفحه ۱۴۴-۱۴۳.

۹- هدایتی، م. (۱۳۷۰): کاربرد اسانس سه گیاه دارویی زنیان، کومین و پونه برای کنترل باکتری سالمونلا و مقایسه‌ی آن با آنتی بیوتیک استرپتومایسین. اولین همایش ملی فناوری نوین در کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. صفحه ۲۰۵۱-۲۰۴۵.

در مورد مقایسه اثر عصاره اتانولی و آبی گیاه ریحان روی باکتریهای پاتوژن اشیریشیاکلاهی و سودوموناس آئروژینوزا شاهد اثر قابل توجه رقتهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره گیاه ریحان مورد آزمایش در رابطه با ممانعت از رشد این باکتری‌ها بودیم ولی در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین اثر کم تری داشته است.

همچنین عصاره اتانولی گیاه ریحان نسبت به عصاره آبی توانایی بیشتر در تشکیل هاله ممانعت از رشد نشان داده است. بنابراین فعالیت ضد باکتری عصاره اتانولی گیاه ریحان نسبت به باکتری های گرم منفی مورد مطالعه بیشتر بوده است.

در مقایسه اثر ضد باکتری عصاره آبی و اتانولی گیاه ریحان بر دو باکتری اشیریشیاکلاهی و سودوموناس آئروژینوزا مشخص گردیده که عصاره اتانولی و آبی گیاه ریحان بر عدم رشد سودوموناس آئروژینوزا مؤثرتر بوده ولی خاصیت ضدباکتری عصاره اتانولی این گیاه نسبت به باکتری سودوموناس آئروژینوزا از عصاره آبی آن بیشتر است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت است که با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است. لذا بدین وسیله از ریاست و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به دلیل تامین بودجه طرح و حمایت‌های بی‌شائبه قدردانی و سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- ۱- تاج بخش، ح. (۱۳۸۵): باکتری شناسی عمومی، انتشارات دانشگاه تهران، ص: ۷۰۱-۷۰۰.
- ۲- دادگر، ت. (۱۳۸۶): بررسی اثر بخشی شش گونه گیاه دارویی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

- ۱۰- یادگاری، د. (۱۳۸۱): فعالیت‌های بیولوژیکی روغن‌های اسانس‌ی نعنا و مورد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. خلاصه مقالات کنگره گیاهان دارویی کشور صفحه ۶۴
- ۱۱- یزدی، م. (۱۳۸۶): ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس‌های *Myrtus zataria Multiflora* و *Communis L. Eucalyptus officinalis* بر استرپتوکوکوس پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا و مورکسیلا کاتارهایلیس با روش *In vitro*، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۳ شماره ۴ صفحه ۴۸۳-۴۷۷
- 12- Chouliaras, N., Gravanis, F., (2003): Antibacterial effect of ethalonic extract of 30 medical plants against E.coli and pseudomonas. Journal of the Science of Food and Agriculture. 12:345-360
- 13- Cimanga, K., Kambu Apres, S., Bruyne, D., (2006): Correlation between chemical Composition and antibacterial activity of essential oil of some aeromatic plants growing in the Democratic Republic of Cong, P:131-134.
- 14- Jay, C.M., Bhaskaran, S., Rathore. K.s., waghela, S.D.,(2004): Enter to toxigenic K99+ Escherichia coli attachment to host cell recptors inhibited by recombianant pili protein. 101, p: 153-160.
- 15- C.M., D., Pourbakhsh, S.A. , Fairbrother, J.M., (1995): Text book of veterinary microbiology. 45, P: 291-309.
- 16- James, E.,(1998): Basil a source of essential oils, Advances in new crops Timber press, Purdue University, West Lafayette, P: 484-489.
- 17- Fectean, G., Higgins, R.,Van -Matere, D.c., Pare, J., Smith, B.P., (2001): Virulance factors in Escherichia coli isolated from the blood of bacteremic calves. Veterinary Microbiology, 78:P: 240-242.
- 18- Joshi, B., Lekhak, S.,(2009): Antibacterial property of different medicinal plants. Katmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, vol, 5, No:I, January, PP:143-150.
- 19- Lexa, G., matasyoh, J., Matasyoh, C., (2007): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of ocimum gratissimum L.growing in Eastern Kenya. African Journal of Biotechnology Vol. 6(6), PP.760-765
- 20- Mbata,T.I., Saikia, A.,(2006): Antibacterial activity of essential oil from ocimum gratissimum on Listeria monocytogenes. Internet Journal of Food Safety, Vol. (7): 15-19.
- 21- Mulin Faribrother, J.M., (1999): Avian pathogenic escherichia coli (APEC). Veterinary Research, 30:P: 299-379.

- 22- Nwinyi Obina, C., Chinedu, N.,wodo, S., (2009): Antibacterial effects of ocimum gratissimum and piper guineense on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. African Journal of food Science. vol.3 (3).pp.077-081.
- 23- Oboh Fredo, J., Bell, I. , Honey, N.,(2009): Nutritional and-15 microbial properties of ocimum gratissimum leaves, Journal of Biology Science. 9(4): 377-380.
- 24- Tuchila, C., Iovaneseu, D., (2007): Antimicrobial capacity evaluation of some sweet Basil (Ocimum Basilicum) extracts.Department of Microbiology CFR Hospital Timisoara. 213.

Archive of SID