Archive of SID

اثر ضد باکتریایی عصاره اکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) علیه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک های مختلف

سعیده سعیدی[۱] ، **سید کاظم صباغ[۲]** و صفورا بزی[۳]

۱. کارشناس ارشد گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور زابل، ایران

۲. استادیار گروه گیاه پزشکی و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل، **(نویسنده مسئول)**، زابل، ایران sk.sabbagh@uoz.ac.ir

۳. کارشناس ارشد گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور زابل، ایران

چکیده:

مقدمه: به دلیل مقاومت روزافزون باکتری های بیماری زا به آنتی بیوتیک های رایج، محققین در پی یافتن عوامل ضد میکروبی با منشاء گیاهی به عنوان داروهای جایگزین می باشند. اکالیپتوس گیاهی از خانواده میرتاسه با خواص ضدمیکروبی است.

روش پژوهش: عصاره گیاه اکالیپتوس از روش ماسراسیون (خیساندن) و با استفاده از دستگاه روتاری آماده شد. نمونه برداری از نواحی حلق و بینی بیماران انجام و تعداد ۱۷ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا و خالص سازی گردید. حداقل غلظت باز دارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره گیاه در شش غلظت مختلف با روش رقیق سازی در محیط مایع بر روی باکتری تعیین شد. حساسیت سویه ها به چند آنتی بیوتیک با روش استاندارد دیسک دیفیوژنِ کربی- بائر بیوگرام ارزیابی گردید.

یافته ها: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اکالیپتوس دارای مقدار MIC قابل توجه ای در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر می باشند، در حالی که بیشترین مقدار MBC در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. ارزیابی اثر ضد باکتریایی چند آنتی بیوتیک نشان داد که حساسیت سویه های مورد مطالعه به آنتی بیوتیک ها مشابه بود، اما پنی سیلین و سفکسیم کمترین اثر آنتی بیوتیک را نشان داد. همه سویه ها نسبت به پنی سیلین مقاومت نشان دادند در صورتی که بیشترین واکنش حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین مشاهده شده است.

نتیجه گیری : عصاره گیاه اکالیپتوس در غلظت های بالا دارای اثر ضد باکتریایی علیه استرین های استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه می باشد. بنابراین این ترکیبات می توانند در صنعت داروسازی برای درمان های دارویی مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژه ها: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت دارویی، اثرات ضدمیکروبی، اکالیپتوس.

مقدمه و هدف

باکتری های موجود در گروه کوکسی ها به ویژه جنس استافیلوکوک یکی از گروه های بسیار مهم ایجاد کننده بیماری های اکتسابی در بیماران بستری شده در مراکز درمانی می باشند (۲ و ۱). در دهه های اخیر استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان مهمترین عامل عفونت بیمارستانی مطرح گردیده است. یکی از مشکلات موجود در ارتباط با کنترل این باکتری، مقاومت آن ها به بعضی از آنتی بیوتیک های مصرفی می باشد به طوری که اکنون بیش از ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به عفونت های استافیلوکوکی به پنی سیلین و یا آمپی سیلین پاسخ نمی دهند (٤ و ۳).

اخیراً با توجه به اثرات جانبی آنتی بیوتیک های مصرفی و مقاومتی که پاتوژن هایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آن ها کسب نموده اند، به عملکرد ضدمیکروبی

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره ها و ترکیبات طبیعی گونه های مختلف گیاهی توجه زیادی شده است(۵) . بدین ترتیب شناسایی گیاهان دارای خاصیت ضد میکروبی و همچنین جداسازی و خالص سازی ترکیبات موثر آن ها در درمان بیماری های عفونی می تواند یکی از راههای موثر و مفید باشد.

اکالیپتوس گیاهی با قدرت سازش بالا نسبت به شرایط محیطی است، اما مهمترین عامل محدود کننده رشد این گیاه، دمای پایین می باشد. به همین دلیل در نواحی محدودی از استرالیا که بارش برف در آنجا زیاد است، اکالیپتوس رشد نمی کند. از برگها و اسانس بسیاری از گونه های اکالیپتوس، برای درمان التهاب دستگاه تنفسی مثل برونشیت یا خناق استفاده می شود(٦)

برگها و یا اسانس برخی از گونه های اکالیپتوس برای درمان تب های خاصی مثل تب ناشی از مالاریا و تیفوئید و درمان برخی التهابات پوستی مثل سوختگی و زخم استفاده می شود، همچنین عصاره آبی گونه های مختلف اکالیپتوس برای درمان سل، اسهال خونی باکتریایی، درد مفاصل و موارد مشابه در داروهای غربی و شرقی بکار می رود(۷). اثر ضد باکتریایی عصاره و اسانس اکالیپتوس بر روی باکتری های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است و نشان داده شده است که در تمام موارد استفاده علیه گونه های مختلف باکتریای، عصاره گیاه توانسته است در غلظت های مختلف از رشد باکتری جلوگیری نماید(۹ و ۸). با توجه به مصرف این گیاه در طب سنتی، در این مطالعه سعی شد اثر ضد میکروبی عصاره اکالیپتوس علیه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت چند دارویی با استفاده از روش رقت سازی در چاهک و تعیین MIC و MBC مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش ها

تهیه عصاره گیاهی:

گیاه اکالیپتوس مورد استفاده در این تحقیق از شهرستان زابل جمع آوری و در هرباریوم گیاهی دانشگاه زابل با توجه به مشخصات ظاهری و توصیفات گیاه شناسی به عنوان ***Eucalyptus globules*** تشخیص داده شد. پس از جمع آوری گیاهان، برگ ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره به وسیله با آسیاب خرد شد.

جهت تهیه عصاره از روش ماسراسیون (خیساندن) استفاده شد. بدین منظور پس از خرد کردن برگ ها، ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ٤٨ ساعت در متانول ۸۰ درصد خیسانده و نگهداری شد. سپس عصاره به دست آمده با کاغذ صافی معمولی صاف و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلا (Heidolph, Germany)، تغلیظ و پس از عبور از فیلتر میکروبی با منافذ ۰/٤٥ میکرومتر در دمای ۵۰-٤۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ روز خشک گردید (۱۰).

تعیین وزن خشک عصاره :

ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و یک میلی لیتر از عصاره استخراج شده به درون آن منتقل شد. لوله حاوی عصاره در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره ، لوله آزمایش مجدداً وزن گردید. اختلاف وزن لوله معادل یک میلی لیتر از عصاره بود. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره محاسبه شد.

سویه های باکتری:

سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده در این تحقیق از بیماران بخش عفونی بیمارستان امیرالمومنین (ع) شهرستان زابل جداسازی شده بودند. نمونه های به دست آمده بر روی محیط های کشت اختصاصی مانیتول سالت آگار و بلاد آگار کشت و خالص سازی شدند و در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ملی زابل با استفاده از تست های بیوشیمیایی کاتالاز، کوآگولاز، DNase، رشد بر روی محیط کشت مصنوعی مانیتول سالت آگار و همچنین قسمت کواگولاز مورد شناسایی قرار گرفتند.

تهیه سوسپانسیون میکروبی0/5 مک فارلند:

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، در ابتدا ٢٤ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب دار آگار مغذی (مرک- آلمان) تلقیح شد. پس از رشد کلنی

www.SID.ir

Archive of SID

های باکتری، سطح محیط کشت با محلول نرمال سالین شسته و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. سپس مقداری از سوسپانسیون باکتری، داخل لوله استریل درب دار حاوی نرمال سالین ریخته شده و کدورت آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول۰/۵ مک فارلند، با نرمال سالین رقیق و سوسپانسیون باکتری با غلظت 1×10^8 cfu/ml تهیه گردید.

آزمون حساسیت میکروبی به آنتی بیوتیکها:

واکنش حساسیتی گونه های مورد مطالعه به دیسک های آنتی بیوتیک های تری متوپریم، آمپی سیلین، سفتازیدیم، تتراسیکلین، اریترومایسین، پنی سیلین، سفتریاکسون، آمیکاسین و سفکستین که از شرکت پادتن طب ایران تهیه شده بودند با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژِن کربی- بائر مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، در ابتدا از تمام سویه های باکتری، غلظت ۰/۵ مک فارلند (1×10^8 cfu/ml) در محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) تهیه و سپس بر روی محیط آگار مولر هینتون پخش و کشت داده شدند. دیسک های بلانک پادتن طب مطابق دستور شرکت سازنده به هر آنتی بیوتیک آغشته شده و پس از خشک شدن در شرایط استریل، بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری در نزدیکی لبه پلیت ها قرار داده شدند. بر روی هر پلیت یک دیسک آب مقطر به عنوان کنترل منفی قرار داده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری و قطر هاله های باز دارنده جهت ارزیابی و تعیین مقاومت و حساسیت سویه ها به آنتی بیوتیک های مورد نظر، اندازه گیری شد. هر آزمایش سه دفعه و بطور مستقل از هم انجام شد و داده های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (ویرایش۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون آماری کای اسکوآر برای داده های کیفی و تی استیودنت برای مقایسه داده های کمی استفاده شد. در این مطالعه میزان $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

آزمون ضد میکروبی عصاره:

حساسیت جدایه های باکتری دارای مقاومت چند گانه نسبت به عصاره اکالیپتوس با استفاده از روش رقیق سازی در محیط مایع (Micro Broth Dilution) در پلیت های ۹۶ خانه ای ته گرد مورد بررسی قرار گرفت. به خانه های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت و سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ خانه از پلیت ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (**MHB, Merk, Germany**) اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی به غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر اضافه شده و تا چاهک ششم به ترتیب غلظت های 3/0–0/62– 1/25– 2/5 و 5 میلی گرم در میلی لیتر با روش رقیق سازی تهیه گردید. به هر چاهک مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. محتویات هر چاهک ۲ دقیقه بوسیله دستگاه Plate Reader(BioTek, USA) مجهز به تکان دهنده با هم مخلوط شده و در زمان صفر عمل طیف سنجی (Analytika, Germany) با طول موج 630 نانومتر اندازه گیری شد. پلیت ها به مدت 24 ساعت در دمای 35 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند و کدورت و یا عدم کدورت چاهک ها به صورت چشمی مورد ارزیابی قرر گرفته و عمل طیف سنجی مربوط به هر چاهک در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری شد. اولین رقتی که توانست کمترین میزان کدورت را نشان دهد به عنوان حداقل غلظت کشنده تعیین گردید. این آزمایش در سه تکرار جداگانه انجام و میانگین سه تکرار برای هر چاهک برای تعیین کمترین غلظت بازدارنده مورد استفاده قرار گرفت (۱۱).

یافته ها

تشخیص بیوشیمیایی استرین های باکتری:

نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی جدایه های باکتری نشان داد که استرین های جدا و خالص سازی شده کاتالاز مثبت و همچنین تست های کوآگولاز و مانیتول آنها نیز

www.SID.ir

Archive of SID

مثبت تشخیص داده شد. از بین استرین های مورد بررسی تعداد ۱۷ استرین علاوه بر توانایی های فوق قادر به کشت و تکثیر روی محیط کشت مصنوعی مانیتول سالت آگار بوده و توانستند روی لام شیشه ای آگلوتیناسیون تشکیل دهند. بنابراین این تعداد استرین به عنوان گونه استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شد و جهت مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

واکنش باکتری به آنتی بیوتیک

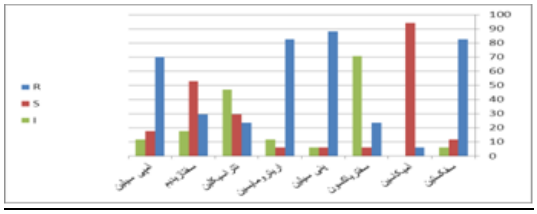
فعالیت ضد باکتریایی چند آنتی بیوتیک علیه سویه های بدست آمده در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمون نشان داد که سویه های استافیلوکوکوس اورئوس رفتار تقریباً مشابهی در شرایط حضور آنتی بیوتیک ها از خود نشان می دهند، اما با این وجود تفاوت هایی در بین جدایه ها در بروز عملکرد مقاومت یا حساسیت به آنتی بیوتیک دیده شد به طوری که ٦ سویه (سویه های شماره ۲، ۸، ۱۰، ۱۳، ١٤) نسبت به اغلب آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند (جدول ۱).

جدول ۱: الگوی حساسیت سویه های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی نسبت به آنتی بیوتیک ها.

*سویه باکتری	آنتی بیوتیک								
S. aureus	SXT	AM	GAZ	TE	E	P	CRO	AN	CF
Sa1	R	S	I	S	I	R	I	S	R
Sa2	R	R	R	R	R	R	I	S	R
Sa3	R	S	S	S	I	R	I	S	R
Sa4	R	R	S	I	R	R	I	S	R
Sa5	R	R	S	S	R	R	S	S	R
Sa6	R	R	S	I	R	R	I	S	R
Sa7	R	R	R	R	R	S	I	S	S
Sa8	R	R	S	R	R	R	I	S	R
Sa9	S	S	S	I	R	R	I	S	S
Sa10	R	R	S	I	R	R	R	R	R
Sa11	R	R	S	I	R	R	I	S	R
Sa12	S	R	R	S	R	R	I	S	R
Sa13	R	R	R	R	R	R	I	S	R
Sa14	R	I	R	I	R	R	R	S	R
Sa15	I	R	I	I	R	R	R	S	R
Sa16	S	R	S	I	R	R	R	R	R
Sa17	S	I	R	S	S	I	S	S	I

Sa: *Staphyloccocus aureus**
R: Resistant
S: Sensitive
I:Intermediate

علاوه بر آن تفاوت هایی در مکانیسم بازدارندگی آنتی بیوتیک ها نیز مشاهده گردید. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است بر اساس نتایج تست حساسیتی جدایه ها با روش انتشار دیسک در آگار، آنتی بیوتیک های مورد استفاده رفتار مقاومتی متفاوت را بر روی جدایه های مورد مطالعه از خود نشان دادند بدین ترتیب که آنتی بیوتیک پنی سیلین (۸۸/۲ درصد) و سفکستین (۸۲/٤ درصد) کمترین اثر آنتی بیوتیکی را از خود نشان دادند. آنتی بیوتیک های آمیکاسین (۵/۹ درصد) سفتریاکسین و تتراسایکلین (۲۳/۵ درصد) دارای بیشترین اثر بازدارندگی بر روی جدیه های مورد مطالعه بودند (شکل ۱)



شکل ۱: الگوی درصد حساسیتی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف

نتایج MIC و MBC

خاصیت ضد باکتریایی عصاره گیاه اکالیپتوس در غلظت های مختلف نشان داد که علی رغم مقاومت نسبی اکثر سویه ها در غلظت های مورد استفاده ، بیشترین حساسیت در غلظت های 5mg, و 10mg می باشد، به طور تقریبی بیشترین MIC (حداقل غلظت باز دارندگی) در غلظت ۵ mg عصاره تعیین شد

جدول ۲: الگوی حساسیتی سویه های مورد استفاده نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف(٪)

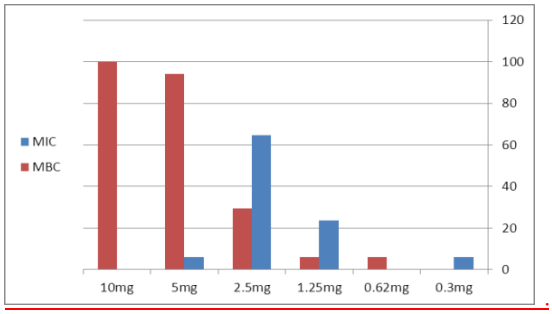
	تری متوپریم	آمپی سیلین	سفتا زیدیم	تترا سیکلین	اریترو مایسین	پنی سیلین	سفتر یاکسون	آمیکا سین	سفکستین
R	۷۰/٦	۷۰	۲۹/٤	۲۳/۵	۸۲/٤	۸۸/۲	۲۳/۵	۵/۹	۸۲/٤
S	۲۳/۵	۱۷/٦	۵۲/۹	۲۹/٤	۵/۹	۵/۹	۵/۹	۹٤/۱	۱۱/۸
I	۵/۹	۱۱/۸	۱۷/٦	٤۷/۱	۱۱/۸	۵/۹	۷۰/٦	۰	۵/۹

R: Resistant
S: Sensitive
I: Intermediate

در حالی که به طور تقریبی بیشترین MBC (حداقل غلظت کشندگی) در غلظت های 10mg و 5mg عصاره می باشد (شکل۲) و تمامی نمونه ها در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از بین رفته بودند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲: درصد حساسیت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به رقت های مختلف عصاره اکالیپتوس (میلی گرم/ میلی لیتر)

جدول ۳: الگوی حساسیتی سویه های مورد استفاده نسبت به غلظت های مختلف عصاره(٪)

غلظت عصاره مورد استفاده(میلی گرم/میلی لیتر)						
	۰/۳	۰/۶۲	۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰
MBC	۰	۰	۰	۰	۱۱/۷۶	۱۰۰
MIC	۰	۰	۰	۱۱/۷۶	۸۸/۲۳	۰

بحث و نتیجه گیری

با توجه به افزایش مقاومت باکتری‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، تلاش برای دستیابی به اطلاعات بیشتر در ارتباط با استفاده مؤثر از ترکیبات موجود در گیاهان و کاربرد آنها در درمان بیماری‌های مختلف صورت گرفته است. در این بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه اکالیپتوس بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک استافیلوکوکوس اورئوس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی عصاره الکلی اکالیپتوس حاکی از این است که عصاره الکلی این گیاه روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک دارای اثر قابل ملاحظه‌ای می باشد. به طوری که بیشترین اثر مهار کنندگی در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است. در یک مطالعه تحقیقاتی نشان داده شد اسانس اکالیپتوس بر روی باکتری گرم منفی اشریشیا کلی و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس دارای اثر مهاری بسیار بالایی می باشد، البته اثر آنتی باکتریال بر روی باکتری گرم منفی بیشتر از گرم مثبت می باشد(۱۲). خاصیت ضد میکروبی عصاره اکالیپتوس به خاطر وجود ترکیباتی از جمله 1,8-cineole, citronellol, citronellyl acetate, p-cymene می باشد(۱۳). در یک مطالعه تأثیر اسانس اکالیپتوس در برابر میکروارگانیسم های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که قطر هاله بازدارنده نسبت به شاهد بسیار قابل ملاحضه بود به طوری که این هاله در استرین های استرپتوکوکوس پیوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب مقدار ۵۱-۲۵ و ۴۸-۲۲ میلی متر و در استرین اشریشیا کلی ۴۷-۲۳ میلی متر مشاهده شد و همچنین مقادیر MBC, MIC برای میکروارگانیسم های مزبور کمتر 0/01mg/ml تعیین شد (۱۴) ولی نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که عصاره اکالیپتوس در غلظت های بالاتری (0/3-10 mg/ml) قادر به اثر بازدارندگی خود می باشد که این می تواند بعلت تفاوت استرین های مورد مطالعه و تا حدودی مربوط به گونه درختی اکالیپتوس مناطق مورد مطالعه باشد. در مطالعه مشابه دیگر نشان داده شد که عصاره برگ اکالیپتوس با غلظتهای ۶۴، ۳۲، و ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، استرپتوکوکوس پنومونه ای و هموفیلوس آنفلونزا اثر بازدارندگی معنی داری از خود نشان داد (۱۵) این غلظت ها تا حدودی بالاتر از غلظت های ما می باشد ولی گونه های باکتری دارای تنوع بیشتری بوده است. اثر بازدارندگی عصاره برگ اکالیپتوس بر روی فعالیت رشدی استرین استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده است که این عصاره در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر دارای اثر بازدارندگی بسیار خوبی بوده است (۱۶) که این مقدار تقریباً ده برابر غلظت مطالعات قبلی می باشد، ولی به هر حال با غلظت های بدست آمده برای اثر بازدارندگی بسیار فاصله دارد.

نتایج این تحقیق در میزان غلظت مورد استفاده با نتایج حاصل از سایر مطالعات متفاوت می باشد، بطوری که بهترین غلظت تعیین شده در این تحقیق در محدوده ۱۰-۵ میلی گرم در میلی لیتر می باشد. دلیل این افزایش میزان می تواند تا حدودی به علت تغییرات موجود در ماده موثره عصاره گیاهی باشد که با توجه به رویشگاه گیاهان مختلف

www.SID.ir

Archive of SID

و شرایط آب و هوایی مختلف می تواند متغیر باشند و بالطبع اثرات مختلفی بر روی میکروارگانیسم ها داشته باشند، ولی عامل اصلی در متغییر بودن داده ها عدم استفاده از استرین های باکتریایی مشابه می باشد. تاثیر دیسک ۵۰۰ میکروگرمی از عصاره هیدروالکی اکالیپتوس باعث ایجاد هاله های عدم رشد در استرین های مختلف باکتریایی مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده است که قطر این هاله در استرین *Bacillus subtilis* ۱۵ میلی متر، *S. typhi* ۱٤میلی متر و در *E. coli* و *S. aureus* به ترتیب ۱۲ و ۱۰ میلی متر تعیین گردید (۱۷). با توجه به نتایج فوق مشخص می شود که بیشترین میزان بازدارندگی مربوط به یک باکتری گرم مثبت می باشد که با توجه به نوع ساختار دیواره سلولی در باکتری های گرم مثبت و منفی می توان واکنش بین مواد تشکیل دهنده پپتیدوگلیکانی موجود در دیواره را در بازدارندگی دخیل دانست. در مطالعه ای دیگر نشان داده شده است که عصاره متانولی اکالیپتوس جدا شده از مناطق گرم مکزیک دارای اثر کشندگی و بازدارندگی به ترتیب ۱۰ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری های اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بوده اند. (۱۵)

بررسی واکنش حساسیت جدایه ها به آنتی بیوتیک ها نشان داد که بالاترین واکنش مقاومتی مربوط به آنتی بیوتیک پنی سیلین می باشد، در حالی که در یک مطالعه انجام شده روی جدایه های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کلینیکی که از منابع مختلف جدا شده بودند، آنتی بیوتیک های پنی سیلین و کلیندامایسین کمترین اثر بازدارندگی را نشان دادند که با نتایج ما مطابقت دارد، در همین حال ریفامپین و وانکومایسین بالاترین میزان تأثیر را در بازدارندگی رشد باکتری از خود نشان دادند (۱۸)، ولی در این مطالعه با توجه به مقاوم بودن استرین های باکتری مورد مطالعه، آنتی بیوتیک آمیکاسین بالاترین اثر بازدارندگی را دارا بود.

نتایج نشان داده از مطالعات مربوط به بررسی تأثیر عصاره این گیاه بر روی انواع باکتری ها تأیید کننده این موضوع است که عصاره گیاه اکالیپتوس قادر به کنترل باکتری های بیماری زای انسانی با شدت کم و زیاد می باشد. با توجه به دیرینه تاریخی استفاده از گیاهان دارویی نظیر اکالیپتوس در درمان بیماری های عفونی، آزمایشات مقطعی درحد تأثیر مستقیم سلول باکتری در شرایط آزمایشگاهی نمی تواند نتایج بدست آمده را برای درمان قطعی بیماری و بازدارندگی آن در داخل بدن بیمار توجیه نماید. نتایج این مطالعه هم نشان داد که عصاره اکالیپتوس توانایی مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را دارا می باشد و بنابراین می تواند به عنوان یک عامل گیاه دارویی کاهش دهنده رشد و بیماری زایی گونه استافیلوکوکس اورئوس باشد.

بدین ترتیب لازم است بعد از آزمایشات اولیه، میزان و نوع ماده مؤثره موجود در عصاره، آنالیز شده و مؤثرترین ماده موجود تجاری سازی و در خدمت صنعت داروسازی قرار گیرد. تعیین مقدار دوز موثره و فواصل تجویز مناسب از مصارف مقادیر بیش از حد و مکرر نیز یکی دیگر از مواردی است که در استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به ارزانی قیمت، آسانی دسترسی و تأثیرات قابل ملاحظه ضد باکتریایی عصاره های اکالیپتوس بر روی میکروارگانیسم های بیماریزا به خصوص بر روی باکتریهای پاتوژن زخم ها و جراحات درمانگاهی، عصاره مذکور می تواند به عنوان یک فرآورده گیاهی و دارویی طبیعی مورد توجه محققان و کاربران قرار گیرد. بهر حال آنالیز شیمیایی عصاره گیاه با استفاده از تکنیک های رایج در بخش آنالیز دستگاهی نظیر کروماتوگرافی توده ای و بررسی نقش هر یک از اجزاء تشکیل دهنده عصاره در جلوگیری از رشد باکتری ها به ویژه باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک های رایج می تواند نقش مؤثری را در فرموله کردن ماده مؤثره در صنایع دارو سازی داشته باشد.

استفاده از باکتری های استاندارد در ارزیابی نقش عصاره های گیاهی در مبارزه با باکتری های بیماری زای انسانی می تواند مؤثر و کارساز باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به نتایج حاصل چنین نتیجه گیری می شود که عصاره الکلی اکالیپتوس می تواند به عنوان بازدارنده رشد جدایه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به مناسب بودن غلظت های تعیین شده، برای جدایه های مطالعه شده، این عصاره کاندیدای مناسبی برای فرموله کردن در صنایع دارو سازی می باشد.

References:

1. Merlino J, Rose B, Harbour C. Rapid detection of non-multidrug-resistant and multidrug-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using cycling probe technology for the mecA gene. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2003;22(5):322-3.

2. Aligholi M, Emaneini M, Jabalameli F, Shahsavan S, Abdolmaleki Z, Sedaghat H, et al. Antibiotic susceptibility pattern of gram-positive cocci cultured from patients in three university hospitals in Tehran, Iran during 2001-2005. Acta Medica Iranica. 2009;47(4):329-34[Persian]

3. Harbarth S, Fankhauser C, Schrenzel J, Christenson J, Gervaz P, Bandiera-Clerc C, et al. Universal screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission and nosocomial infection in surgical patients. The Jjournal of the American Medical Association. 2008;299(10):1149-57.

4. Otter JA, French GL. Survival of nosocomial bacteria and spores on surfaces and inactivation by hydrogen peroxide vapor. Journal of Clinical Microbiology. 2009;47(1):205-7

5. Tiemersma EW, Bronzwaer S, Lyytikainen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. European antimicrobial resistance surveillance system participants (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe,1992-2002). Emerging Infectious Disease Journal. 2004;10(9): 27-34.

6. Weiss EA. Essential oil crops. USA. CabI press, 1997: 101-111

7. Wittman M, Petro W, Kaspar P. Zur Thrapie Chronisch Obstruktiver Atemwegser- Krankungen mit sekretolytika. Doppelblinder, randomisierter cross- over- Vergleich Zwischen cineol und Ambroxol. Atemw-Lungenkrkh. 1998;24:67-74.

8. Djenane D, Yangüela J, Amrouche T, Boubrit S, Boussad N, Roncalés P. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. Food Science and Technology International. 2011;17(6):505-15.

9. Gilles M, Zhao J, An M, Agboola S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oilsof three Australian Eucalyptus species. Food Chemistry. 2010;119(2):731-7.

10. Safaei-Ghomi J, Abbasi A. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. Pharmacognosy Magazine. 2010;6(23):172-5.

11. Guenther E. The production of essential oils. Methods of distillation, enfleurage, maceration, and extraction with volatile solvents. The Essential Oils, Van Nostrand Co Inc(Reprint), Princeton, New Jersey. 1965;1:92-5.

12. Bachir RG, Benali M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012;2(9):739-42.

13. Nezhad FM, Zeigham H, Mota A, Sattari M, Yadegar A. Antibacterial activity of Eucalyptus extracts on methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. Research Journal of Biological Sciences. 2009;4(8):905-8.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Đakov T. Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. Czech Journal of Food Sciences. 2011;29(3):277-84.

15. Salari M, Amine G, Shirazi M, Hafezi R, Mohammadypour M. Antibacterial effects of *Eucalyptus globulus* leaf extract on pathogenic bacteria isolated from specimens of patients with respiratory tract disorders. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(2):194-6.

16. Enciso-Díaz OJ, Méndez-Gutiérrez A, De Jesús LH, Sharma A, Villarreal ML, Taketa AC. Antibacterial Activity of *Bougainvillea glabra*, *Eucalyptus globulus* and *Gnaphalium attenuatum* Collected in Mexico. Pharmacology and Pharmacy. 2012;3(4):433-8.

17. Gupta V, George M, Joseph L, Singhal M, Singh H. Evaluation of Antibacterial activity of *Bougainvillea glabra* snow white and *Boungainvillea glabra* choicy. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2009;1(1):233-7.

18. Navarro V, Villarreal ML, Rojas G, Lozoya X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. Journal of Ethnopharmacology. 1996;53(3):143-7.

19. Abdoli Oskouie S, Ahangarzadeh Rezaee M, Ajhangh A, Abdinia B. Antimicrobial resistance pattern and Minimum Inhibitory Concentration of Vancomycin among *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens of Children in Tabriz. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2013;13(1):24-34 .[Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

Antibacterial effect of *Eucalyptus globules* against Resistance *Staphyloccocus aureus*

Saeedi Saeedeh[1], **Sabbagh Seyed Kazem**[2], Bazi Safora[3]

1- Expert of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, Peyam-Noor University, Zabol, Iran
2- (**Corresponding Author**), PhD of Plant Biotechnology, Department of Plant Protection and Institute of Plant Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Expert of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, Peyam-Noor University, Zabol, Iran.

Abstract:

Introduction: Due to the increasing resistance of pathogenic bacteria to common antibiotics and anti-microbial agents researchers are finding anti-microbial agents with plant origin as alternative drug. Eucalyptus is a plant of the family *Myrtaceae* with antimicrobial properties
Methods: Plant extraction from *Eucalyptus globule*s specie was prepared using maceration method. Sampling was carried out from nose and throat area of patients and seventeen strains of *S. aureous* were isolated and then purified. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bacterial Concentration (MBC) of plant extract were determined in six different concentrations using micro dilution broth method. Sensitivity of strains against some antibiotics was assayed using standard disc diffusion Corbei-baer.
Results: The results of this research showed that plant extraction of Eucalyptus has significant effect for MIC at a concentration of 5 mg/ml whereas the high MBC was observed at 10 mg/ml concentration. Assessment of antibacterial effect of some antibiotics showed that the majority of strains have similar sensitivities reaction but Penicillin and Cefexime showed the least antibiotic effect. All strains showed resistant reaction to Penicillin antibiotic whereas the highly sensitive reaction was observed to Amikacin antibiotic.
Conclusion: Plant extract of *E. globules* has anti-bacterial effect on studied *S. aureus* strains at high concentration. So these compounds could be used in pharmacological industry for medical treatments.
Key words: *Staphyloccocus aureus*, druge resistance, anti-microbal effects, *Eucalyptus*.

www.SID.ir