Archive of SID

مقاله پژوهشی

مقایسه فعالیت ضد باکتریایی روغن اسانسی تیموس و آمپیسیلین در شرایط اینویترو

دکتر ایرج رسولی *، دکتر محمدباقر رضایی **، اصغر کامرانی ***، بهنام زرپاک ****

چکیده:

بسیاری از گیاهان به علت داشتن روغن فرار نقش بزرگی در دارو سازی، صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی ایفا می نمایند. مطالعات زیادی روی گونه های مختلف گیاهی و تاثیر اسانس یا عصاره های آنها روی میکروارگانیسمها انجام شده است. در این مطالعه تاثیر ضد باکتریایی اسانس تیموس (Thymus x-porlock) ایران (آویشن) بر روی E.coli و S. aureus به عنوان دو پاتوژن و خاصیت ضد میکروبی آن با آمپیسیلین مقایسه می شود.

اسانس تیموس با روش تقطیر با بخار استخراج و تاثیر ضد میکربی آن با روش دیسک پلیت در رقتهای مختلف و در چهار مرحله متفاوت زمانی مطالعه شد. روغنهای فرار موثر در رقتهای مختلف در برابر سه رقت مختلف سوسپانسیون باکتریال قرار گرفتند تا MBC و MIC آنها تعیین گردند.

اسانس تیموس در رقت باکتریسیدال ۱/۱۶ هاله توقف رشد E.coli را به قطر ۱۷ میلی متر و در رقت باکتریسیدال ۱/۸ هاله توقف رشد S.aureus را به قطر ۲۲ میلی متر ایجاد کرد. رقتهای فوق تا دو ماه پس از اسانس گیری کیفیت ضد میکربی خود را نشان دادند که در غلظتهای بالاتر به مدتهای مدیدی قابل نگهداری و فعالیت هستند. تاثیر ضد میکربی آمپیسیلین نیز در رقتهای مختلف با همان روشهای فوق بررسی و نتایج مقایسه شدند. آمپیسیلین در رقت باکتریسیدال ٤μg/ml با قطر ۱۱ میلی متری هاله توقف رشد در خصوص E. coli و در رقت ۶μg/ml با قطر ۲۳ میلیمتری در خصوص S.aureus خاصیت میکرب کشی دارد.

اسانس تیموس قدرت ضد باکتریایی بسیار خوبی داشته ودر مدت کوتاه بهترین تاثیر خود را نشان می دهد.

کلید واژه ها: آمپیسیلین / آویشن / استافیلوکوک طلایی / اشریشیا کلی / ضد باکتریایی

مقدمه:

عفونتهای میکربی تهدید جدی برای سلامتی، مخصوصا در افراد با بنیه ایمنی ضعیف بوده و لذا نیاز به یافتن مواد ضد میکربی ارزان و موثر را ایجاب می کند.

بعلاوه استفاده آنتی اکسیدانها از منابع طبیعی برای افزایش طول عمر محصولات غذایی و ثبات چربیها و روغنهای غنی از نظراسیدهای چرب اشباع نشده، مقبولیت بیشتری می یابد. اسانسها ترکیبات معطری هستند که در اندام های

* دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد
** دانشیار گروه شیمی ـ موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
*** عضو هیأت علمی گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد
**** عضو هیأت علمی گروه ریاضی دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف گیاهان یافت می شوند. بسیاری از فراورده های خام گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به طور مستقیم در پزشکی مصرف می شوند ولی در بیشتر موارد روغن های فرار را از مواد خام جدا نموده و به عنوان دارو به کار می برند. روغنهای فرار علاوه بر این از نظر اقتصادی نیز نقش بزرگی در دارو سازی ، صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی ایفا می نمایند. خواص ضد میکربی روغنهای اسانسی از زمانهای قدیم شناخته شده و مطالعات زیادی روی گونه های مختلف گیاهی و تاثیر اسانس یا عصاره های آنها روی میکروارگانیسمها انجام شده است (۹-۱). Karaman و همکاران خواص ضد میکربی ترکیبات روغنهای فرار را روی یازده گونه باکتری از جمله E.coli و S.aureus مورد مطالعه قرار دادند(۱۰). Claudia و همکارانش گزارش کردند که فعالیتهای ضد میکربی روغنهای اسانسی حاصله از Thymus herba-barona Loisel بر روی باکتریها متغیر بوده و باکتریهای گرم مثبت تاثیر پذیرترند(۱۱). Bagci و Digrak پس از مطالعه اثرات ضد میکربی انواع روغنهای اسانسی، آنها را به سه دسته بی تاثیر، کم تاثیر و بسیار موثر طبقه بندی نمودند. در مطالعه آنها E.coli کمترین تأثیر پذیری را داشت(۱۲). مطالعات Roussis و همکارانش تاثیر پذیری E.coli و مقاومت S.aureus را در برابر روغنهای اسانسی Lamium garganicum نشان داد(۱۳). ترکیبات اصلی روغنهای فرار گیاهانی که روی میکربهای معینی اثر کشندگی داشتند توسط Lis-Balchin و همکارانش مقایسه شده اند(۷).

تیموس (Thymus x-porlock) یا آویشن یکی از گیاهانی است که دارای خواص ضد میکربی قوی نسبت به گیاهان دیگر می باشد (۱۴،۱۵). این خواص ضد میکربی مربوط به ترکیبات شیمیایی تیموس بوده (۱۶) که از گونه ای به گونه دیگر تیموس و حتی در داخل یک گونه متفاوت است (۱۷). هرچند بیشتر مطالعات بجای تاثیر کشندگی بر روی هاله توقف رشد میکربی ایجاد شده بوسیله اسانسها انجام شده است ، لیکن اخیراً Tatoui-Elaraki و همکارانش تاثیر میکرب کشی چند نوع تیموس مراکشی را مطالعه کرده اند(۱۸). مطالعات Lattaoui و Elaraki بر روی خواص میکرب کشی چند نوع تیموس خاصیت ضد C.albicans آن را نسبت به فعالیت ضد S.aureus تیموس گزارش نموده است(۱۹). Olga و همکارانش فعالیت ضد میکربی سه کیموتیپ تیموس را مطالعه و تفاوتهای خواص ضد میکروبی آنها را گزارش کرده اند(۲۰).

کشورما دارای منابع طبیعی فراوان وکشف نشده ای است و از سوی دیگر در فرهنگ سنتی ایرانیان رغبت بیشتری نسبت به استفاده از گیاهان دارویی به اشکال مختلف مشاهده می شود. بروز عفونتها و ایجاد مقاومتهای میکربی در برابر داروها مشکل جدی است و نیاز به یافتن مواد ضد میکربی ارزان و موثر را ایجاب می کند. در راستای این هدف، تاثیر ضد باکتریایی اسانس تیموس ایران بر روی E.coli و S. aureus به عنوان دو پاتوژن و خاصیت ضد میکروبی آن با آمپیسیلین مقایسه می شود.

روش کار:

جمع آوری، خشک کردن و اسانس گیری گیاهان:

تیموس از باغ ملی گیاه شناسی در فصل پاییز پس از شناسایی دقیق جمع آوری شد. اندام های هوایی گیاه در سایه و یا توسط دستگاه خشک کن برقی در حرارت معمولی (۳۰-۳۵ °C) خشک و در صورت نیاز با آسیاب برقی پودر شده و اسانس گیری صورت گرفت ، ۵۰۰ گرم اندام خشک شده گیاه را در مخزن مخصوص دستگاه تقطیر با بخار آب قرار داده توسط جریان بخار آب اسانس گیری شد. بلافاصله پس از استخراج اسانس، در آزمایشات اولیه به عنوان اسانس تازه مورد استفاده قرار گرفت و سپس در ویالهای سربسته ریخته با فویل آلومینیوم پوشانده شده و در داخل یخچال نگهداری شدند ، با گذشت یک ، دو و سه ماه مجدداً مورد آزمایش قرار گرفتند .

بررسی اثرات ضد میکروبی :

برای مطالعه اثرات ضد میکروبی بر روی E.coli ATCC No 25922 وS.aureus ATCC No 25923 ازدو روش انتشار (Diffusion test) و رقت (Dilution test) استفاده شد که از میان روشهای انتشار از روش دیسک پلیت (Disk -plate method) و از میان روشهای رقت از روش رقت لوله ای استفاده شد (۲۱،۲۲).

روش دیسک پلیت :

در روش دیسک پلیت از کاغذ و اتمن شماره ۱ دیسکهایی به قطر ۶ میلیمتر تهیه شد. غلظت

www.SID.ir

Archive of SID

سوسپانسیون میکروبی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (۵۸۰ nm) به میزان 10^8 میکرو ارگانیسم در هر میلی لیتر تعیین و بر همان اساس رقت های ۱/۱۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۱۰۰۰ تهیه گردیدند. بعد از کشت میکروب مورد نظر به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار دیسکهای استریل تهیه شده را توسط پنس استریل با فاصله مناسب از یکدیگر و از لبه پلیت، روی سطح پلیت آلوده به میکروب قرار داده و بعد از تماس کامل با محیط کشت، با میکروپیپت استریل مقدار۱۰µl از رقتهای اسانس گیاهی روی دیسکها ریخته شد. در خصوص آنتی بیوتیک آمپیسیلین، مقدار ۱۰µl از رقتهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ µg/ml آمپیسیلین روی دیسکها ریخته شد و بدین ترتیب دیسکها محتوی به ترتیب ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ µg آمپیسیلین شده و سپس آنتی بیوگرام انجام شد. بعد از انجام مراحل فوق پلیتها را در داخل انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت ، قطر مناطق عدم رشد توسط کولیس اندازه گیری شدند.

روش رقت لوله ای:

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimal Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (Minimal Bactericidal Concentration) ، از روش رقت لوله ای استفاده شد. مقدار ۵۰µl اسانس با رقتهای۱/۶۴، ۱/۳۲، ۱/۱۶، ۱/۸، ۱/۴، ۱/۲ و ۱ و میزان۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ µg /ml آمپیسیلین در۵ ml سوسپانسیون میکروبی محتوی 10^7/ml باکتری ریخته و پس از هم زدن در انکوباتور به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار داده شد وسپس به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۸۰ nm جمعیت میکروبی تعیین و در نتیجه MIC مشخص گردید سپس از هر کدام از لوله ها که رشد جمعیت نشان نداده بودند ۰/۱ ml روی پلیت حاوی نوترینت آگار کشت داده شد تا MBC مشخص گردد.

تاثیر حلالها بر میکروارگانیسمهای مورد مطالعه :

تأثیر حلالهای مختلف که در رقیق سازی اسانسها مورد استفاده قرار می گیرند بدون رقیق سازی خود آنها تهیه و روی میکروبهای مورد مطالعه با روشهای انتشار و رقت آزمایش شد. کلیه رقتها با حلالی که در آزمایشات تاثیر حلالها بر میکروارگانیسمها تاثیر باکتریسیدی یا باکتری استاتیکی نداشت (متانول) تهیه شدند. در کلیه مراحل آزمایشات از متانول به عنوان شاهد مواد ضد میکروبی استفاده شد.

مطالعه زمان باکتریسیدی :

رقتهای۱/۱۰ ، ۱/۱۰۰ ، ۱/۱۰۰۰ از سوسپانسیونهای میکروبی محتوی 10^8 باکتری تهیه و مقدار ۵۰µl اسانس یا آنتی بیوتیک در غلظت کشنده که در آزمایش تعیین MBC مشخص شد، در ۵ml سوسپانسیون ریخته و در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۱۲۰دقیقه، مقدار ۱۰µl از هر لوله برداشته پس از رقیق سازی به نسبتهای ۱/۱۰، ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰ ر وی سطح محیط نوترینت آگار قرار داده با میله شیشه ای استریل به طور یکنواخت گسترده شدند. پلیتها را به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور گذاشته و سپس تعداد کلنی ها با کلنی کانتر شمارش شده با ضرب عکس رقت در تعداد کلنی ها تعداد باکتریهای زنده در هر میلی لیتر سوسپانسیون تعیین و درمحاسبات نموداری به صورت درصد ثبت شد.

روش آماری :

آنالیز واریانس دو طرفه برای مطالعات آماری مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج :

تاثیر ضد میکربی اسانس اندام هوایی تیموس و آمپیسیلین بر E.coli و S.aureus با روش دیسک پلیت در رقتهای مختلف و در چهار مرحله زمانی متفاوت به صورت اسانس تازه و یک تا سه ماهه مطالعه شد. آزمون آماری مبتنی بر اندازه قطر هاله های توقف رشد میکروبی نشان دادکه گذشت زمان در اکثر موارد در قدرت ضد میکروبی اسانس ، تاثیر دارد. متانول به عنوان حلال مورد استفاده در تهیه رقتهای اسانس، در غلظتهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۲ درصد (حجم در حجم) تأثیری بر رشد میکروارگانیسمهای مورد مطالعه نداشت. روغن قرار تازه در رقتهای مختلف در برابر سوسپانسیون باکتریال محتوی 10^7 میکروارگانیسم در میلی لیتر قرار گرفتند. اسانس تیموس تا رقت ۱/۸ نسبت به S.aureus و تا رقت ۱/۱۶ نسبت به E.coli تاثیر کشندگی داشت. بر اساس اندازه قطر هاله ها در رقتهای مختلف اسانس با قطر ۱۷ میلیمتری هاله توقف رشد در خصوص E.coli و قطر ۲۲ میلیمتری در خصوص S.aureus خاصیت باکتریسیدال

www.SID.ir

Archive of SID

دارد. آزمون آماری تأثیر رقت اسانس را نیز تایید کرد. اندازه قطر هاله های توقف رشد با خاصیت باکتریسیدالی اسانس و آمپیسیلین در مورد S.aureus تقریبا یکسان بود ولی این معیار در خصوص E . coli متفاوت بود و قطر هاله باکتریسیدالی اسانس در خصوص E. Coli به میزان۶ میلیمتر بیشتر از آمپیسیلین بود (جدول ۱) .

جدول ۱ : تأثیر رقتهای مختلف اسانس تیموس بر E.coli (Ec) و S.aureus (Sa) و تأثیر زمان

رقت اسانس / زمان مطالعه و باکتری MIC/MBC	۱/۶۴		۱/۳۲		۱/۱۶		۱/۸		۱/۴		۱/۲		۱	
	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec
اسانس تازه تیموس	R	12	8	15	18	17	22	21	24	23	27	31	52	56
MIC/MBC اسانس تازه	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
اسانس یک ماهه تیموس	R	12	8	15	18	17	22	21	24	23	26	31	52	55
اسانس دو ماهه تیموس	R	12	8	15	15	17	20	20	22	22	24	29	50	52
اسانس سه ماهه تیموس	R	10	R	13	14	15	17	19	19	20	22	26	48	50

+ تأثیر گذاری - عدم تأثیر اعداد : قطر هاله توقف رشد بر حسب میلی متر

رقتهای مختلف روغن فرار تازه تیموس در برابر سه رقت مختلف سوسپانسیون باکتریال 10^5، 10^6و 10^7 درمیلی‌لیتر قرار داده شدند تا درصد میکروب کشی آنها در زمانهای مختلف و MIC و MBC آنها بدست آید (جدول ۲).

جدول ۲ : حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) رقتهای مختلف اسانس تازه تیموس علیه رقتهای مختلف سوسپانسیون (10^8/ml) *E.coli* و *S.aureus*

رقتهای سوسپانسیون باکتریایی	باکتری	MIC/MBC	رقتهای اسانس				
			۱	۱/۲	۱/۴	۱/۸	۱/۱۶
۱/۱۰	*E.coli*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰	*E.coli*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰۰	*E.coli*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰	*S.aureus*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-
۱/۱۰۰	*S.aureus*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-
۱/۱۰۰۰	*S.aureus*	MIC/MBC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

+ تأثیر گذاری - عدم تأثیر

www.SID.ir

Archive of SID

آمپیسیلین در رقت ۴μg/ml قدرت کشندگی خود را در برابر تمام رقتهای E.coli و رقتهای ۱/۱۰۰ و ۱/۱۰۰۰ S.aureus نشان داد و در همین رقت قادر به مهار کلیه رقتهای سوسپانسیون باکتریایی بود . بهترین تأثیر باکتریسیدالی آمپیسیلین بر S.aureus در رقت آنتی بیوتیکی ۶ μg/ml بود (جدول ۳).

جدول ۳ : اثر ضد میکربی غلظتهای مختلف آمپیسیلین

رقتهای سوسپانسیون باکتریایی	نام باکتری	آزمایش	μg آمپیسیلین در هر ml سوسپانسیون باکتریال								
			۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰
کشت چمنی	*E.coli*	قطر هاله	۶	۸	۱۱	۱۴	۱۶	۱۸	۲۵	۲۷	۳۰
۱/۱۰	*E.coli*	MIC/MBC	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰	*E.coli*	MIC/MBC	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰۰	*E.coli*	MIC/MBC	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
کشت چمنی	*S. aureus*	قطر هاله	۶	۹	۱۵	۲۳	۲۷	۲۹	۳۱	۳۵	۳۸
۱/۱۰	*S. aureus*	MIC/MBC	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰	*S. aureus*	MIC/MBC	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
۱/۱۰۰۰	*S. aureus*	MIC/MBC	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

اعداد : قطر هاله توقف رشد برحسب میلی متر قطر دیسک آنتی بیوگرام برابر ۶ میلی متر است

علامت (-) به معنی رشد و تکثیر میکروارگانیسمها و عدم تأثیر آنتی بیوتیک در رشد و تکثیر آنها و علامت (+) به معنی تأثیر مهارکنندگی (MIC) یا تأثیر کشندگی (MBC) آنتی بیوتیک است

سینتیک کاهش جمعیت میکروبی بر حسب درصد در حداقل رقتهای باکتریسیدال اسانس و آنتی بیوتیک در زمانهای مختلف نشان داد که در اکثر موارد تراکم باکتریایی در تأثیر ضد میکروبی روغن فرار موثر نیستند(جدول ۴).

جدول ۴ : سینتیک کاهش جمعیت میکروبی *E.coli* و*S.aureus* (بر حسب درصد) تحت تاثیر حد اقل رقتهای باکتریسیدال (MBC) اسانس تیموس و آمپیسیلین در زمانها و رقتهای مختلف سوسپانسیون میکروبی

نام ماده ضد میکروب	نام باکتری	رقت سوسپانسیون میکروبی	زمان به دقیقه						
			۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
اسانس تیموس	*E.coli*	۱/۱۰	۱۰۰	۵۰	۵۰	۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*E.coli*	۱/۱۰	۱۰۰	۹۰	۹۰	۰	۰	۰	۰
اسانس تیموس	*E.coli*	۱/۱۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰	۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*E.coli*	۱/۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۷۰	۰	۰	۰	۰
اسانس تیموس	*E.coli*	۱/۱۰۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰	۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*E.coli*	۱/۱۰۰۰	۱۰۰	۷۰	۵۰	۰	۰	۰	۰
اسانس تیموس	*S.aureus*	۱/۱۰	۱۰۰	۸۰	۵۰	۱۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*S.aureus*	۱/۱۰	۱۰۰	۹۰	۸۰	۷۰	۵۰	۱۰	۰
اسانس تیموس	*S.aureus*	۱/۱۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰	۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*S.aureus*	۱/۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۷۰	۶۰	۵۰	۵	۰
اسانس تیموس	*S.aureus*	۱/۱۰۰۰	۱۰۰	۷۰	۵۰	۰	۰	۰	۰
آمپیسیلین	*S.aureus*	۱/۱۰۰۰	۱۰۰	۷۰	۶۰	۵۰	۵۰	۰	۰

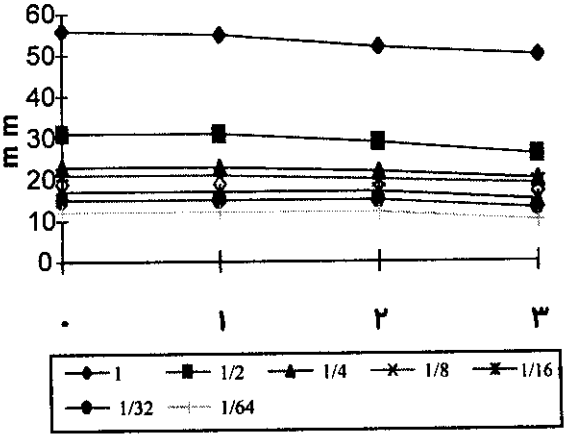
تعداد باکتری در هر میلی لیتر سوسپانسیون اولیه برابر 10^8 می باشد.

رقت اسانس تازه تیموس (*Thymus x-porlock*) برای *E.coli* ۱/۱۶ و برای *S.aureus* ۱/۸ بود. رقت آمپیسیلین برای *E.coli* (4 μg/ml) و برای *S.aureus* (6 μg/ml) بود.

www.SID.ir

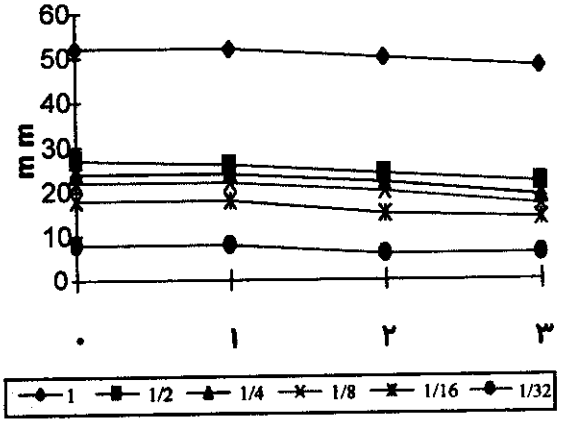
Archive of SID

اسانس تیموس در رقت۱/۱۶ هاله توقف رشد E . coli را به قطر ۱۷ میلی متر و در رقت ۱/۸ هاله توقف رشد S.aureus را به قطر ۲۲ میلی متر ایجاد کرده و قدرت مهار کنندگی (MIC) خود را در برابر کلیه رقتهای باکتریال و قدرت کشندگی (MBC) خود را در برابر رقت ۱/۱۰۰۰ سوسپانسیون باکتریایی S.aureus نشان داد. رقتهای فوق تا دو ماه پس از اسانس گیری حفظ کیفیت خود را نشان می دهند و در غلظتهای بالاتر مدتهای مدیدی قابل نگهداری و تأثیر گذاری هستند (نمودار۲و۱).



نمودار۱ : تاثیررقتهای مختلف اسانس تیموس بر *E.coli* در زمانهای مختلف پس ازاسانس گیری

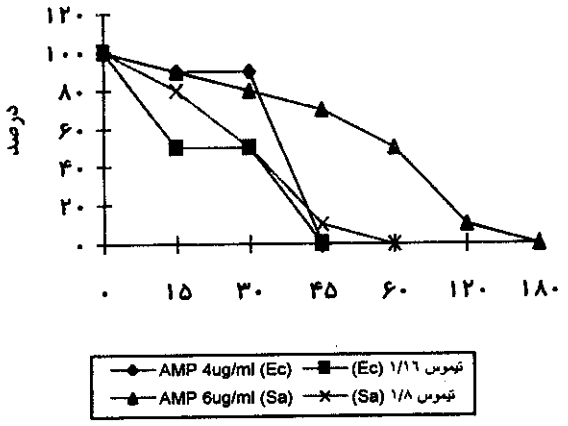
محور طولی زمان(ماه) و محور عمودی قطر هاله توقف رشد باکتری بر حسب میلیمتر قطر دیسک ۶ میلی متر



نمودار ۲: تاثیر رقتهای مختلف اسانس تیموس بر *S.aureus* در زمانهای مختلف پس ازاسانس گیری

محور طولی زمان(ماه) و محور عمودی قطر هاله توقف رشد باکتری بر حسب میلیمتر قطر دیسک ۶ میلی متر

در نمودار ۳ روند کاهش جمعیت میکروبی تحت تأثیر اسانس و آمپیسیلین مقایسه شده اند.



نمودار۳ : مقایسه روند کاهش جمعیت *E.coli* و *S. aureus* با رقتهای باکتریسیدال آمپیسیلین و اسانس تیموس

حداقل غلظت کشنده آمپیسیلین در خصوص *E.coli* برابر۴µg/ml و در خصوص *S. aureus* برابر۶µg/ml و اسانس تیموس رقت ۱/۱۶ در خصوص *E.coli* و رقت ۱/۸ در خصوص *S. aureus* می باشد تراکم باکتریایی 10^7/ml

بحث:

اختلاف تاثیر روغنهای فرار بر عوامل بیماریزا نشان دهنده ترکیبات شیمیایی موثر متفاوت و خاص هر گیاه نسبت به یکدیگر و نسبت به عوامل بیماریزاست. هر چند قطر هاله ها تحت تاثیر عوامل دیگری از جمله اندازه ملکولی و نفوذ پذیری ماده ضد میکروبی در محیط آگار قرار دارد (۲۳،۲۴). مطالعه تاثیر ضد میکروبی روغن فرار و زمان تاثیر گذاری آن در رقتهای به دست آمده بر سه رقت 10^5، 10^6و 10^7 باکتری در هر میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی نشان می دهد که هر چه تعداد باکتری کمتر باشد زمان میکرب کشی کوتاهتر است و این موضوع در خصوص آمپیسیلین نیز صدق می کند. King و همکارانش نشان دادند که برای کشتن تراکم بیشتر باکتریایی، مقدار بیشتر ماده ضد میکروبی لازم است(۲۵). اخیراً این امر در خصوص فعالیت ضد میکربی اسانسها نیز تایید شده است(۲۶) ، مطالعه حاضر نظرات فوق را تایید می کند.

نتایج به دست آمده نشان می دهند که فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

ضد میکروبی روغنهای اسانسی در غلظت هـای مختلـف متفاوت بوده و باکتری گرم منفی *E.coli* تـاثیر پذیـری بیشتری داشته است و در مقابل ۱۸۰ دقیقـه زمـان لازم برای آمپیسیلین، در برابر اسانس تیمـوس در عـرض ۶۰ دقیقه کشته شدند. مقاومت *S.aureus* در برابر گونه های تیموس قبلا گزارش شده است (۱۹) و بـه نظـر میرسـد گونه ایرانی خاصیت میکرب کشی بهتر و قویتری داشـته باشد. مطالعات مشابه دیگران با گونه های دیگر تیمـوس و مقایسه با مواد ضد میکروب مانند کلر هگزیدین نشـان میدهد که فعالیت ضد میکروبـی تیمـوس قویـتر بـوده و باکتریهای گرم مثبت تاثیر پذیری بیشتری داشتند(۱۱). در مطالعه حاضر زمان میکرب کشی اسانس در رقتـهای باکتریسـیدال، کوتـاهتر از آمپیسـیلین بـود کـه نشـان دهنده قدرت و اهمیت ضد میکربی اسانس تیموس مـی باشد. یافته های این مطالعه می توانـد مشـوق محققیـن در جستجو و یـافتن منـابع سـالم، ارزان و طبیعـی ضـد میکروب باشد.

سپاسگزاری:

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت و شورای پژوهشی محترم دانشگاه شـاهد کـه بـا تـامین بودجه امکان عملی شدن ایـن طـرح را میسـر سـاختند اعلام میداریم. همچنین از زحمات کارشناسان آزمایشگاه بیولوژی آقایان محمد حبیبی و حسین اسمعیل زاد نامی و ماشین نویس محترمه سرکار خانم مریم رمضانی تشکر می نمائیم.

منابع:

1. Milhau G, Valentin A, Benoit F, et al. In vitro antimicrobial activity of eight essential oils. J. Essent. Oil Res 1997; 9: 329-333.
2. Benoit F, Valentin A, Pelissier Y, et al. Antimicrobial activity in vitro of Cochlospermum linctorium tubercle extracts. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1995; 89: 217-218.
3. Udeinya IJ. Antimicrobial activity of nigerian Neem leaves. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1993; 87: 471-476.
4. Bishop CD, Thornton IB. Evaluation of the antifungal activity of the essential oils of Monarda citriodora var. citriodora and Melaleuca alternifolia on post harvest pathogens. J Essent Oil Res 1997; 9: 77-82.
5. Singh HB, Handique AK. Antifungal activity of the essential oil of Hyptis suaveolens and its efficacy in biocontrol measures in combination with Trichoderma harzianum. J Essent Oil Res 1997; 9: 683-687.
6. Chao SC, Young DG, Oberg GJ. Effect of a diffused essential oil blend on bacterial bioaerosols. J Essent Oil Res 1998; 10: 517-523.
7. Lis-Balchin M, Deans SG, Eaglesham E. Relationship between biactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour and Fragr. J 1998; 13: 98-104.
8. Tiziana Baratta M, Damien Dorman HJ, Deans SG, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour and Fragr. J 1998; 13: 235-244.
9. Chalchat J, Garry R, Menut C, et al. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J Essent Oil Res 1997; 9: 67-75.
10. Karaman S, Digrak M, Ravid U, et al. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of Thymus revolutus Celak from Turkey. J Ethnopharmacol 2001; 72: 183-186.
11. Claudia J, Antonella M, Marianna U. Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of Thymua herba-barona Loisel growing wild in Sardinia. J Essent Oil Res 2000; 12: 516-522.
12. Bagci E, Digrak M. Antimicrobial activity of essential oils of some Abies (Fir) species from Turkey. Flav Fragr J 1996; 11: 251-256.
13. Roussis V. Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of Lamium garganicum L. ssp. laevigatum Arcangeli . J Essent Oil Res 1996; 8: 291-293.
14. Benjilali B, Tantaoui - Elaraki A, Ayadi A, et al. Method to study antimicrobial effects of essential oils-Application to the antifungal activity of six Moroccan essences. J Food Protec 1984; 47:748-752.
15. Benjilali B, Tantaoui - Elaraki A, Ismaili-Alaoui M, et al. Method d'etudes des propertes antiseptiques

www.SID.ir

Archive of SID

des huiles essentielles par contact direct en milieu gelose. Plantes Med Phytother 1986; 20:155-167.
16. Stahl-iskup E. The chemical composition of Thymus oils: A review of the literature 1960-1989. J Essent Oil Res 1991; 3: 61-82.
17. Granger R, Passet J. Thymus vulgaris spontane en France. Races chimiques et chimiotaxanomie. Phytopharmacie. 1973; 12: 1683-1691.
18. Tantaoui – Elaraki A, Lattaoui N, Errifi A, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Thymus broussonettii, T. zygis and T.satureioides. J Essent Oil Res 1993; 5: 45-53.
19. Lattaoui N, Tantaoui-Elaraki A. Comparative kinetics of microbial destruction by the essential oils of Thymus broussonettii, T. zygis and T.satureoides. J Essent Oil Res 1994; 6:165-171.
20. Olga T, Eumorphia V, Vassilios R, et al. Chemical composition and antibacteria properties of Thymus longicaulis subsp. Chaoubardii oils: Three chemotypes in the same population. J Essent Oil Res 1998; 10: 97-99.
21. Madigan MT, Martino JM, Parker J. Biology of Microorganisms. 8th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997: 876-879.
22. Walters NJ, Estridge BH, Reynolds AP. Basic Medical Laboratory Techniques,3rd ed. New York: Delmar Publishers ,1996: 475-529.
23. Wistriech GA. Microbiology Laboratory. New Jersey: Prentice Hall, 1997: 319-325.
24. Black JG. Microbiology, Principles and Applications. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996: 366-369.
25. King AD, Bayne HG, Jurd L, et al. Antimicrobial properties of natural phenols and related compounds: obtusastyrene and dihydroobtusastyrene. Antimicrob. Agents Chemother 1972; 1:263-267.
26. Remmal A, Tantaoui- Elaraki A, Bouchikhi T, et al. New developments in the methodology to study essential oils antimicrobial activity in agar medium. J Essent Oil Res 1993; 5: 179-184.

www.SID.ir