

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های میوه و دانه به (*Cydonia oblonga*) بر روی برخی باکتری‌های عامل عفونت پوستی

حامد علیزاده^۱، رضا شاپوری^۲، رسول شکر^۳، لیلا دولتیاری^۴

۱- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان- ایران. Hamedalizadeh1986@yahoo.com
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دانشکده علوم پایه و پزشکی، استادیار، گروه میکروبیولوژی، زنجان- ایران.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دانشکده علوم پایه و پزشکی، عضو هیات علمی، گروه میکروبیولوژی، زنجان- ایران.
۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دانشکده علوم پایه و پزشکی، عضو هیات علمی، گروه شیمی، زنجان- ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۹

چکیده

عفونت‌های پوستی یکی از مشکلات پزشکی بوده و برخی از باکتری‌ها جزء عوامل بیماری‌زایی در این عفونت‌ها می‌باشند. درمان این عفونت‌ها با آنتی بیوتیک‌ها عوارض ناخواسته‌ای نظیر مقاومت‌های دارویی را در پی دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های اتانولی، استونی و آبی میوه و دانه به (*Cydonia oblonga*) بر روی باکتری‌های پوستی سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. در این مطالعه پس از تهیه عصاره‌ها اثرات ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های مذکور با روش‌های انتشار چاهکی، تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) با روش رقت لوله‌ای در برات انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی دانه به موثرترین عصاره در این مطالعه است. هم‌چنین عصاره‌های دانه در مقایسه با عصاره‌های میوه اثر آنتی باکتریال قوی‌تری دارند. عصاره‌های آبی در این مطالعه اثر ضد میکروبی از خود نشان ندادند. کلید واژه: عصاره‌های میوه و دانه به، اثر ضد میکروبی، باکتری‌های پوستی.

مقدمه

که دارای ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، آنتی میکروبیال و ضد جراثیم (Antiulcerative) می‌باشد (۹). به گیاهی درختچه‌ای یا درختی از خانواده گل سرخ است (۴). به در ایران یک گونه گیاه درختی خودرو دارد ولی انواع پیوندی و اصلاح شده آن نیز در باغداری وارد شده است. پراکنش به در ایران اکثراً در نواحی شمال و شمال غرب به خصوص استان‌های گیلان، آذربایجان، لرستان و کرمانشاه است (۳ و ۶). از طرفی ۷۵٪ محصول جهانی به دانه دنیا از ایران تامین می‌شود (۱۸). به میوه‌ای از خانواده سیب و گلابی است ولی رنگ آن زرد بوده و دانه‌های آن معمولاً

امروزه با توجه به مقاومت روز افزونی که باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مشتق از میکروارگانیسم‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان به عنوان ترکیب‌هایی طبیعی که اثرات کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماری‌زا دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۱). گونه‌های مختلف درخت به (*Cydonia oblonga*)، منبع طبیعی بسیار خوبی از فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی هستند که جزء مواد موثره و درمانی گیاهان محسوب می‌شود. در حقیقت، میوه به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع برای سلامتی انسان است

تهیه عصاره آبی از ۲۵ گرم پودر خشک به دانه و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل و برای تهیه عصاره اتانولی از ۲۵ گرم پودر خشک به دانه و ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ (شرکت مرک آلمان)، برای تهیه عصاره استونی از ۳۰ گرم پودر خشک به دانه و ۲۰۰ میلی لیتر استون خالص (شرکت مرک آلمان) و برای تهیه عصاره‌های میوه از ۵۰ گرم میوه ی خرد شده به همراه ۲۰۰ میلی لیتر از حلال‌های استفاده شده برای عصاره‌های به دانه، استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت عصاره‌ها پس از عبور از صافی با دور ۲۵۰۰ ROTIXDA 50 به مدت ۲۰ دقیقه با سانتریفوژ مدل RS ساخت کمپانی HETTICH سانتریفوژ گردیدند. عصاره‌ها با روش تقطیر در خلا تغلیظ و تا جایی که حلال آن‌ها از عصاره جدا و سپس عصاره‌های تهیه شده تا زمان استفاده در فریزر نگه داری شدند. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های تهیه شده از روش انتشار چاهکی در آگار به منظور غربال‌گری استفاده شد. در این روش ابتدا علاوه بر عصاره‌های خالص، از رقت‌های ۱:۱۰، ۱:۲۰، ۱:۴۰ و ۱:۸۰ عصاره‌های خالص تهیه و درون چاهک‌هایی به قطر حدود ۵ میلی متر که محتوی ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ($10^8 \times 1/5$ باکتری) هر باکتری است در پلیت‌های محتوی محیط کشت مولر هیتتون آگار اضافه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند (۱۴)، پس از آن قطر‌هاله‌های عدم رشد باکتری اندازه‌گیری شدند. جهت جلوگیری از احتمال وقوع خطا در مراحل کار، این آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام گردید. میزان حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) با روش رقت در برات تعیین شد. ابتدا از عصاره‌های تهیه شده سه مجموعه سریال رقتی با رقت‌های ۱:۱۰، ۱:۲۰، ۱:۴۰، ۱:۸۰، ۱:۱۶۰، ۱:۳۲۰ و ۱:۶۴۰ در لوله‌های حاوی ۱ میلی لیتر محیط مولر هیتتون برات تهیه و سپس برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش یک سری از سریال‌های رقتی تهیه شده به کار برده و به هر کدام از رقت‌ها به

بیشتر از دانه‌های سیب و گلابی است. روی دانه‌های به پوشیده از یک ماده موسیلاژی است و نیز موسیلاژ درون دانه پس از مجاورت با آب از سلول‌های اپیدرم پوششی دانه به بیرون ترشح می‌شود (۱۳). باکتری‌های فلور پوست به عنوان عوامل فرصت طلب در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و نیز بوی ناخوشایند بدن انسان نقش مهمی دارند. گزارش‌هایی از آلودگی با استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس بعد از عمل جراحی سرخرگ آئورت (۱۶) و نیز به عنوان یکی از عوامل ایجاد عفونت بیمارستانی موجود است (۵). استافیلوکوک‌ها از کوکسی‌های تب‌زای اصلی بوده و عامل بیش از ۸۰٪ عفونت‌های چرک‌زا می‌باشند که قادرند شرایط بسیار متفاوتی نظیر جوش (فرانکل و کربانکل)، فولیکولیت، زرد زخم پوستی، عفونت‌های سوختگی و سندرم فلسی شدن پوست را ایجاد نمایند (۸). سودوموناس آئروژینوزا اغلب در روده و پوست انسان به تعداد کم وجود دارد و در نواحی آسیب دیده‌ی دفاعی بدن بیماری‌زای بزرگی است. این باکتری در برابر بسیاری از عوامل ضد میکروبی، مقاوم است. این باکتری عامل عفونت‌های زخم و سوختگی‌ها است که موجب تولید چرک سبز-آبی در زخم می‌شود (۱۵). هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی میوه و دانه‌ی به بر روی برخی از باکتری‌های جدا شده از پوست بیماران است.

مواد و روش‌ها

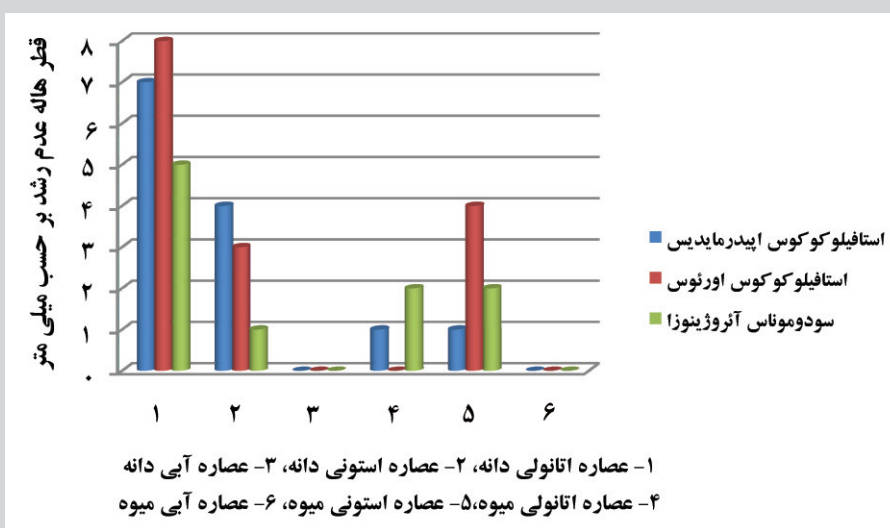
میوه‌های سالم و رسیده به در مهر ماه سال ۱۳۸۸ از روستای قورتان واقع در ۱۱۰ کیلومتری شهر اصفهان جمع‌آوری، دانه‌های به پس از جدا شدن از میوه در سایه خشک شد و برای مرحله عصاره‌گیری به صورت پودر تبدیل شدند. در این تحقیق از سه سویه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس که از مرکز رفرنس بیمارستان آیت الله موسوی زنجان تهیه شده استفاده و سپس تمامی سویه‌ها به وسیله آزمون‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند. برای

گری انتشار چاهکی در آگار نشان داد که در مجموع عصاره ی اتانولی به دانه اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد. عصاره استونی به دانه اثر ضد میکروبی ضعیفی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشتند. اما باکتری‌ها به عصاره آبی به دانه مقاومت نشان دادند. هم چنین نتایج نشان داد که در مجموع استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، حساس‌ترین باکتری و سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری به عصاره‌ها می‌باشد. عصاره اتانولی دانه در رقت ۱:۱۰ اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش دارد و در این میان استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس نسبت به دو باکتری دیگر حساسیت بیشتری را نشان داد. عصاره استونی دانه در رقت ۱:۱۰ بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس اثر داشت اما در این رقت بر روی سودوموناس آئروژینوزا اثر ضد میکروبی نشان نداد. در رقت‌های ۱:۱۰ سودوموناس آئروژینوزا به عصاره اتانولی میوه و هم‌چنین استافیلوکوکوس اورئوس به عصاره ی استونی به میزان کمی حساسیت نشان دادند و باکتری‌ها به سایر عصاره‌های میوه در رقت ۱:۱۰ مقاومت نشان دادند (نمودار ۲).

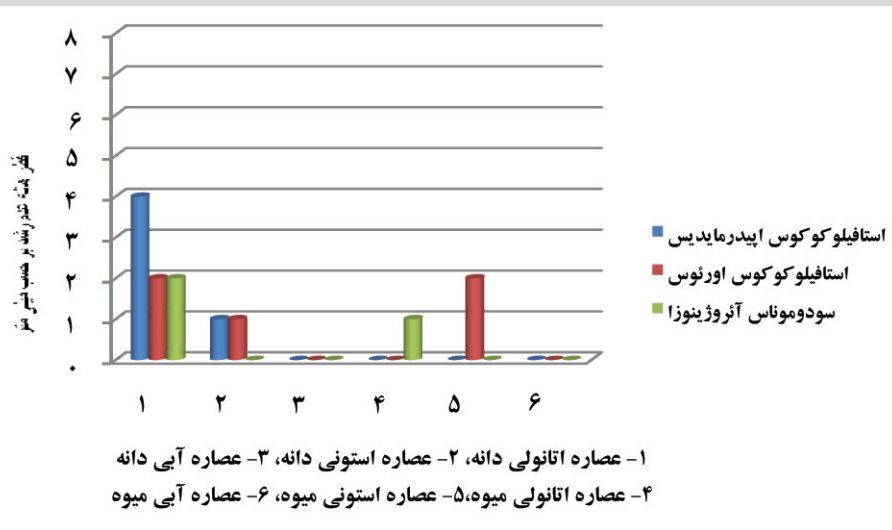
ازای هر میلی لیتر محیط مایع درون لوله $10^5 \times 5$ باکتری فعال اضافه گردید. در کنار هر سریال رقتی از کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری + ۱ درصد حلال بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت فاقد باکتری) استفاده گردید. نمونه‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. از تمام لوله‌های فاقد کدورت به میزان ۰/۵ میلی لیتر بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و آخرین رقتی از عصاره‌ها که قادر به کشتن ۹۹/۹٪ از باکتری‌های زنده اولیه بود، به عنوان غلظت کشنده (MBC) در نظر گرفته شد (۱). داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری One-Way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

در میان عصاره‌های تهیه شده از میوه ی به، عصاره ی استونی میوه، اثر ضد میکروبی قوی تری نسبت به عصاره اتانولی و عصاره آبی میوه نشان داد (نمودار ۱). با رقیق‌تر کردن عصاره‌های تهیه شده، اثر ضد میکروبی عصاره‌ها کاهش می‌یابد. به طوری که در رقت‌های ۱:۴۰ و ۱:۸۰ عصاره‌ها تقریباً هیچ گونه حساسیت باکتریایی در روش انتشار چاهکی مشاهده نشد. نتایج حاصل از روش غربال



نمودار ۱- مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد در پاسخ به عصاره‌ها در روش انتشار چاهکی در عصاره خالص (بر حسب میلی متر)



نمودار ۲- مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد در پاسخ به عصاره‌ها در روش انتشار چاهکی در رقت ۱:۱۰ (بر حسب میلی متر)

جدول ۱- میزان MIC و MBC برای باکتری‌های مورد آزمایش در عصاره‌های مختلف

MBC	MIC	عصاره	
لوله رقت ۱:۲۰	لوله رقت ۱:۴۰	اتانولی دانه	سودوموناس آئروژینوزا
-	-	استونی دانه	
-	-	آبی دانه	
-	-	اتانولی میوه	
-	-	استونی میوه	
-	-	آبی میوه	
لوله رقت ۱:۲۰	لوله رقت ۱:۴۰	اتانولی دانه	استافیلوکوکوس اورئوس
لوله رقت ۱:۱۰	لوله رقت ۱:۲۰	استونی دانه	
-	-	آبی دانه	
-	-	اتانولی میوه	
لوله رقت ۱:۱۰	لوله رقت ۱:۱۰	استونی میوه	
-	-	آبی میوه	
لوله رقت ۱:۴۰	لوله رقت ۱:۴۰	اتانولی دانه	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
لوله رقت ۱:۲۰	لوله رقت ۱:۲۰	استونی دانه	
-	-	آبی دانه	
-	-	اتانولی میوه	
لوله رقت ۱:۱۰	لوله رقت ۱:۱۰	استونی میوه	
-	-	آبی میوه	

بحث و نتیجه گیری

این باکتری به سایر عصاره‌ها مقاوم است. بنابراین می‌توان از این عصاره جهت مقابله با عفونت‌های سودوموناسی پوست استفاده نمود. در مورد استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس نیز عصاره اتانولی دانه ی به مطلوب ترین نتایج را نشان داده است اما با این که این باکتری‌ها به عصاره‌های استونی دانه و استونی میوه نیز حساسیت نشان دادند اما این حساسیت نسبت به عصاره اتانولی دانه کمتر بوده و تمام این باکتری‌ها به عصاره ی اتانولی میوه مقاومت نشان دادند. لذا در مقایسه عصاره اتانولی دانه با عصاره اتانولی میوه می‌توان به آثار ضد میکروبی قوی تر دانه ی به در مقایسه با میوه آن پی برد. از طرفی مقایسه این دو عصاره عدم تداخل حلال الکلی در بروز خواص ضد باکتریایی عصاره اتانولی دانه را آشکار می‌سازد. با این وجود باکتری‌های اخیر نسبت به سودوموناس آئروژینوزا به عصاره‌ها حساس تر هستند.

تقدیر و سپاس‌گزاری

این مقاله حاصل از اجرای طرح پژوهشی شماره ۸۸۸۸۰ باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان می‌باشد. بنابراین لازم می‌دانیم از حمایت‌های باشگاه پژوهشگران جوان، مرکز تحقیقات بیولوژی و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان کمال تشکر و قدردانی را به جا آوریم.

امروزه گیاهان دارویی به تجارت بزرگی در جهان تبدیل شده اند، به طوری که تنها در سال ۲۰۰۳ حدود ۵ میلیارد دلار برای تهیه آن هزینه شده است (۱۷). چند صد گیاه دارویی وجود دارد که در طب سنتی از آن‌ها برای درمان عفونت‌ها استفاده شده است (۱۲). در طی مطالعات انجام شده بر روی اندام‌های مختلف به، این میوه را منبع خوب، ارزان و طبیعی آنتی اکسیدان‌هایی نظیر اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها معرفی نموده‌اند (۱۱). برگ‌های به در زدودن رادیکال‌ها نقش داشته و فعالیت آنتی همولاییتیکی آن نیز به اثبات رسیده است (۹). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان دریافت که برخی از عصاره‌های به می‌توانند مانع از رشد و فعالیت باکتری‌ها گردند. در این بررسی مشاهده شد که اثر عصاره‌های به بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از اثر آن‌ها بر سودوموناس آئروژینوزا است که این نتایج با یافته‌های نخعی مقدم و ذکایی بر روی همان باکتری‌ها با عصاره‌های زردچوبه کاملاً مطابق است (۷). سودوموناس نسبت به بقیه باکتری‌ها به گیاهان دارویی و حتی آنتی بیوتیک‌ها مقاوم تر بوده و این مواد بر روی آن اثر ندارد (۱۵). با توجه به نتایج حاصل، عصاره اتانولی به دانه بیشترین اثر ضد میکروبی را بر روی سودوموناس آئروژینوزا دارد، در صورتی که

منابع

- ۱- ایزدی، زهرا، اثنی عشری، محمود، احمدوند، گودرز، داوودی، پوراندخت، پیری، خسرو. ۱۳۸۸. شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی. ارمنان دانش. ۴۵-۵۲: (۱۴)۵۵.
- ۲- زرگری، علی. ۱۳۶۷. گیاهان دارویی. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. جلد دوم: ۲۴۶-۲۴۳.
- ۳- صالحی سورمقی، محمدحسین. ۱۳۸۷. گیاهان دارویی و گیاه درمانی. تهران: انتشارات دنیای تغذیه. جلد اول: ۱۱۴-۱۱۲.
- ۴- صمصام شریعت، سید هادی. ۱۳۸۶. گزیده گیاهان دارویی. اصفهان: انتشارات مانی: ۷۴.
- ۵- فاضلی، محمدرضا، آشتیانی، حسام الدین، احمدیان عطاری، محمد مهدی، جمالی فر، حسین، زاهری، احمد. ۱۳۸۴. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره تام سماق بر سویه‌های مختلف پوستی. فصلنامه گیاهان دارویی. سال ۵ شماره ۱۷: ۳۱-۲۷.
- ۶- مظفریان، ولی الله. ۱۳۷۵. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران.

as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4); 564-582.

13. Daniela, A., Antonella, C., Brigida, D., Abrosca, M. D. G., Antonio F., Claudio, M. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of phytochemicals from Quince (*Cydonia vulgaris*) peels. *Food chemistry*, 118; 199-207.

14. Ellen, J.B., Srydney, M. F. (1990). Diagnostic Microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 15(1); 451-456.

15. Jawetz, A., Melenick B.A., Adelberg, F. (2001). *Medical Microbiology*, 22th edition. USA: Mc Graw-Hill companies; 229-232.

16. Kaneda, T., Lemura, J., Oka, H., Inoue, T., Zhang, Z. W., Matsumoto, T. (2001). Treatment of deep infection following thoracic aorta graft replacement without graft removal. *Ann. Vasc. Surg*, 15; 430-434.

17. Smet, P. (2005). Herbal Medicine in Europe-Relaxing Regulatory Standards. *New England Journal of Medicine*, 352; 12.

18. Trease, G. E., Erans, W. C. (1996). *Pharmacogenosy*. 14th edition. London: W. B. Saunders Company ltd: 216.

19. Wallis, T. E. (1985). *Textbook of Pharmacognosy*. 5th edition. Delhi: CBS Publishers & Distributors: 219-220.

تهران: نشر فرهنگ معاصر: ۱۷۱-۱۷۲.

۷- نخعی مقدم، محبوبه، ذکایی، محمود. ۱۳۸۱. اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی زردچوبه بر بعضی از باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های روده‌ای و پوستی. نشریه اسرار. سال ۹ شماره ۲: ۱۸-۱۴.

۸- واکر استوارت، تی، ترجمه میرنژاد، رضا. رضوی، شبنم. ۱۳۸۷. میکروبی شناسی واکر. تهران: انتشارات پیوند مهر: ۱۹۷-۱۸۸.

9. Alaa, G. M., Koutb, O.M., Sayed, A. El-D. H. (2010). Use of hematological parameters to assess the efficiency of quince (*Cydonia oblonga* Miller) leaf extract in alleviation of the effect of ultraviolet-A radiation on African catfish *Clarias gariepinus*. *Journal of photochemistry and photobiology*, 99; 1-8.

10. Branca, M. S., Magalhao, A. S., Jose, A. P., Paula, B. A. (2009). Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 47; 1372-1377.

11. Branca, M. S., Andrade, P. B., Valentao, P., Ferreres, F., Seabra, R. M., Ferreira, M. A. (2004). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jame antioxidant activity. *Food chem*, 52; 4705-4712.

12. Cowan, M. M. (1999). *Plant products*

